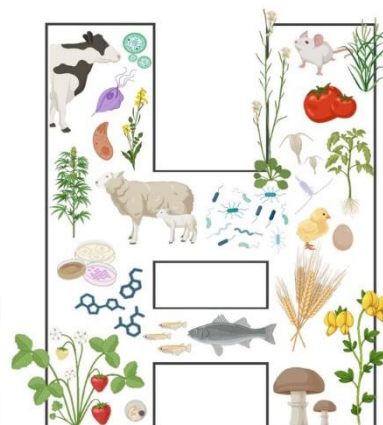


I Jornada Científica INTEC



Chascomús, provincia de Buenos Aires, Argentina

15 de diciembre de 2023



I N T E C H



Escuela de
Bio y Nanotecnologías
EByN_UNSAM

Objetivo

La **Primera Jornada Científica del INTECH** tuvo como objetivo principal establecer un espacio académico de intercambio, discusión y reflexión, donde los estudiantes de doctorado que desarrollan sus investigaciones en el INTECH puedan compartir su línea de investigación y los resultados de su trabajo.

Modalidad de presentación

Todos los trabajos fueron presentados en forma de póster en tres áreas: Microorganismos y Plantas, Área Salud y Parasitología y Biología del Desarrollo, Limnología e Ictiología.

Comité Organizador

Agustín Boan
Rodrigo Fernández
Mailén Hirsch
Soledad Ramirez
Leandro Miranda
Valeria Sander

A) Área Microorganismos y Plantas:

1) Caracterización de aislamientos bacterianos del biopreparado agroecológico purín de ortiga. Pablo Burges, Mailén Hirsch, Beatriz Wyss, Natalia Villarreal, María Marina.

2) Evaluación de *Bacillus velezensis* HIII11 como agente de control biológico y promotor del crecimiento vegetal en *Arabidopsis thaliana*. Mailén Hirsch, Pablo Burges, Beatriz Wyss, Natalia Villarreal, María Marina.

3) Wheat lines, suffering structural rearrangements between wheat-1BS and rye-1RS chromosomes, display differential patterns of magnesium accumulation. Leoanardo D. Gualano, Jorge I. Moriconi, Gabriela E. Tranquilli, Guillermo E Santa-María.

4) Efectos de los sistemas de labranza sobre parámetros edáficos y microbianos. Maximiliano Gortari, Vanina G. Maguire, Juan P. Ezquiaga, María E. Llames, Osar A. Ruiz.

5) Efecto in vitro de extractos vegetales de *Lotus* spp. en la mortalidad de larvas infectantes de *Haemonchus contortus*. Romina P. Arese, Mariano Falcón, Oscar A. Ruiz, Federico A. Illanes.

6) Rol de *Apis mellífera* en la producción de miel y de semillas de *Lotus corniculatus*. Maximiliano Gortari, Pablo J. Moja, Andrea Arbeleche, Otondo José, Oscar A. Ruiz.

7) Bacterias solubilizadoras de Zn como promotoras del crecimiento en plantas de arroz y su contribución a la mitigación del estrés abiótico. Andy Salazar, Santiago Maiale, Fernando M. Romero, María E. Llames, Andrés A. Rodríguez, Beatriz Wyss, María C. Michelini, Matías Alegre.

8) Aspectos moleculares y ecológicos de las infecciones en plantas causadas por bacterias necrotróficas. Claudia Torres, Andrés Gárriz, Franco Rossi.

9) Determinación de efecto preventivo y terapéutico de fungicidas químicos y agentes biocontroladores contra el cancro de la base del tallo en colza. Micaela Stieben, Fernando M. Romero, Franco R. Rossi.

10) Control biológico y químico de *Leptosphaeria maculans*, agente causal del cancro de la base del tallo en colza. Micaela Stieben, Fernando M. Romero, Franco R. Rossi.

11) Metabolismo de poliaminas en *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 y su rol en la patogénesis. Leandro Solmi, Fernando M. Romero, Claudia M. Torres Fernández, Micaela E. Stieben, Franco R. Rossi, Oscar A. Ruiz, Andrés Gárriz.

12) Determinación del estrés a bajas temperaturas durante la fase vegetativa como herramienta para predecir el rendimiento de la planta en genotipos de arroz con niveles de tolerancia contrastantes. María C. Michelini, Andy Salazar Tamayo, Santiago J. Maiale, Andrés A. Rodríguez.

13) Diseño de consorcios microbianos para mejorar la eficiencia de bioformulados destinados a pasturas de la región pampeana. Diana C. Bedoya, Luis N. Castagno, María E. González. María E. Llames, María J. Estrella, Fernando Pieckenstain.

14) Role of Kazal-Type Proteins in the Defense of Plants against Plant Pathogens. Manuel A Sánchez, Víctor A. Ramos-Duarte, Agustín Atela, Patricia Uchiya, Luisa F. Mendoza-Morales, Valeria Sander, Fernando Pieckenstain, Marina Clemente.

15) Efecto de la congelación sobre especies de hongos comestibles y medicinales o tradicionales para evaluar su conservación a largo plazo. Noelia S. Ramirez, Dámaris E. Lining, Mauricio R. Ganuza, Edgardo O. Albertó, Graciela N. Pose.

16) Producción de un hongo comestible de interés comercial (*Pleurotus pulmonarius*) utilizando residuos de la industria maderera y recursos disponibles en Tierra del Fuego. Lining Dámaris Evelyn, Ramirez Noelia Soledad. Ganuza Mauricio Roque, Pose Graciela Noemí, Albertó Edgardo Omar.

17) Efecto del congelamiento (-80°C) de diferentes especies de *Pleurotus* de interés comercial sobre granos estériles con y sin crioprotectores para su preservación a largo plazo. Noelia S. Ramirez, Dámaris E. Lining, Mauricio R. Ganuza, Edgardo O. Alberto, Graciela N. Pose.

18) Characterization of *Arabidopsis thaliana* Heat Shock Protein Hsp81.2 in the plant apoplast. Agustín I. Atela, Franco R. Rossi, Leandro Solmi, Valeria A. Sander, Andrés V. Ramos-Duarte, Luisa F. Morales-Mendoza, Patricia Uchiya, Andrés Gárriz, Marina Clemente, Mariana G. Corigliano.

B) Área Salud y Parasitología:

19) Endoreplicación del ADN y fisión múltiple en *Trichomonas foetus*. Lucrecia Iriarte, Cristian Martínez, Natalia de Miguel, Verónica Coceres.

20) Supervivencia prolongada del parásito venéreo *Trichomonas foetus* en el tracto gastrointestinal, extracto fecal bovino y agua. Cristian I. Martínez; Lucrecia S. Iriarte; Nehuén Salas; Andrés M. Alonso, Cesar I. Pruzzo, Tuanne dos Santos Melo, Antonio Pereira-Nevese, Natalia de Miguel, Veronica M. Coceres.

21) Papel de la nueva protrusión de la membrana celular posterior en la patogenia del parásito *Trichomonas vaginalis*. Manuela Blasco Pedreros, Nehuen Salas, Natalia de Miguel.

22) La acetilación de histonas regula la resistencia a metronidazol en el parásito *Trichomonas vaginalis*. Julieta L. Seifert Gorzycki, Daniela Muñoz, Pablo Strobl-Mazulla, Natalia de Miguel.

23) Análisis global de la accesibilidad de la cromatina y expresión génica en cepas de *Trichomonas vaginalis* con distinta patogenicidad. Agustina Prat, Daniela Muñoz, Julieta Seifert, Pablo Strobl-Mazulla, Natalia de Miguel.

24) Rol de las quinasas ATM y ATR en la reparación del daño por rotura de la doble cadena de ADN en *Toxoplasma gondii*. Ayelén Aparicio Arias, Agustina Ganuza, Laura Vanagas, Maria Corvi y Sergio Angel.

25) Efectos de las drogas topotecan y 10-hidroxycamptotecina en la replicación y daño del ADN de *T.gondii*. Constanza Cristaldi, Ana M. Saldarriaga Cartagena, Agustina Ganuza, William J. Sullivan, Jr., Sergio O. Angel, Laura Vanagas.

26) Evaluación de la capacidad inmunogénica e inmunoprotectiva de una formulación vacunal novel de tipo DIVA (del inglés differentiation of infected from vaccinated animals) contra la neosporosis en bovinos. Luisa F. Mendoza-Morales, Eleonora Morrel, Víctor A. Ramos Duarte, Lucía Campero, Mariana G. Corigliano, Franco Fiorani, Valeria Scioli, Emiliano Sosa, Marina Clemente, Prando D. Moore, Valeria A. Sander.

27) Safe plant Hsp90 adjuvants elicit an effective immune response against Sars-CoV-2 derived RBD antigen. Víctor A. Ramos-Duarte, Alejandro Orłowski, Carolina Jaquenod de Giusti, Mariana Corigliano, Luisa F. Mendoza-Morales, Manuel A. Sánchez, Ariel Legarralde, Valeria Sander, Sergio O. Ángel, Marina Clemente.

28) Interacciones de *T. gondii* con la variante soluble del receptor de TGF- β , TGFBR2-SE: Un estudio sobre su destino. Daira Castillo, Tania M. Rodríguez, Ricardo A. Dewey, María L. Alomar.

29) Evaluación de las vías de secreción de la nueva proteína de fusión TGFBR2-SE/eGFP. María F. Irigoyen, Ricardo A. Dewey, Tania M. Rodríguez.

30) TGFBR2 SE: Un receptor soluble de TGF- β que se transloca a las mitocondrias. Evaluación de su destino celular y su impacto en la función mitocondrial. Paulina Camerotto, Ricardo A. Dewey, Tania M. Rodríguez.

C) Área Biología del Desarrollo, Limnología e Ictiología:

31) miR-23a2 es un regulador de la proliferación cística de las células madre germinales en embriones hembra de medaka. Natalia Pagliaro, Luisa F. Arias Padilla, Ángela C. Urquizo Rosado, Pablo H. Strobl-Mazzulla, Juan I. Fernandino.

32) Implementación de técnicas para el aislamiento de células madre germinales embrionarias de *Oryzias latipes* en diferentes estadios de desarrollo temprano mediante FACS. Ángela C. Urquizo Rosado, Natalia Pagliaro, Eliana Zelada Mazmela, Juan I. Fernandino.

33) Rol de las vesículas extracelulares y el cargado selectivo de microARNs durante la comunicación celular requerida para la condensación del ganglio trigémino. Yanel E. Bernardi, Natalia de Miguel, Pablo H. Strobl-Mazzulla.

34) miR-137 regula la expresión territorial de *Tfap2a* durante la definición del borde de la placa neural. Luciana A. Scatturice, Pablo H. Strobl-Mazzulla.

35) Descifrando el interactoma de microARN-ARNm necesario para las transiciones epitelio-mesénquima-epitelio (TEM y TME) de las células de la cresta neural. Rocío Márquez, Yanel E. Bernardi, Andrés M. Alonso, Luisa Cochella, Marianne Bronner, Pablo H. Strobl-Mazzulla,

36) Efecto del cambio climático sobre el zooplancton de lagunas pampeanas. Matias Mariani, Nadia Diovisalvi, Horacio Zagarese.

37) Patrones de cambio de los grupos funcionales del fitoplancton de la laguna Chascomús en una serie temporal de largo término. Gladys J. Santucho, María V. Quiroga, María E. Llames, Paula Huber, Leonardo Lagomarsino, José Bustingorry, Roberto Escaray, Horacio Zagarese, Fernando Unrein.

38) Efecto de la fluctuación de ciclos de luz-oscuridad sobre el crecimiento del picoplancton fotosintético de una laguna turbia. Rodrigo Fernández, Leonardo Lagomarsino, Pablo Calzadilla, Fernando Unrein.

39) Influencia del vertido de efluentes cloacales sobre la concentración de oxígeno disuelto y la diversidad de peces en el arroyo girado y la laguna Chascomús. Carina G. Quesada, Javier Herdman, Gustavo E. Berasain, Leandro A. Miranda.

40) Efecto de la Atrazina y el Glifosato sobre el desarrollo temprano de embriones y larvas de *Odontesthes bonariensis*. Nicolás Torres Martínez, Leandro A. Miranda.

41) Efecto de los péptidos gastrointestinales Ghrelina y Nesfatina-1 sobre el control del eje de crecimiento en el pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Antonia del Pilar Rosero García, Luís F. Canosa.

42) Hormona inhibidora de gonadotrofinas (Gnih) en la hipófisis del pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. Ana M. Pahí Rocero, Gabriela C. López, María R. Pérez, Javier Herdman, Paula G. Vissio, Gustavo M. Somoza.

43) Obtención de pejerrey editado para SSTR5. Agustín Boan, Javier Herdman, Leandro A. Miranda, Luis F. Canosa, Juan I. Fernandino.

44) Avances en la extracción y caracterización de colágeno obtenido de residuos de la industria pesquera Argentina. Victoria F. Alcolea Ersinger, Daniela L. Lamas, Águeda E. Massa.

1) Caracterización de aislamientos bacterianos del biopreparado agroecológico Purín de Ortiga

Pablo, Burges¹, Mailén, Hirsch¹, Beatriz, Wyss¹, Natalia, Villarreal¹, María, Marina¹

¹ Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH, CONICET-UNSAM). Av. Intendente Marino km 8,2, Chascomús, Bs As, Argentina.

Escuela de Bio y Nanotecnologías (EByN, UNSAM), Bs As, Argentina.

El biopreparado Purín de Ortiga (PO) es considerado un fitoestimulante y/o biopesticida, que aporta a los cultivos materia orgánica y minerales, fortaleciendo la defensa y estimulando el crecimiento de las plantas. El PO se elabora a partir de la fermentación aeróbica de la parte aérea de las plantas *Urtica dioica* y *Urtica urens*. Durante la fermentación, se desarrollan microorganismos, en especial bacterias que se reproducen rápidamente en un ámbito propicio para su desarrollo, las cuales podrían beneficiar a las plantas luego de la aplicación tanto foliar como en el suelo. El objetivo del presente trabajo fue realizar una caracterización de las bacterias cultivables heterótrofas del PO y evaluar su capacidad como promotoras del crecimiento vegetal y como biocontroladoras. Se realizaron los aislamientos bacterianos a partir de diluciones seriadas del PO en medio LB. Se diferenciaron las colonias por características morfológicas y moleculares (BOX-PCR), obteniendo así 23 aislamientos. Luego de la amplificación del gen del ARNr 16S y secuenciación del mismo los aislamientos se relacionaron principalmente con especies de los géneros *Citrobacter*, *Lysinibacillus*, *Acinetobacter* y otros con *Stutzerimonas*, *Pseudomonas*, *Mycoplana*, *Enterococcus*, *Trichococcus* y *Kurthia*. La mayoría de los aislamientos presentaron capacidad de biocontrol, inhibiendo el crecimiento *in vitro* de *B. cinerea* (74%), *F. graminearum* (48%) y *R. stolonifer* (65%), capacidad otorgada principalmente por la producción de compuestos volátiles. El 35% y 43% de los aislamientos evaluados presentó la capacidad de solubilizar fosfato y zinc, respectivamente. Asimismo, un 35% de las bacterias aisladas fueron capaces de producir sideróforos. Por lo expuesto, podemos decir que el biopreparado agroecológico PO presenta una gran diversidad de bacterias, las cuales tienen capacidad de promover el crecimiento vegetal y/o actuar como agentes de biocontrol, características que favorecerían a los cultivos.

2) Evaluación de *Bacillus velezensis* HIII11 como agente de control biológico y promotor del crecimiento vegetal en *Arabidopsis thaliana*

Mailén Hirsch, Pablo Burges, Beatriz Wyss, Natalia Villarreal, María Marina.
Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH, CONICET-UNSAM).

El control biológico se ha convertido en una alternativa al uso de fungicidas y otras sustancias químicas. Consiste en el uso de microorganismos vivos capaces de reducir o eliminar fitopatógenos, otorgándole un beneficio a la planta. Actúan a través de diferentes mecanismos ya sea directamente contra el fitopatógeno, compitiendo por espacio y nutrientes, sintetizando enzimas líticas, compuestos antimicrobianos, entre otros, o de manera indirecta, induciendo cambios en la planta hospedadora promoviendo su crecimiento y/o induciendo respuestas de defensa. En el presente trabajo, se caracterizaron distintos mecanismos de acción presentados por una bacteria epífita aislada de hojas de frutilla e identificada como *Bacillus velezensis* HIII11. Inicialmente, determinamos que dicha bacteria posee capacidad de inhibir el crecimiento *in vitro* de los fitopatógenos fúngicos *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*. Además, evidenciamos su capacidad de sintetizar enzimas líticas (celulasa, proteasa y lipasa), de producir sideróforos y compuestos con función antimicrobiana. A su vez, HIII11 presentó movilidad de tipo *swimming* y *swarming* y fue capaz de formar *biofilms* en placas de polipropileno. Utilizando el organismo modelo *A. thaliana*, pudimos observar que la inoculación con dicha bacteria aumentó significativamente el peso fresco de la roseta y de la raíz respecto de plantas control sin inocular (MgCl₂ 10 mM). A su vez, las plantas tratadas respondieron mejor a la infección con ambos fitopatógenos, presentando menor área de lesión a tiempo final. Por último, observamos que la inoculación con HIII11 influye en el metabolismo de la pared celular de *Arabidopsis*, haciendo que la misma se encuentre más íntegra y menos accesible para los fitopatógenos evaluados. Estos resultados destacan el potencial de *B. velezensis* HIII11 como agente de control biológico y promotor del crecimiento vegetal, y resultan alentadores para a continuar su estudio en plantas de frutilla.

3) Líneas de trigo, que sufren reordenamientos estructurales entre los cromosomas de trigo-1BS y centeno-1RS, muestran patrones diferenciales de acumulación de magnesio

Leonardo D. Gualano¹, Jorge I. Moriconi¹, Gabriela E. Tranquilli², Guillermo E. Santa-María¹.

¹Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), CONICET-UNSAM, Chascomús, Argentina; ² Instituto de Recursos Biológicos, INTA, Hurlingham, Argentina

Los reordenamientos estructurales resultantes de la recombinación del cromosoma 1RS de centeno (*Secale cereale*) con el cromosoma 1BS de trigo (*Triticum aestivum*) determinan consecuencias agronómicas relevantes. Dos líneas casi isogénicas derivadas de esa recombinación, denominadas 1RS y 1RW, difieren en una región relativamente pequeña del brazo cromosómico corto. Recientemente, hemos reportado que tales reordenamientos implican modificaciones en la dosis génica, lo que confiere diferencias notables en la resistencia a la sequía de una manera principalmente asociada a la capacidad diferencial de exploración del suelo por parte de las raíces. Una pregunta que surge de dicho trabajo es si esos reordenamientos también influyen de manera diferencial en el ionoma de estas líneas. Realizamos dos estudios independientes del ionoma que revelaron la existencia de diferencias relevantes entre las líneas 1RS y 1RW en la distribución de magnesio (Mg) entre el vástago y la raíz. Nuestro trabajo también reveló que tales diferencias ocurren en un amplio rango de suministro de Mg, siendo atribuibles a desigualdades en las tasas específicas de absorción y translocación de este elemento. Un estudio detallado del movimiento del agua a través de las vías apoplástica y simplástica de transporte radial, mediante el uso de un tinte fluorescente, indica una contribución mínima del flujo apoplástico en ambas líneas, lo que converge en asignar las diferencias encontradas en la translocación de Mg a rutas simplásticas, en particular aquellas que implican procesos de transporte que operan sobre membranas biológicas. El análisis de un estudio comparativo del transcriptoma, antiguamente realizado para un segmento apical de las raíces de plantas 1RS y 1RW, sugiere que, al menos en esta zona, se producirían diferencias notables en la expresión de genes que codifican transportadores de cationes.

4) Efectos de los sistemas de labranza sobre parámetros edáficos y microbianos

Gortari, M.¹; Maguire, V. G.²; Ezquiaga, J. P.¹; Llames, M. E.¹; Ruiz, O.A.¹

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH; CONICET UNSAM).

²Área Mejoramiento Genético Vegetal, Estación Experimental Agropecuaria Manfredi (EEA-INTA). Manfredi, Córdoba, Argentina

Ante el avance e intensificación de los sistemas agrícolas, poniendo en riesgo los recursos naturales y la sustentabilidad del sistema, es necesario poder contar con indicadores sensibles frente a estos cambios. En un lote experimental donde se viene realizando un ensayo de siembra directa (SD) y labranza convencional (LC) hace más de 20 años en Chascomús, se tomaron muestras de suelo donde se evaluaron variables fisicoquímicas y biológicas. Mediante el análisis metagenómico y bioinformático se estudiaron las comunidades microbianas en SD y LC a dos profundidades, 0-10 y 10-30 cm. Los sistemas de labranza presentaron mayor stock de carbono orgánico total (COT) y stock de nitrógeno total (NT) que el sistema de referencia no agrícola, este último presentó mayor stock de carbono orgánico particulado que los sistemas de labranza. Entre sistemas de labranza el stock de carbono orgánico total fue superior en SD a 0-10 cm que en LC. A través del análisis de componentes principales se observó que las condiciones físico-químicas de los suelos bajo diferentes sistemas de labranza difieren significativamente (PERMANOVA $p=0.004$). En términos generales los suelos bajo SD presentan mayor capacidad de intercambio catiónico, COT, NT, relación C/N, humedad, pH y resistencia a la penetración que los suelos bajo LC. Respecto a la abundancia relativa de las comunidades microbianas, en ambos sistemas predominaron los mismos filos, en bacterias: *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi* y *Acidobacteria*, en hongos: *Basidiomycota*, *Ascomycota* y *Chytridiomycota*. En los géneros bacterianos y fúngicos que mostraron diferencias significativas, la abundancia relativa en estos grupos fue en general mayor en el sistema bajo LC. Estos resultados evidencian variaciones en los parámetros físico-químicos entre sistemas de labranza. Dominancia de los mismos filos bacterianos y fúngicos en ambos sistemas, y diferencias a nivel género en general con mayor abundancia relativa en los sistemas de LC.

5) Efecto *in vitro* de extractos vegetales de *Lotus spp.* en la mortalidad de larvas infectantes de *Haemonchus contortus*

Arese, Romina Paola¹; Falcon, Mariano²; Ruiz, Oscar Adolfo; Illanes¹, Federico Adrian²

¹Instituto Tecnológico Chascomús (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas-Universidad Nacional de San Martín).

²Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata).

Haemonchus contortus (HC) es un parásito hematófago del abomaso y así provoca anemia, desnutrición y muerte, causando pérdidas económicas significativas. Este nematodo provoca la Haemonchosis ovina, que es la principal enfermedad parasitaria de ovinos a nivel mundial. El tratamiento convencional se basa en el uso de antihelmínticos, sin embargo, debido a su inadecuada aplicación existe resistencia a la mayoría de los antiparasitarios. Los taninos condensados, metabolitos secundarios de vegetales, son investigados como una alternativa complementaria a estos tratamientos por sus propiedades antiparasitarias. El objetivo del estudio fue determinar el efecto *in vitro* de los extractos florales del *Lotus tenuis* y del *Lotus corniculatus* en la mortalidad de larvas infectantes (L3) del *Haemonchus contortus*. Los fitomateriales a ensayar fueron extractos metanólicos de las flores del *L. tenuis* y del *L. corniculatus*. Se utilizó como control negativo a la solución fisiológica y como control positivo al, antiparasitario, fosfato de levamisol. A partir de un cordero donante previamente desparasitado e inoculado con L3 de HC de la cepa CEDIVE (200 - 300 L3 / Kg. PV.), se recolectó materia fecal a partir de la cual se obtuvieron huevos y, mediante un coprocultivo, las larvas infectantes frescas. Utilizando placas de veinticuatro pocillos se depositaron en cada uno 102 L3 en 250 ul y se completaron hasta 1 mililitro con las cuatro concentraciones evaluadas (50, 100, 200 y 400 ul/ml) de cada tratamiento. La incubación se realizó durante 48 horas a 28°C. La experiencia tuvo cuatro réplicas. Los resultados reflejaron que los extractos florales evaluados tuvieron un efecto significativo ($p < 0,05$) en la mortalidad de las L3 de HC. Las flores del *L. tenuis* y del *L. corniculatus* podrían ser una alternativa complementaria eficaz a los antiparasitarios tradicionales para el control de la helmintiasis ovina.

6) Rol de *Apis mellífera* en la producción de miel y de semillas de *Lotus corniculatus*

Gortari, M.¹; Moja, P.J.^{2,3}; Arbeleche, A.²; Otondo, J.²; Ruiz, O.A.¹

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH; CONICET UNSAM).

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Cuenca del Salado, AER Chascomús.

³Laboratorio de Insectos Sociales, IFYBINE, UBA, CONICET.

Si bien se reconoce la importancia de las abejas en la polinización, su papel en las pasturas no ha sido suficientemente estudiado. Este trabajo se propuso evaluar el impacto de *Apis mellífera* en la producción de semillas y en la generación de miel monofloral de *L. corniculatus* durante tres períodos: 2020-2021 (T1), 2021-2022 (T2) y 2022-2023 (T3). En un lote de 3 hectáreas de pastura de *L. corniculatus*, sembrada a razón de 12 kg. ha⁻¹, sin aplicación de agroquímicos en los últimos 4 años, se instalaron 10 colmenas manejadas mediante el sendero tecnológico de INTA, utilizando medias alzas para la producción de miel, previa inspección sanitaria. Se ubicaron 6 jaulas de exclusión de polinizadores, con malla mosquitera de 1 m², a 25, 50 y 75 m de las colmenas. Se evaluó la cantidad de inflorescencias, flores y semillas, dentro y fuera de las jaulas, así como tres muestras de miel. La producción promedio de miel por colmena fue de 46 kg en T1 y 14 kg en T2. Se encontraron diferencias significativas con ANOVA $p (<0.05)$ en la cantidad de semillas dentro y fuera de las jaulas en los tres períodos evaluados. El análisis polínico permitió la clasificación monofloral de la miel colectada conteniendo 52,8 % (T1) y 40,8% (T2) de polen de *Lotus*. La menor producción de miel y semillas en T2 y T3 se atribuyó a la escasez de precipitaciones y altas temperaturas. En conclusión, *Apis mellífera* desempeña un papel fundamental en la polinización y persistencia de *Lotus corniculatus*.

7) Bacterias solubilizadoras de Zn como promotoras del crecimiento en plantas de arroz y su contribución a la mitigación del estrés abiótico

Andy Salazar¹, Santiago Maiale¹, Matías Alegre², María E. Llames¹, Andrés A. Rodríguez¹, Beatriz Wyss¹, María C. Michelini¹, Fernando M. Romero¹.

¹Instituto Tecnológico de Chascomús, Conicet-UNSAM - Ciudad de Chascomús - Buenos Aires - Argentina. asalazartamayo@intech.gov.ar ²Instituto de Fisiología Vegetal, Conicet-UNLP-La Plata-Buenos Aires-Argentina.

El arroz en Argentina se produce principalmente en las provincias de Entre Ríos y Corrientes. En Entre Ríos, el cultivo presenta limitaciones debido a diversos estreses, entre los que se destaca el déficit de Zn. Se propuso el estudio de bacterias solubilizadoras de zinc aisladas de la rizosfera del arroz, como alternativa para incrementar la producción de arroz en la zona y reducir la fertilización química. Las bacterias solubilizadoras se aislaron en medio con una fuente insoluble de Zn ($Zn_3(PO_4)_2$) tras su enriquecimiento en medio líquido. Para confirmar la capacidad solubilizadora, se determinaron el pH y el Zn soluble mediante el método Zincon® en medio de cultivo. También se evaluó la solubilización de fósforo en medio NBRIP y tolerancia a las bajas temperaturas (a 16°C). Se seleccionaron 15 aislados de 99 en función de su capacidad para disminuir el pH del medio (pH2-6) y para solubilizar $Zn_3(PO_4)_2$ (100-500ppm). Mediante BOX PCR, se identificaron 7 bacterias de los 15 aislados. También se evaluó la capacidad de solubilización en medio sólido y líquido utilizando ZnO como fuente insoluble. En todos los casos se observó la capacidad de solubilizar Zn. La bacteria 64 mostró los valores más altos en la solubilización de ZnO (400-600 ug/ml); la bacteria 65 fue la menos eficaz con valores entre 100 y 300 ug/ml. En cuanto a la solubilización del fósforo, las tasas más elevadas se obtuvieron para la bacteria 64 (1,5-2). Las 7 bacterias mostraron capacidad para crecer a 16°C, y las bacterias 50 y 64 fueron identificadas como las más tolerantes, con diámetros de colonia de 0,7 a 0,9 mm. Estas bacterias están siendo caracterizadas e identificadas molecularmente. En conclusión, este trabajo muestra diferentes bacterias con capacidad de solubilizar Zn y P, que podrían ser utilizadas como bioinoculantes en el cultivo de arroz para reducir el uso de fertilizantes químicos.

8) Aspectos moleculares y ecológicos de las infecciones en plantas causadas por bacterias necrotróficas

Claudia M. Torres*, Micaela Stieben, Leandro Solmi, Fernando Matías, Franco Rossi, Oscar Ruiz, Andrés Gárriz.

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) Laboratorio de Estrés Abiótico y Biótico en Plantas. Escuela de Bio y Nanotecnologías. CONICET-UNSAM

Las poliaminas (PAs) son fundamentales en el metabolismo de todos los seres vivos, en las interacciones planta-patógeno se ha demostrado que intervienen en la coordinación de las respuestas de defensa vegetal, así como en la inducción de los mecanismos de virulencia respectivamente. Sin embargo, la significancia de las PAs en la patogénesis de bacterias necrotróficas es una temática que no ha sido explorada hasta el momento. Estos microorganismos secretan una batería de enzimas y toxinas que ocasionan la muerte de las células vegetales ocasionando mermas considerables en la producción de cultivos de interés agrícola, así como la coinfección con otros patógenos. Se ha postulado que esto se debe en principio a que las heridas provocadas en el tejido vegetal por la bacteria facilitan la colonización por microorganismos, aunque no se ha demostrado si esto ocurre en condiciones a campo. De ser cierto, la presencia de este tipo de bacterias ocasionaría mayores daños a los estimados en la actualidad. Sobre la base de estos antecedentes, el presente proyecto pretende corroborar, por un lado, la primera hipótesis es que “La homeostasis de poliaminas es modulada en bacterias necrotróficas durante su crecimiento en los tejidos vegetales, proceso que tiene una gran importancia en el desarrollo de la patogénesis”. La segunda hipótesis es que “La presencia de bacterias necrotróficas en la filosfera vegetal promueve las infecciones ocasionadas por otros patógenos de importancia”. En este sentido, los objetivos principales de este trabajo son: Evaluar el papel que juegan las PAs en bacterias necrotróficas, utilizando la especie *Pectobacterium versatile* como modelo de estudio. Por otro lado, corroborar la existencia de un efecto sinérgico entre la abundancia de bacterias de este tipo y la incidencia de enfermedades ocasionadas por otros microorganismos en el cultivo de colza (*Brassica napus*), una oleaginosa cuya importancia se acentúa anualmente en la Argentina.

9) Determinación del efecto preventivo y terapéutico de fungicidas químicos y agentes biocontroladores contra el cancro de la base del tallo en colza

Micaela E. Stieben, Claudia M. Torres Fernández, Leandro Solmi, Andrés Gárriz, Oscar A. Ruiz, Fernando M. Romero y Franco R. Rossi.

Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)—Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Chascomús, Buenos Aires 7130, Argentina

El cancro de la base del tallo causado por *Leptosphaeria maculans* ocasiona considerables pérdidas de rendimiento en el cultivo de colza. Para el control de la enfermedad a nivel mundial uno de los mecanismos de control más efectivos es el uso de fungicidas químicos, aunque en Argentina no se cuenta con estudios que demuestren la efectividad de dichos agentes químicos para el control de la enfermedad. Existe además una alternativa biotecnológica no contaminante basada en el uso de agentes de control biológico que merece ser explorada para el control de dicha enfermedad. En el presente trabajo mostramos resultados de ensayos *in planta* en donde analizamos el efecto preventivo de 4 agentes químicos y bacterias biocontroladoras previamente caracterizadas en el laboratorio (Bro11 y Bro5) en condición de invernadero y además el efecto curativo de dichos tratamientos en condición de parcelas experimentales. En condición de invernadero pudimos observar que tratamientos con el fungicida químico Amistar Top y el biocontrol resultarían efectivos contra el cancro de la base del tallo cuando los mismos son aplicados de manera preventiva, ya que lograron disminuir significativamente la lesión provocada por el patógeno y lograron una disminución en el porcentaje de plantas con el mayor nivel de daño asignado. Con respecto al efecto curativo, en la condición de parcela experimental, pudimos observar que los tratamientos con los fungicidas químicos Cripton, Coverfull Ace y Duett Plus resultarían adecuados para el control de la enfermedad, ya que mostraron una reducción significativa en el mayor nivel de daño asignado, evidenciando una tendencia a disminuir el nivel de mortalidad e incrementando el rendimiento esperado. Estos resultados preliminares brindan información muy útil para el control de esta enfermedad en nuestro país.

10) Control biológico y químico de *Leptosphaeria maculans*, agente causal del cancro de la base del tallo en colza

Micela E. Stieben¹; Claudia M. Torres Fernández¹; Juan P. Edwards Molina²; Leandro Solmi¹; Andrés Garriz¹; Oscar A. Ruiz¹, Franco R. Rossi¹ y Fernando M. Romero¹.

¹Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Chascomús, Buenos Aires 7130, Argentina.

²Estación Experimental Agropecuaria—INTA, 7620, Balcarce, Buenos Aires, Argentina

L. maculans es el agente causal del cancro de la base del tallo en colza, enfermedad que se distribuye en la mayoría de los países productores de dicho cultivo. El uso de fungicidas y de cultivares/híbridos de colza resistentes al agente causal son actualmente las estrategias más usadas a nivel mundial para evitar las cuantiosas pérdidas económicas causadas por dicha enfermedad. Sin embargo, el uso de controladores biológicos constituye una excelente alternativa a las metodologías mencionadas por sus múltiples ventajas. En el presente trabajo mostramos resultados de ensayos *in vitro* en donde se evaluó el control de 3 bacterias biocontroladoras (Bro5, Bro11 y Bru13) y dos fungicidas (Azoxistrobina y Protioconazol) sobre 40 aislamientos de *L. maculans* provenientes de diferentes regiones de nuestro país. En este sentido se pudo observar que las 3 bacterias biocontroladoras inhiben significativamente el crecimiento micelar de la mayoría de los aislamientos. El mayor efecto se pudo observar con Bro5 y Bro11 con un rango de inhibición del 70-95%, en tanto que Bru13 mostró una menor y variable capacidad antagonista con un rango de inhibición 30-88%. Con respecto al control químico, los valores de IC₅₀ obtenidos para la mayoría de los aislamientos se encontraron en un rango de 0.001 – 0.01 µg · mL⁻¹ para Azoxistrobina y 0.001 – 0.16 µg · mL⁻¹ para Protioconazol. Sin embargo, algunos aislamientos mostraron alta tolerancia a ambos compuestos con valores de IC₅₀ superiores a 0.05 µg · mL⁻¹ para Azoxistrobina y 0.8 µg · mL⁻¹ para Protioconazol. Estos resultados evidencian que ambas estrategias de control podrían ser útiles para mitigar el efecto negativo causado por esta enfermedad en el cultivo de colza. A futuro se planea seguir estudiando otros aislamientos de *L. maculans* como así también evaluar ambas estrategias de control *in planta* mediante ensayos en condiciones controladas y en parcelas experimentales.

11) Metabolismo de poliaminas en *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 y su rol en la patogénesis

Leandro Solmi, Fernando M. Romero, Claudia M. Torres Fernández, Micaela E. Stieben, Franco R. Rossi, Oscar A. Ruiz, Andrés Gárriz.
INTECH (CONICET-UNSAM), Chascomús, Argentina.

Las bacterias patógenas disponen de una gran variedad de mecanismos moleculares que les permiten evadir la defensa y colonizar a sus hospedadores. Las poliaminas (PAs) son compuestos catiónicos, de bajo peso molecular y tiene un rol importante en la fisiología celular y participan en la regulación de procesos asociados a la virulencia en bacterias patógenas de humanos. Sin embargo, hasta el momento se desconoce si cumplen algún rol relevante en bacterias fitopatógenas. En este trabajo, exploramos la función que tienen las PAs en la interacción de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (Pto) y *A. thaliana*. Se evaluaron diferentes características relacionadas a la virulencia en la cepa Pto DC3000 *wild-type* y cepas mutantes deficientes en la síntesis de putrescina ($\Delta speA\Delta speC$) y espermidina ($\Delta speE$), las PAs más abundantes encontradas en bacterias. Los resultados mostraron que solo la mutante $\Delta speA\Delta speC$ presentó alteraciones en la movilidad celular. En cambio, ambas cepas mutantes mostraron menor capacidad de apertura estomática, mecanismo importante para el ingreso a la planta, e incapacidad de sintetizar pioverdina, sideróforo que participa en la nutrición bacteriana. Además, la deficiencia en la síntesis de PAs se vio asociada a una menor funcionalidad del sistema de secreción tipo 3 y síntesis de proteínas efectoras, clave para la patogénesis de DC3000. Inoculaciones en plantas de *A. thaliana* revelaron una disminución significativa en la virulencia de la cepa incapaz de sintetizar putrescina. Sin embargo, la síntesis de espermidina no sería indispensable para que el proceso patogénico se desarrolle debido a la biodisponibilidad de esta PA en el apoplasto y la capacidad de incorporarla por parte de la bacteria.

12) Determinación del estrés a bajas temperaturas durante la fase vegetativa como herramienta para predecir el rendimiento de la planta en genotipos de arroz con niveles de tolerancia contrastantes

María C. Michelini, Andy Salazar Tamayo, Santiago J. Maiale, Andrés A. Rodríguez.
Laboratorio de Fisiología y Asistencia al Mejoramiento Vegetal. INTECH (CONICET-UNSAM).

Nuestro estudio aborda las problemáticas productivas en la región arrocería argentina. Dada la sensibilidad del arroz (*Oryza sativa*) a las bajas temperaturas durante la formación del grano, los agricultores siembran en primavera para evitar eventos fríos al final del ciclo, aunque esto impacta negativamente en el rendimiento. Para abordar esto, el desarrollo de indicadores fisiológicos de tolerancia a (bajas temperaturas) BT en plántulas, podría ser un enfoque indirecto útil para la detección de la tolerancia a dicho estrés en grandes poblaciones. Medimos parámetros como tasa fotosintética neta (P_n), conductancia estomática (G_s), parámetros OJIP y área bajo la curva de crecimiento, utilizando 25 genotipos sensibles y 25 tolerantes a BT. A partir de los resultados obtenidos, realizamos un score de tolerancia obteniendo una función para visualizar diferencias entre genotipos, luego evaluando a nivel subpoblación. Realizamos un análisis de path para comprender cómo la tolerancia al frío afecta el rendimiento, relacionando el score con los componentes de rendimiento panículas por planta, espiguillas por panícula, grano por panícula y peso de panícula. Los resultados destacaron que las bajas temperaturas en la fase vegetativa afectan negativamente todos los componentes del rendimiento. El número de panículas por planta y, especialmente, el peso de la panícula, son mediadores clave en el efecto indirecto de la tolerancia al BT, comparado con espiguillas por panícula y granos llenos por panícula.

13) Diseño de consorcios microbianos para la mejorar la eficiencia de bioformulados destinados a pasturas de la región pampeana

Bedoya-Castañeda DC, LN Castagno, ME González, ME Llames, MJ Estrella, FL Pieckenstain.
Laboratorio de Interacciones Planta Microorganismo. Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET/UNSAM/CIC) Av Int. Marino Km 8,2, Chascomús, Argentina.
Escuela de Bio y Nanotecnología (UNSAM)

Los productos basados en microorganismos promotores del crecimiento vegetal representan una herramienta valiosa para aumentar la sustentabilidad de la producción agropecuaria. Sin embargo, su eficiencia suele ser variable en condiciones de campo. La hipótesis de este trabajo plantea que las formulaciones biológicas basadas en la combinación de microorganismos genéticamente diversos y polifuncionales, compatibles entre sí, son más eficientes que las basadas en microorganismos individuales. Para evaluar esa hipótesis se diseñaron consorcios de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, partiendo de una colección de cepas aisladas de la rizosfera de especies forrajeras de la región pampeana. En primer lugar, se analizó la compatibilidad entre cepas candidatas con el fin de seleccionar aquellas que no presenten efectos inhibitorios entre sí. Así, se logró conformar dos consorcios genéticamente diversos de ocho integrantes cada uno (riqueza = 8): C1, con cepas de diferentes especies de *Pseudomonas* y C2, con cepas de especies de los géneros *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Enterobacter* y *Rhizobium*. A continuación, se profundizó la caracterización taxonómica de las cepas seleccionadas, mediante la amplificación y secuenciación de los genes *ARN16S*, *gyrB*, *ropB* y *ropD*. Con el C1, cepas individuales que lo componen y con consorcios de niveles intermedios de riqueza (combinaciones 2 y 4 cepas) se realizaron ensayos para estudiar los efectos de la diversidad genética sobre actividades relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal, tales como solubilización de fosfatos y la producción de sideróforos *in vitro*. Se observó un aumento en la producción de sideróforos en el consorcio de riqueza=8, lo cual confirma la hipótesis planteada. Sin embargo, la capacidad de solubilización de fósforo no mostró una relación clara con el nivel de riqueza de los consorcios. Otras actividades de promoción del crecimiento vegetal serán evaluadas con el fin de ampliar la evaluación de la hipótesis.

14) Rol de los inhibidores de serin proteasas tipo Kazal en la defensa de las plantas contra patógenos vegetales

Sánchez MA, Ramos-Duarte VA, Atela A, Uchiya P, Mendoza-Morales LF, Sander V, Pieckenstein F, Clemente M.

Instituto Tecnológico de Chascomús - INTECH (UNSAM-CONICET). Escuela de Bio y Nanotecnologías UNSAM, Argentina. email: clemente@intech.gov.ar

Los inhibidores de serin proteasas de tipo Kazal (IPKs) desempeñan un papel crucial en diversos procesos biológicos, fisiológicos e inmunológicos tanto en animales como en plantas. A pesar de su importancia, la función específica de estos inhibidores en plantas aún no se conoce completamente. El objetivo general de este proyecto se centra en la caracterización de los IPKs presentes en *Arabidopsis thaliana* (AtKPI-1 y AtKPI-2), así como en *Toxoplasma gondii* (TgPI-1) y sus variantes truncadas (TgPI-1NT y TgPI-1CT), con respecto a su función en la protección contra patógenos vegetales. Para alcanzar este objetivo, llevaremos a cabo ensayos tanto *in vitro* como *in planta*. En los ensayos *in vitro*, nos enfocaremos en evaluar la capacidad bacterioestática de las proteínas recombinantes previamente mencionadas. Para ello, se determinará la Concentración Mínima Inhibidora (MIC₅₀) de los inhibidores sobre cultivos bacterianos. Además, se analizará capacidad de unión de las proteínas recombinantes a proteínas bacterianas a través de ensayos de unión e inmunofluorescencia. Por otro lado, se realizarán ensayos de co-inmunoprecipitación (co-IP) y secuenciación para la identificación de proteínas bacterianas que pudieran interactuar con los diferentes inhibidores. En cuanto a, los ensayos *in planta* incluirán el análisis del perfil de expresión de los genes AtKPI-1 y AtKPI-2 después de infecciones fúngicas y bacterianas, así como el análisis de sus perfiles de expresión regulados por las vías de señalización del ácido salicílico y metil-jasmonato. También evaluaremos el efecto de la infiltración de las proteínas recombinantes en el perfil de expresión de genes asociados a la respuesta a patógenos y analizaremos el efecto elicitor de las proteínas recombinantes en la respuesta a la infección por patógenos fúngicos y bacterianos. Nuestra hipótesis es determinar si estos inhibidores poseen una capacidad inhibitoria de amplio espectro, afectando la propagación de ambos patógenos. Además, esperamos poder identificar las vías de señalización que activan la expresión de estos genes y establecer si la inducción de su expresión está regulada local y/o sistémicamente.

15) Efecto de la congelación de cepas de hongos comestibles y medicinales no tradicionales para evaluar su conservación a largo plazo

Ramírez, N. S.^{1,2}; Lining, D.^{1,2}; Ganuza M; Albertó E.^{1,2}; Pose, G.^{1,2,3}
sramirez@intech.gov.ar

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH). Escuela de Bio y Nanotecnología (UNSAM). Laboratorio de Micología y Cultivo de Hongos Comestibles y Medicinales.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

³Universidad Nacional de Quilmes. Departamento de Ciencia y Tecnología, Instituto de Microbiología Básica y Aplicada, Laboratorio de Micología Molecular.

La crioconservación es una técnica viable para la inactivación del metabolismo de los hongos, menor pérdida de características genéticas y menor contaminación. El objetivo es evaluar el efecto de la congelación a -80°C de diferentes cepas no tradicionales, pero de gran interés comercial. Se realizó la crio-conservación de granos hidratados y estériles de sorgo (*Sorghum vulgare*) inoculados con micelio de las especies *Flammulina velutipes*, *Cyclocibe cylindracea* y *Oudemansieella canarii*, repicadas y pre-cultivadas 7 días en Agar Papa Dextrosa (PDA). Se incubó en oscuridad a 25°C por 10 días aproximadamente. Los granos inoculados se guardaron en viales a -80°C por 7 días. Luego, se sacaron viales y se colocaron directamente granos en placas con PDA, también viales fueron descongelados en baño a 30°C y granos fueron inoculadas en placas con PDA, permitiendo evaluar viabilidad y cinética de crecimiento. Se realizó control con cepas sin congelar. Todas las cepas congeladas y sus controles mostraron una recuperación de viabilidad del 100% en 24 hs. *F. velutipes*, *O. canarii* y su control completaron el crecimiento en placa a los 9 días. *C. cylindracea* y su control tardó 16 días. Esta técnica, si bien ha sido más estudiada en *Agaricus* (Mata *et al.* 2014), también resulta viable para la conservación de basidiomicetes a partir de estos resultados. Estudios a largo plazo se están realizando sobre estas especies y otras de interés.

16) Producción de un hongo comestible de interés comercial (*Pleurotus pulmonarius*) utilizando residuos de la industria maderera y recursos disponibles en Tierra del Fuego

Lining D.E., Ramírez N.S., Ganuza M. R., Pose G.N, Albertó E.

Laboratorio de Micología y Cultivo de Hongos Comestibles. Instituto Tecnológico de Chascomús. C.P.:7130.
email: dlining@intech.gov.ar

Dado que Tierra del Fuego tiene una actividad económica basada principalmente en el turismo y en el ensamble de electrodomésticos, se busca diversificar la misma con nuevos emprendimientos que permitan aprovechar recursos locales. La producción de hongos ofrece beneficios económicos, ambientales y brinda un alimento altamente nutritivo a partir de residuos lignocelulósicos. Evaluamos la producción de *Pleurotus pulmonarius* sobre residuos lignocelulósicos presentes en la isla y determinamos el potencial de los mismos. Materiales: lenga (*Nothofagus pumilio*), turba (*Sphagnum* sp.) (Tb) y bagazo cervecero (BC). Metodología: T1: 100% Lenga; T2: 75% lenga + 25% de afrechillo; T3: 75% lenga + 25% de BC; T4: 75% lenga + 25% de Tb y T5: 100% paja-trigo (control), con 8 réplicas inoculadas con la cepa 883/19 crecida en granos de sorgo (10% p/p). Se determinó: tiempo necesario para colonización micelial en sustrato desde la etapa de inoculación hasta producción, peso de cada basidioma producido, eficiencia biológica porcentual (EB%) y productividad total (PT) (EB%/Tiempo). Se obtuvieron fructificaciones en todos los tratamientos. El tiempo de colonización en el sustrato varió entre 13 y 42 días dependiendo del tratamiento. Los sustratos más eficientes fueron los tratamientos LB y LA, que alcanzaron EB del 92,16 y 78,53 % respectivamente, siendo las diferencias entre ellos no significativas. La PT más alta fue para LA y LB con 1,00 y 0,97 respectivamente. Los sustratos con mayores EB también tuvieron mayor PT y por ende son los más convenientes para producir *P. pulmonarius*. Teniendo en cuenta que en Tierra del Fuego los recursos son limitados, consideramos lo más apropiado cultivar esta especie en la mezcla de lenga que incorpora bagazo cervecero (LB) ya que es un recurso presente en la isla y no debe ser trasladado desde el continente hasta ella como es el caso del afrechillo.

17) Efecto del congelamiento (-80°C) de diferentes especies de *Pleurotus* de interés comercial sobre granos estériles con y sin crioprotectores para su preservación a largo plazo

Ramírez, N. S.^{1,2}; Lining, D.^{1,2}; Ganuza M.^{1,2}; Albertó E.^{1,2}; Pose, G.^{1,2,3}

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH). Escuela de Bio y Nanotecnología (UNSAM). Laboratorio de Micología y Cultivo de Hongos Comestibles y Medicinales. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ³Universidad Nacional de Quilmes. Departamento de Ciencia y Tecnología, Instituto de Microbiología Básica y Aplicada, Laboratorio de Micología Molecular.

La crioconservación es una técnica viable para la inactivación del metabolismo de los hongos, menor pérdida de características genéticas y menor contaminación. El objetivo es evaluar el efecto de la congelación a -80°C de diferentes especies de *Pleurotus*. Las especies estudiadas fueron *P. colombinus*, *P. citrinopileatus* y *P. djamour* las cuales fueron repicadas y pre-cultivadas por 7 días en agar Papa Dextrosa (PDA). Se inocularon granos de sorgo (*Sorghum vulgare*) hidratados y estériles (bolsa 500g) con trozos de micelios y se incubó en oscuridad a 25°C por 10 días aproximadamente. Los granos con micelio se guardaron en viales en diferentes condiciones, granos solos, granos en solución de glicerol al 10% y granos en solución de sacarosa al 10% como crioprotectores, y puestos directamente a -80°C por 7 días. Luego viales de cada condición fueron descongelados en baño a 30°C, 48 semillas de cada condición fueron inoculadas en placas con PDA para evaluar viabilidad y crecimiento radial hasta completar la placa. Se realizó un control llevando el mismo procedimiento, pero sin congelar. *P. colombinus* y *P. djamour* mostraron una recuperación de viabilidad del 100% en 24 hs y crecimiento radial completo en 9 días. *P. citrinopileatus* mostró recuperación a las 48hs, crecimiento radial completo en 13 días en granos solos y en sacarosa y 16 días en granos con solución de glicerol. Los controles, mostraron 100% de recuperación en 24 hs. Estos resultados muestran que ésta puede ser una técnica viable para la conservación de basidiomicetes a largo plazo.

18) Rol de la proteína de choque térmico Hsp81.2 de *Arabidopsis thaliana* en el apoplasto

Agustín I. Atela¹, Patricia Uchiya¹, Leandro Solmi², Luisa F. Morales-Mendoza¹, Andrés V. Ramos-Duarte¹, Andrés Gárriz², Franco Rossi², Valeria Sander¹, Marina Clemente¹ Mariana G. Corigliano¹

¹Laboratorio de Molecular Farming y Vacunas. INTECH. ²Unidad de Biotecnología 1. INTECH

Las Hsp90 se encuentran en todos los compartimentos celulares de las plantas examinados hasta la fecha, y también se han encontrado en el apoplasto. Aunque sus funciones en esta ubicación siguen siendo desconocidas, agregamos algo de luz a esta cuestión al evaluar la regulación de los mecanismos asociados a la defensa en plantas de *Arabidopsis thaliana* infiltradas con la proteína Hsp90 recombinante (AtHsp81.2). En este sentido, previamente demostramos que la producción de ROS y la deposición de callosa aumentaron con la infiltración de rAtHsp81.2. Además, un pretratamiento de 24 horas en las hojas con AtHsp81.2 dio como resultado una reducción en la proliferación de *Pseudomonas syringae* pv. tomate DC3000, mientras que el crecimiento *in vitro* de la bacteria no se ve afectado en presencia de rAtHsp81.2, lo que sugiere que esta proteína puede participar en la inducción de defensa. En el presente estudio, intentamos obtener una visión más profunda del papel desempeñado por AtHsp90 mediante la evaluación de sus efectos en la defensa contra PstDC3000. Analizamos el pretratamiento de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días con 100 µg ml⁻¹ de AtHsp81.2 y resultó en una reducción en la proliferación de PstDC3000 en comparación con el grupo control (sólo PstDC3000). También analizamos un protocolo basado en pulverización para explorar si AtHsp81.2, tanto en 100 o 500 µg ml⁻¹, activa la respuesta inmune de la planta, pero la reducción en la proliferación de PstDC300 se observó solo hasta los 3 días de pretratamiento. Nuestros resultados sugieren que las Hsp90 localizadas en el apoplasto de la planta desempeñan un papel activo en la activación de los mecanismos de defensa de la planta contra patógenos, ya que es importante para generar una respuesta inmune adecuada y duradera de la planta.

Los resultados presentados en este trabajo fueron obtenidos en convenio con RIZOBACTER ARGENTINA S.A (CONVE-2022-120066190-APN-GVT_CONICET).

19) Endoreplicación del ADN y fisión múltiple en *Tritrichomonas foetus*

Iriarte, Lucrecia; Martinez, Cristian; de Miguel, Natalia; Coceres, Verónica.
INTECH (CONICET-UNSAM).

Tritrichomonas foetus es un protozooario flagelado extracelular y agente causal de la tritricomonosis bovina, la cual provoca fallas reproductivas y por ende considerables pérdidas económicas en la ganadería de diferentes regiones del mundo. En la actualidad no existen herramientas profilácticas y terapéuticas eficientes para el control de dicha enfermedad en los rodeos. *T. foetus* presenta un ciclo de vida monoxeno y se han reportado dos fenotipos diferentes denominados: trofozoítos (piriformes, mononucleados y con flagelos externos) y pseudoquistes (esféricos, multinucleados y con flagelos internalizados); siendo la fisión binaria el único mecanismo de división celular descrito hasta la fecha para este parásito. En el presente trabajo demostramos que *T. foetus* es capaz de endoreplicar su ADN (sin completar el proceso mitótico) en ausencia o deficiencia de nutrientes. Además, observamos que en función de la disponibilidad de dichos nutrientes (escaso o nulo) dichos protozoarios son mononucleados ó multinucleados presentando un mayor contenido de ADN. Finalmente observamos que estas estructuras (mononucleadas ó multinucleadas) son capaces de dividirse mediante fisión múltiple y generar numerosos protozoarios cuando se restituye el aporte normal de nutrientes.

20) Supervivencia prolongada del parásito venéreo *tritrichomonas foetus* en el tracto gastrointestinal, extracto fecal bovino y agua

Cristian I. Martínez^{a,b,1}; Lucrecia S. Iriarte^{a,b,1}; Nehuen Salas^{a,b}; Andrés M. Alonso^{b,c}; Cesar I. Pruzzo^d; Tuarne dos Santos Melo^e; Antonio Pereira-Neves^e; Natalia de Miguel^{a,b}; Veronica M. Coceres^{a,b*}

^aLaboratorio de Parásitos Anaerobios, Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), CONICET-UNSAM, Chascomús, Argentina. ^bEscuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM). ^cLaboratorio de Parasitología Molecular, Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), CONICET-UNSAM, Chascomús, Argentina. ^dCentro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias, Cátedra de Parasitología, FCV-UNLP. ^eFiocruz, Instituto Aggeu Magalhães, Departamento de Microbiologia, Recife, Pernambuco, Brasil.

¹Ambos autores contribuyeron de igual manera en este trabajo.

Tritrichomonas foetus es un patógeno que afecta al ganado bovino y gatos, causando la tricomonosis bovina y felina, respectivamente. Es un parásito anaerobio ampliamente distribuido a nivel mundial, colonizando el tracto reproductivo bovino y el intestino grueso de los gatos. En el ganado bovino, la tricomonosis bovina provoca considerables pérdidas económicas debido a muertes embrionarias tempranas, abortos y una reducción en la tasa de concepción y el número de terneros nacidos. Durante los últimos **100 años**, el ciclo de vida de *T. foetus* en bovinos (*Bos taurus* y *Bos indicus*) solo ha considerado la transmisión venérea. Los toros se infectan durante el apareamiento con vacas infectadas, permaneciendo como portadores asintomáticos y siendo responsables de la rápida propagación de la enfermedad en el rebaño lo que complica su control y tratamiento, basándose en la exclusión de toros infectados lo que dificulta su control y tratamiento. Actualmente, los programas de control se basan en la exclusión de toros infectados, ya que no existen tratamientos efectivos. A pesar de la transmisión mayormente venérea, existen situaciones que desafían el conocimiento actual sobre el ciclo de vida de *T. foetus*, como la presencia del parásito en toros vírgenes o la detección en vacas, pero no en toros en los mismos rodeos. Además del ganado bovino y los gatos, se ha observado la presencia de *T. foetus* en otras especies como cerdos y perros, donde puede causar infecciones gastrointestinales. Hemos demostrado la capacidad de *T. foetus* para sobrevivir al pasar por el tracto gastrointestinal bovino y ser excretado en las heces, lo que podría conducir a la contaminación del tracto reproductivo de las vacas. Se ha observado también la formación de estructuras similares a quistes en condiciones de estrés, lo que añade complejidad al entendimiento del ciclo de vida y la transmisión de este patógeno.

21) Rol de la nueva protrusión de la membrana celular posterior en la patogenia del parásito *Trichomonas vaginalis*

Manuela Blasco Pedreros^{1,2}, Nehuen Salas^{1,2}, Antonio Pereira-Neves³, Natalia de Miguel^{1,2}

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM). Chascomús. Provincia de Buenos Aires. Argentina.

²Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM). ³Fiocruz, Instituto Aggeu Magalhães, Departamento de Microbiologia, Recife, Pernambuco, Brasil.

Trichomonas vaginalis es un parásito extracelular responsable de la tricomoniasis, la enfermedad de transmisión sexual no viral más difundida del mundo. A pesar de su prevalencia, los procesos que utiliza el parásito para desarrollar la infección están pobremente caracterizados. La adhesión a las células del huésped es fundamental para el desarrollo de la infección, implicando cambios en la forma del parásito, la ampliación de la superficie de contacto y la migración a través de los tejidos. En un estudio centrado en este proceso dinámico, se observó la formación y extensión de protuberancias membranosas en la parte posterior del cuerpo celular de distintas cepas de *T. vaginalis*. Estas estructuras membranosas se asemejan a los lamelipodios, podosomas o invadopodios descritos en otros tipos celulares, y se postuló su importancia en los procesos de adhesión. El objetivo principal fue investigar esta nueva estructura en *T. vaginalis*, examinar las proteínas que regulan su formación y analizar su función en la interacción con las células del huésped. Se constató que estas protuberancias membranosas se forman principalmente en cepas adherentes del parásito. Además, se evidenció que la sobreexpresión de la proteína tetraspanina TvTSP5, ubicada en la superficie celular, promueve la formación de estas estructuras en el polo posterior en las cepas adherentes. Los resultados revelaron el papel crucial de TvTSP5 en la biogénesis de estas estructuras, así como en la capacidad del parásito adherirse a las células huésped. Se observó que los parásitos con sobreexpresión de TvTSP5 presentaron una migración reducida en comparación con aquellos transfectados con un plásmido vacío en placas de agar, lo que sugiere su función como estructura de anclaje. Estos hallazgos amplían el entendimiento sobre los mecanismos de infección del parásito y sus interacciones con las células del huésped, además de contribuir al potencial desarrollo de estrategias terapéuticas contra la tricomoniasis.

22) La acetilación de histonas regula la resistencia a metronidazol en el parásito *Trichomonas vaginalis*

Julieta Seifert, Daniela Muñoz, Pablo Strobl-Mazulla, Natalia de Miguel
INTECH (CONICET-UNSAM), Buenos Aires, Argentina. ndemiguel@intech.gov.ar

Trichomonas vaginalis es el agente causal de la enfermedad de transmisión sexual no viral más distribuida del mundo. La infección puede ocasionar desde irritación del tracto genital en hombres y mujeres hasta severas complicaciones como infertilidad, nacimientos prematuros, mayor riesgo de transmisión de HIV y desarrollo de cáncer cervical. A pesar de estas complicaciones y de la alta incidencia de infección, las drogas 5-nitroimidazol, de las cuales el metronidazol (MTZ) es el más prescripto, son las únicas aprobadas para el tratamiento. La aparición de cepas resistentes al tratamiento es una problemática mundial y se encuentra poco claro la causa de la misma. Algunos estudios sugieren que la resistencia parecería estar dada por la expresión o actividad diferencial de genes claves en este proceso. En este contexto, nuestra hipótesis plantea que la epigenética podría contribuir al desarrollo de la resistencia a MTZ en *T. vaginalis*. Mediante el uso de un inhibidor específico de histonas deacetilasas (TSA) observamos que el tratamiento ocasiona la sensibilización de cepas naturalmente resistentes a metronidazol. Para identificar aquellos genes que juegan un rol importante en la sensibilización, realizamos experimentos de RNA-seq de parásitos expuestos a TSA, a MTZ y a la combinación de MTZ+TSA. Mediante este análisis, identificamos 130 genes candidatos regulados epigenéticamente que podrían estar asociados al desarrollo de la resistencia a MTZ. Posteriormente, analizamos los niveles de expresión y apertura de la cromatina de estos 130 genes en una cepa naturalmente resistente y una cepa sensible a MTZ mediante RNA-seq y ATAC-seq. Los resultados indican que varios de los genes candidatos poseen baja expresión y cromatina condensada en la cepa resistente y alta expresión génica asociada a cromatina abierta en la cepa sensible al MTZ. Nuestros datos demuestran por primera vez que la epigenética regula, al menos en parte, la resistencia al tratamiento con MTZ en *T. vaginalis*.

23) Análisis global de la accesibilidad de la cromatina y expresión génica en cepas de *Trichomonas vaginalis* con distinta patogenicidad

Agustina Prat*, Daniela Muñoz*, Julieta Seifert, Pablo Strobl-Mazulla, Natalia de Miguel
INTECH (CONICET-UNSAM), Buenos Aires, Argentina. ndemiguel@intech.gov.ar

*Ambas autoras colaboraron de igual manera en este trabajo.

Trichomonas vaginalis es un parásito que coloniza el tracto urogenital humano y causa la infección de transmisión sexual no viral más difundida del mundo. Si bien a menudo es asintomática, en los casos que causa síntomas, estos incluyen vaginitis, prostatitis o uretritis. Existen diferentes cepas de *T. vaginalis* que poseen fenotipos variables en cuanto a su capacidad de agregación, citotoxicidad y adherencia a células del hospedador. Estas diferencias fenotípicas sugieren que la expresión de genes claves para estos procesos se encuentra regulada diferencialmente. Considerando que la epigenética comprende cambios en la estructura y organización del ADN que, sin alterar la secuencia de nucleótidos, modulan la expresión génica y el fenotipo celular; nuestra hipótesis plantea que diferencias epigenéticas y en la estructura de la cromatina podrían ser responsables de los diferentes fenotipos diferenciales observados entre las cepas de *T. vaginalis*. En este contexto, nos propusimos evaluar el rol de la accesibilidad de la cromatina en el control de la expresión de genes en cepas con fenotipos diferenciales. Para esto, realizamos ensayos de ATAC-seq y RNA-seq en una cepa altamente adherente (B7268) y otra poco adherente (NYH209) a células hospedadoras. Los resultados obtenidos demuestran que existe una clara correlación entre la expresión génica y accesibilidad cuando la apertura de la cromatina se da en regiones promotoras y/o en el cuerpo del gen en ambas cepas del parásito. Un análisis comparativo demuestra la existencia de regiones de cromatina accesible diferenciales entre ambas cepas. Específicamente, pudimos identificar regiones accesibles de cromatina y alta expresión en genes asociados a procesos de adherencia y señalización celular en la cepa adherente B7268. Estos resultados sugieren que la accesibilidad de la cromatina podría estar controlando la expresión de genes importantes en el proceso de patogénesis en *T. vaginalis*.

24) Rol de la quinasa ATR en la reparación del daño por rotura de la doble cadena de ADN en *Toxoplasma gondii*

Aparicio Arias AA^{1,2}, Ganuza A¹, Vanagas L¹, Corvi MM², Angel SO¹

¹Laboratorio de Parasitología Molecular, Instituto Tecnológico de Chascomús, CONICET-UNSAM

²Laboratorio de Bioquímica y Biología Celular de Parásitos, Instituto Tecnológico de Chascomús, CONICET-UNSAM

Durante la fase aguda de la toxoplasmosis, *T. gondii* se replica a una tasa alta, lo que permite una rápida diseminación del parásito en todo el organismo. Esta alta tasa de replicación lleva al aumento de roturas de doble cadena en el ADN (DSBs, del inglés *Double Strand Breaks*) debido al colapso en la horquilla de replicación, los cuales deben ser reparados adecuadamente para proseguir con el ciclo celular. Una vez detectada la presencia de daño, ATMRad-3-related (ATR), una quinasa similar a la fosfatidilinositol 3'-quinasa (PIKK), es reclutada a horquillas de replicación estancadas con ADN monocatenario y fosforila una serie de proteínas asociadas a la reparación y el ciclo celular. Dada su importancia, nuestro objetivo general es el ahondar en el conocimiento del sistema de reparación de DSB en *Toxoplasma gondii* mediante el estudio de una de las quinasas claves de este mecanismo como es ATR. En este trabajo se comenzó por estudiar su rol funcional mediante el uso de un inhibidor específico (VE-821) y analizar su impacto sobre procesos de relevancia biológica para el parásito. Nuestros resultados indican que la inhibición de ATR produce una disminución en el crecimiento intracelular del parásito, así como una reducción en la replicación y arresto parcial del ciclo celular en la fase G1. Estos resultados muestran la importancia de esta quinasa en el mecanismo de reparación de DSB.

25) Efectos de las drogas topotecan y 10-Hidroxicamptotecina en la replicación y daño del ADN de *T. gondii*

Constanza Cristaldi¹, Ana M. Saldarriaga Cartagena¹, Agustina Ganuza¹, William J. Sullivan Jr.^{2,3}, Sergio O. Angel¹, Laura Vanagas¹.

¹Laboratorio de Parasitología Molecular, INTECH, CONICET-UNSAM, Chascomús, Prov. Buenos Aires, Argentina. ²Pharmacology and Toxicology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN, United States. ³Microbiology and Immunology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN, United States.

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado perteneciente al phylum Apicomplexa, causante de la toxoplasmosis en humanos y animales en todo el mundo. Si bien existen tratamientos contra esta enfermedad, debido a la toxicidad de los fármacos utilizados hay una intensa búsqueda de nuevos tratamientos contra el parásito que sean inocuos para la célula hospedadora. Por ende, nuestro estudio se centró en evaluar el potencial terapéutico de dos compuestos: topotecan y 10-hidroxicamptotecina (HCPT), derivados de la camptotecina (CPT). Topotecan fue aprobado por la FDA, mientras que HCPT es un producto natural que está bajo investigación en ensayo clínico del síndrome mielodisplásico. Estos compuestos afectan a la topoisomerasa I, induciendo roturas de doble cadena (DSB, por sus siglas en inglés) en *T. gondii*. En nuestro trabajo, encontramos que tanto topotecan como HCPT afectan la replicación del parásito de manera dependiente de su concentración. Además, observamos variaciones en las señales de fluorescencia de γ H2A.X, marcador de daño en el ADN, en parásitos intracelulares bajo tratamiento. Los parásitos intracelulares sin tratamiento mostraron una fuerte señal para γ H2A.X, lo que sugiere un daño basal en el ADN. En términos del ciclo celular, topotecan no mostró cambios discernibles, mientras que HCPT provocó un arresto significativo en la fase S. Es relevante destacar que los parásitos extracelulares no presentaron señales de γ H2A.X, lo que sugiere que el daño basal en el ADN podría estar vinculado al estrés replicativo. Nuestros resultados indican que estas drogas son agentes antiparasitarios que podrían usarse en combinación con drogas que afecten la maquinaria de reparación del parásito, pudiendo contribuir al desarrollo de un tratamiento seguro contra la toxoplasmosis.

26) Evaluación de la capacidad inmunogénica e inmunoprotectiva de una formulación vacunal novel de tipo DIVA (del inglés *differentiation of infected from vaccinated animals*) contra la neosporosis en bovinos

Mendoza-Morales, L.F.^{1*}; Morrel, E.²; Ramos Duarte, V.A.³; Campero, L.²; Corigliano, M.G.³; Fiorani, F.²; Scioli, V.²; Sosa, E.²; Clemente, M.³; Moore, P.D.²; Sander, V.A.¹

¹Laboratorio de Biotecnología Bovina y Ovina. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET/UNSAM. Chascomús, Buenos Aires, Argentina. ²Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS), INTA. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. ³Laboratorio de Molecular Farming y Vacunas. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET/UNSAM. Chascomús, Buenos Aires, Argentina. *e-mail: lfmendozam@intech.gov.ar

La neosporosis es considerada la mayor causa infecciosa de abortos en bovinos. Actualmente no existen vacunas disponibles contra la neosporosis, por lo que nos propusimos determinar la capacidad DIVA, la inmunogenicidad e inmunoprotección de una formulación vacunal conteniendo el antígeno mayor de superficie 1 de *N. caninum* (rNcSAG1) y como adyuvante la proteína de choque térmico de 90 kDa de *Arabidopsis thaliana* (rAtHsp81.2). Para ello, vaquillonas fueron divididas en 2 grupos: VACUNA (n=6): 500µg del (rNcSAG1) + 1500µg de (rAtHsp81.2) y ADYUVANTE (n=9): 1500µg de rAtHsp81.2. Las hembras fueron inmunizadas 0 días post inmunización (dpi), 30 dpi y se administró un refuerzo 154 dpi (90 días de preñez). El desafío con *N. caninum* se realizó 184 dpi. Se colectaron muestras de suero los días 0, 30, 60, 184 (pre-desafío) y 235(post-desafío). Se realizó la eutanasia el 235 dpi, colectándose placentas y tejidos fetales. Los animales VACUNA mostraron altos títulos de IgGt anti-rNcSAG1 y anti-rAtHsp81.2 a los 30, 60, 184 y 235 dpi. Sólo se encontraron anticuerpos IgGt anti-rNcGRA7 posterior al desafío (235 dpi), confirmando la infección y la capacidad DIVA de la vacuna. La administración del adyuvante (rAtHsp81.2) no generó anticuerpos autorreactivos con Hsp90s endógenas. Ninguna hembra abortó y en la eutanasia todos los fetos resultaron viables. Se detectó un menor porcentaje de placentas infectadas proveniente de las vaquillonas VACUNA, así como menor carga parasitaria en placentas y fetos respecto del grupo ADYUVANTE; sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Asimismo, se observó menor frecuencia de lesiones severas en la base del cerebro en fetos del grupo VACUNA. Nuestra formulación vacunal permite distinguir animales vacunados de infectados y genera una importante respuesta inmune humoral sin la adición de adyuvantes externos; sin embargo, sólo otorga protección parcial contra la transmisión vertical del parásito y sus efectos deletéreos en crías.

27) Adyuvantes seguros de Hsp90 de origen vegetal inducen una respuesta inmunitaria eficaz contra el antígeno RBD derivado del SARS-CoV-2

Ramos-Duarte VA^{1,2}, Orlowski A³, Jaquenod de Giusti C³, Corigliano M^{1,2}, Mendoza-Morales LF^{2,4}, Sánchez MA^{1,2}, Legarralde A^{1,2}, Sander V^{2,4}, Ángel SO^{2,5}, Clemente M^{1,2}

¹Laboratorio de Molecular Farming y Vacunas UB6, Instituto Tecnológico de Chascomús (UNSAM-CONICET) Av. Intendente Marino Km 8,2, Buenos Aires, Argentina. ²Escuela de Bio y Nanotecnologías ' UNSAM, Argentina. ³Centro de Investigaciones Cardiovasculares "Dr. Horacio Cingolani", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata-CONICET. La Plata, Argentina. ⁴Laboratorio de Biotecnologías Bovinas y Ovinas LBBO- Instituto Tecnológico de Chascomús (UNSAM - CONICET) Av. Intendente Marino Km 8,2, Buenos Aires, Argentina. ⁵Laboratorio de Parasitología Molecular UB2, INTECH-Escuela de Bio y Nanotecnologías EByN, Universidad Nacional de San Martín - CONICET. Chascomús, Buenos Aires, Argentina.

Previamente, sugerimos que dos proteínas de choque térmico (Hsp90) de origen vegetal, utilizadas como adyuvantes, podrían modular la respuesta inmune de manera diferencial. Para comprender mejor el papel de las Hsp90 de origen vegetal en la modulación de la respuesta inmune, se propuso utilizar el Dominio de Unión al Receptor (RBD) de la proteína Spike del SARS-CoV-2, el principal candidato en el diseño de vacunas a subunidades. Se evaluó la respuesta inmune humoral y celular anti-RBD mediante la estrategia de mezcla de proteínas (Adyuvante+Antígeno). Treinta ratones C57 se separaron aleatoriamente en siete grupos y se inmunizaron por vía intramuscular con AtHsp81.2 (*Arabidopsis thaliana*), NbHsp90.3 (*Nicotiana benthamiana*) o RBD como grupos de control, RBD+AtHsp81.2, RBD+NbHsp90.3 o RBD+Aluminio como grupos vacunados y un grupo PBS. El análisis de la respuesta humoral mostró un aumento significativo en IgGt anti-RBD, que persistió entre 21 y 42 días post inmunización (dpi). El grupo RBD+AtHsp81.2 mostró un aumento significativo en IgG1 anti-RBD similar al grupo de control RBD+Aluminio, mientras que el grupo RBD+NbHsp90.3 mostró un aumento significativo en IgG2b anti-RBD. El análisis de la respuesta inmune celular mostró que solo los cultivos de células de esplenocitos de ratones inmunizados con RBD+NbHsp90.3 presentaron una producción significativamente mayor de interferón gamma (IFN- γ). Por el contrario, los cultivos de células de esplenocitos de ratones inmunizados con RBD+AtHsp81.2 mostraron un aumento significativo en los niveles de interleucina-4 (IL-4). Estos resultados sugieren que ambas isoformas son capaces de modular la respuesta humoral y celular, pero cada una lo haría con un perfil diferente; mientras que AtHsp81.2 desencadenó una respuesta inmune de tipo Th2, NbHsp90.3 desencadenaría una respuesta de tipo Th1. Finalmente, se evaluó la capacidad del suero para neutralizar vectores lentivirales pseudotipados con la proteína Spike. Los sueros obtenidos a las 42 dpi de ratones inmunizados con RBD+AtHsp81.2 y RBD+NbHsp90.3 mostraron potencial para neutralizar la infección viral. Finalmente, el perfil diferencial de ambas isoformas en la respuesta inmune desencadenada no modificaría la capacidad neutralizadora de los antígenos contenidos en ambas formulaciones de vacunas.

28) Interacciones de *T. gondii* con la variante soluble del receptor de TGF- β (TGFBR2-SE): un estudio sobre su destino

Castillo Daira, Vazquez Pamela D., Rodriguez Tania M., Dewey Ricardo A., Alomar M. Lis.
INTECH-UNSAM-CONICET, Chascomús, C. P. 7130, Argentina.

Toxoplasma gondii es un parásito apicomplexa intracelular obligado, más conocido por ser causante de la toxoplasmosis. Este parásito posee un ciclo de vida complejo, que involucra una fase sexual (en hospedador definitivo) y una fase asexual (en hospedadores intermediarios, incluidos humanos). En la fase asexual se identifican dos estadios infectivos diferentes: el taquizoito (división rápida) y el bradizoito (multiplicación lenta). Respecto la respuesta inmune contra este parásito, no se conoce mucho, pero se ha proporcionado información acerca de que el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) posee algún tipo de rol en la regulación de la respuesta inmunitaria contra *T. gondii*. TGF- β se trata de una citocina perteneciente a la superfamilia de TGF- β y en mamíferos se han identificado 3 isoformas identificadas como TGF- β 1, 2 y 3. La señalización mediada por TGF- β se transduce a través de complejos de receptores de superficie celular llamados receptores de tipo I, tipo II y III. Los mismos se componen de un dominio extracelular de unión al ligando, una región transmembrana y un dominio treonina/serina quinasa intracelular. Se ha demostrado que, en células humanas, a su vez existen variantes de splicing del receptor de tipo II, lo que complejiza aún más esta cascada de señalización. Recientemente en nuestro laboratorio se ha descrito una nueva variante de splicing del receptor de tipo II no informada hasta el momento. Esta nueva variante carece del dominio transmembrana e intracitoplasmático, por lo que resulta en una proteína soluble, razón por la que se la denominó soluble endógena. La misma surge como novedosa ya que presenta características distintivas. Posee un segmento de 13 aminoácidos, que es específico de esta variante y parece poder establecer contacto con las 3 isoformas de TGF- β , siendo la única variante capaz de hacerlo. Por otro lado, podría ejercer funciones tanto en núcleo como en citoplasma y, a su vez, recientemente se ha revelado su presencia en mitocondrias. En base al poco conocimiento que se tiene sobre las respuestas inmunitarias contra *T. gondii* y como parte de extender el conocimiento de esta nueva variante, intentamos estudiar si la misma posee algún rol activo en la biología de taquizoítos de *T. gondii*.

29) Evaluación de las vías de secreción de la nueva proteína de fusión TGFBR2-SE/eGFP

Irigoyen Maria F., Vazquez Pamela D, Camerotto Paulina, Dewey Ricardo A., Tania M. Rodríguez.

Laboratorio de Células Madre y Terapia Génica. INTECH (CONICET-UNSAM).

La proteína TGFBR2-SE, recientemente identificada como un componente de la cascada de señalización de TGF- β , ha surgido como un atractivo objetivo terapéutico para enfermedades fibróticas, autoinmunes y varios tipos de cáncer. Es sabido que los exosomas tienen un papel clave en la comunicación intercelular. Debido a sus múltiples interacciones, estas estructuras cumplen con el papel de “mensajeros” de forma dinámica, transportando su contenido a células blancas específicas y generando nuevas señales celulares. Este estudio busca analizar las vías de secreción del nuevo receptor soluble TGFBR2-SE, especialmente su liberación al medio extracelular a través de exosomas, ya sea como proteína o ARNm. Este enfoque proporcionará una comprensión más profunda de los mecanismos de liberación y la posible encapsulación de TGFBR2-SE en exosomas como una estrategia terapéutica para mejorar la entrega del mismo en modelos de enfermedades inflamatorias y ciertos tipos de cáncer. En principio, se evaluó la presencia, por *western blot*, de TGFBR2-SE en medio condicionado y exosomas aislados desde medios condicionados de células 293T empleando un anticuerpo específico para la detección del nuevo receptor. Estos resultados arrojaron los primeros indicios sobre la secreción de TGFBR2-SE tanto como proteína libre como formando parte de exosomas. En base a estos primeros resultados es que se decidió generar una quimera de fusión a eGFP que nos permitiera hacer un seguimiento más sencillo de las vías de secreción de esta proteína en distintas líneas celulares. Se logró detectar la secreción de TGFBR2-SE/eGFP hacia el espacio extracelular en forma soluble. Además, se confirmó la presencia de la proteína en exosomas mediante ensayos de *western blot* e inmunofluorescencia, estableciendo su asociación con CD63+ (exosomas tardíos). En un hallazgo significativo, se identificó por primera vez la presencia del ARNm de TGFBR2-SE mediante PCR en tiempo real, junto con otros ARNm de componentes de la vía de señalización de TGF- β . Estos resultados amplían nuestra comprensión de las vías de secreción de TGFBR2-SE y su posible implicación en procesos celulares y patologías asociadas a la desregulación de TGF- β .

30) TGFBR2-SE: un nuevo receptor soluble de TGF- β que transloca a las mitocondrias. Evaluación de su destino celular y su impacto en la función mitocondrial

Camerotto, Paulina; Irigoyen, M. Florencia; Vazquez, Pamela; Dewey, Ricardo A; Rodríguez, Tania M.

Laboratorio de Células Madre y Terapia Génica, INTECH (CONICET-UNSAM).

Anteriormente se descubrió una nueva variante de *splicing* del gen TGFBR2 humano, llamada TGFBR2-SE. Esta nueva isoforma presenta una delección en el dominio extracelular, generando una proteína truncada de 80 aminoácidos sin el dominio transmembrana. Se la denomina como un receptor Soluble Endógeno (SE), por la presencia del péptido señal y la carencia del dominio transmembrana. En investigaciones previas, utilizando el arreglo de proteínas HuProt™ v3.0 Human Proteome Microarray, se encontró que TGFBR2-SE es semejante a 155 proteínas, 9 de las cuales poseen un alto perfil de interacción en relación con las mitocondrias. El análisis bioinformático reveló la posible presencia de una señal de destino mitocondrial (MTS) en TGFBR2-SE, llevando a la generación de una proteína recombinante de fusión para evaluar su localización intracelular. Mediante vectores lentivirales, se crearon líneas celulares transgénicas que sobre expresan la proteína recombinante TGFBR2-SE/eGFP y células control que solo sobre expresan eGFP. Los ensayos de inmunofluorescencia mostraron una marcada colocalización de la proteína fusionada a eGFP y Tomm20 (Traslocasa de Membrana Externa 20), indicando una posible localización en mitocondrias. Mediante un protocolo de enriquecimiento mitocondrial, se confirmó la presencia de TGFBR2-SE/eGFP en mitocondrias mediante análisis de *Western Blot*. Se investigó la versión tipo salvaje de la proteína estimulada con la citoquina TGF- β , encontrando señales de la proteína en mitocondrias, citoplasma y medio condicionado. Previa investigación demostraron que TGFBR2-SE se secreta a través de exosomas. Considerando la translocación de la proteína a las mitocondrias, se evaluó la posible carga de TGFBR2-SE en vesículas derivadas de mitocondrias (MDVs), confirmando la presencia de TGFBR2-SE en los MDVs. Por último, se exploró el impacto de la despolarización de membrana a partir de daño mitocondrial causado con H₂O₂ mediante el uso del colorante JC-1, analizando la morfología y señales de los agregados J en las células a través del microscopio de fluorescencia.

31) miR-23a2 es un regulador de la proliferación cística de las células germinales en embriones hembra de Medaka

Natalia Pagliaro, Luisa F. Arias Padilla, Angela C. Urquizo Rosado, Pablo H. Strobl-Mazzulla, Juan I. Fernandino.

Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM), 7130 Chascomús, Argentina. Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM), Argentina.

La proliferación de las células madre germinales embrionarias (CMGEs) es una de las etapas más importantes del desarrollo gonadal temprano y el éxito reproductivo, generando la formación de un número adecuado de gametos que entrarán en meiosis. A pesar de la importancia de este proceso, todavía se conoce muy poco sobre los reguladores moleculares de la proliferación de las CMGEs. Hace un tiempo caracterizamos a *ndrg1b* como un regulador negativo de la proliferación cística, observando que este gen debía disminuir sus niveles en las células germinales previo a la proliferación cística en hembras en estadios embrionarios. En la búsqueda de los reguladores moleculares o epigenéticos que modulan los niveles de *ndrg1b* observamos la conservación evolutiva de un sitio semilla en el 3' UTR de este gen para un microARN, el miR-23a2. En este contexto, el objetivo del presente trabajo es el estudio de la participación del miR-23a2 en la regulación de la proliferación cística en embriones hembra de medaka. Inicialmente observamos que el miR-23a2 se expresa en ovarios y generamos luego hembras mutantes de este microARN por CRISPR/Cas9, que presentaron una disminución del número total de CMGEs debido a la disminución de la proliferación cística, a la vez que se observó un restablecimiento de los niveles de expresión del gen *ndrg1b*. Además, encontramos que la disrupción del miR-23a2 generó alteraciones en la morfología de las células madre germinales, indicando que este microARN estaría implicado en más de una vía regulatoria. Por otro lado, las hembras adultas mutantes del miR-23a2 no presentaron cambios en las características sexuales secundarias, en la ovogénesis, ni en los parámetros reproductivos, estableciendo que este microARN es un regulador del desarrollo gonadal temprano en medaka.

32) Implementación de técnicas para el aislamiento de células madre germinales embrionarias de *Oryzias latipes* en diferentes estadios de desarrollo temprano mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS): resultados y perspectivas

Angela C. Urquizo Rosado¹, Natalia Pagliaro¹, Eliana Zelada Mazmela²,
Juan I. Fernandino¹.

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM), 7130 Chascomús, Argentina. Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM), Argentina. ²Universidad Nacional del Santa, Perú.

Las células madre germinales embrionarias (CMGEs) son las precursoras de las células germinales y son las únicas células con potencial de transmitir información genética a la siguiente generación. Las CMGEs pasan por diferentes procesos hasta convertirse en gametos. Estos procesos se encuentran altamente conservados y regulados e incluyen: la migración, proliferación y diferenciación de las CMGEs, todos ellos importantes durante las etapas tempranas del desarrollo debido a que un mal funcionamiento puede conllevar a la esterilidad, cáncer, e incluso problemas en el comportamiento reproductivo. La importancia de estos procesos ha dirigido el interés de investigar y comprender los mecanismos reguladores en estas células. En este sentido, la necesidad del desarrollo de una técnica para la obtención de una población de CMGEs viables en diferentes etapas de desarrollo temprano es una herramienta esencial para obtener una visión detallada de los complejos patrones durante estos procesos en las CMGEs. El presente trabajo aborda la implementación de un procedimiento capaz de aislar CMGEs de peces en estadios de desarrollo temprano mediante disgregación enzimática de embriones de una línea transgénica (Tg-olvas-GFP de medaka) que posee el gen de la proteína verde fluorescente (GFP) exclusivamente en las CMGEs. Utilizamos una estrategia de 3 pasos para el aislamiento de estas células en un procedimiento de un día. El procedimiento incluye: (1) preparación de los embriones, (2) disgregación de los embriones y (3) una clasificación celular activada por fluorescencia (FACS). Se estandarizó los parámetros adecuados de disgregación enzimática para la obtención de las CMGEs a partir de la suspensión de células individuales intactas de los embriones de medaka para ser clasificadas por FACS. Teniendo en cuenta que las CMGEs se diferencian de las células somáticas por su mayor tamaño y presencia de componentes granulares; además de la intensidad de GFP, que normalmente es considerado como único parámetro para aislar células por FACS, consideramos como indicadores la propiedad de dispersión de luz frontal (FS), relacionado con el tamaño relativo de la célula, y la propiedad de dispersión de luz lateral (SS), relacionada a la forma y granularidad de la célula. Pudimos clasificar una población de CMGEs basándonos en la evaluación simultánea de una mayor intensidad de fluorescencia, valores altos de FS/SS. Además, logramos caracterizar la identidad de las células clasificadas mediante análisis de PCR con cebadores específicos de células germinales, como *vasa*. El presente trabajo establece una estrategia rápida y detallada para aislar y clasificar CMGEs a partir de embriones de medaka en estadios de desarrollo temprano para su uso en diferentes campos de estudio.

33) Rol de las vesículas extracelulares y el cargado selectivo de microARNs durante la comunicación celular requerida para la condensación del ganglio trigémino

Bernardi, Yanel Elina^{1*}; de Miguel, Natalia²; Strobl-Mazzulla, Pablo H¹.

¹Laboratorio de Biología del Desarrollo. ²Laboratorio de Parasitos Anaerobios. INTECH (CONICET-UNSAM). Chascomús, Argentina. *bernardiyanel@intech.gov.ar

Durante el desarrollo embrionario, la adecuada formación de diversos tejidos y órganos requiere de las interacciones coordinadas entre diferentes tipos de células. En los vertebrados, por ejemplo, la formación del ganglio trigémino requiere de una estrecha comunicación entre las células de la cresta neural (CCN) y de la placoda (P). Sin embargo, las señales intercelulares y las moléculas efectoras que la coordinan son aún desconocidas. En los últimos años, las vesículas extracelulares pequeñas (sEVs) han mostrado ser mediadoras de la comunicación intercelular tanto en condiciones normales como patológicas ya que presentan un contenido específico de proteínas, lípidos y ARN (incluidos los microARNs (miARNs)) dependiendo de su origen celular. En particular, se ha postulado que los miARNs que transportan actúan como mensajeros moleculares entre diferentes tipos de células. Además, se han propuestos algunos mecanismos de “sorting” como el reconocimiento de motivos en la secuencia de los miRNAs (Exo- y Cell-motifs) a través de proteínas de unión al ARN. Nuestro análisis integral utilizando secuenciación masiva de miRNAs y datos proteómicos obtenidos a partir de muestras de ganglios trigéminos sugieren que el mecanismo mencionado puede estar ocurriendo en nuestro sistema haciendo específico el contenido de miRNAs en las sEVs. Aún queda por analizar la participación de los miRNAs que pueden ser reconocidos por esta vía a través de proteínas de unión al ARN en la comunicación CCN-placoda durante la condensación del ganglio trigémino.

34) miR-137 regula la expresión territorial de Tfap2a durante la definición del borde de la placa neural

Luciana A. Scatturice^{*1}, Pablo H. Strobl-Mazzulla¹.

¹Laboratorio de Biología del Desarrollo. Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET- UNSAM). Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM). Chascomús, ARGENTINA. email: *lascatturice@intech.gov.ar

Una de las novedades evolutivas de los vertebrados es la aparición del borde de la placa neural (BPN), un territorio que se origina en etapas muy tempranas del desarrollo a partir de la delimitación territorial del ectodermo, y del cual se desprenden un grupo entremezclado de progenitores con múltiples destinos potenciales. Durante la inducción del BPN, gradientes de morfógenos conviven con señales provenientes de los territorios lindantes que llevan a la expresión de factores de transcripción (FT), los cuales desencadenan cascadas de eventos transcripcionales, siendo particularmente importantes para la activación de varios de los especificadores del BPN. Estudios recientes han demostrado que TFAP2A actúa como factor pionero en la remodelación del paisaje epigenético necesario para activar los componentes del programa de inducción de la BPN y, a pesar de conocerse muchos de sus genes targets, se desconoce cuáles son los mecanismos que regulan su distribución territorial exclusiva en el BPN. Los microARNs han sido reportado como reguladores claves en la delimitación territorial durante el desarrollo embrionario, limitando las fluctuaciones de transcritos a lo largo de los diferentes territorios; por lo que, proponemos que existiría un miARN involucrado en la delimitación territorial de Tfap2a. En este trabajo, mostramos que Tfap2a tiene dos sitios de unión altamente conservados para miR-137 y ambos muestran un patrón de expresión recíproco en el BPN y placa neural respectivamente. Además, la expresión ectópica de miR-137 redujo a TFAP2A, mientras que su inhibición funcional amplió su distribución territorial solapándose con PAX7 (otro marcador del BPN). En conclusión, nuestro hallazgo muestra que miR-137 contribuye a la robustez de la restricción territorial del BPN en el desarrollo de los vertebrados.

35) Descifrando el interactoma de miARN-ARNm necesario para las transiciones epitelio-mesénquima-epitelio (TEM/TME) de la cresta neural embrionaria

Marquez, Rocío^{*}; Bernardi, Yanel Elina; Alonso, Andrés Mariano; Strobl-Mazzulla, Pablo
*Laboratorio de Biología del Desarrollo. Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM). Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM). Chascomús, ARGENTINA. *rmarquez@intech.gov.ar*

Las células de la cresta neural (CCN) se encuentran a lo largo de todo el embrión en la parte dorsal del tubo neural (CN craneal, vagal, troncal y sacral), experimentan una transición epitelio-mesénquima (TME) que les permite migrar y formar parte de diversos derivados, como es el ganglio trigémino (GT). Su formación implica una condensación y diferenciación de las CCN craneales, por un proceso similar a la transición mesénquima-epitelio (TME). Estas transiciones, están finamente reguladas mediante complejas redes regulatorias, donde se ha demostrado la implicancia clave de algunos microARN (miARNs), principalmente durante la TEM. Sin embargo, son pocos estudios que abordan la TME. En este sentido, nuestro objetivo fue identificar y caracterizar al conjunto de miARNs claves involucrados en las TEM y TME de las CCN durante la formación del GT. Para evaluar esto, se hizo microARNseq de las CCN en las etapas premigratorias, migratorias y de condensación e identificamos miARNs *down* y *up*-regulados, diferencialmente enriquecidos en cada etapa. Del análisis comparativo entre estadios, identificamos dos grupos exclusivos de las CCN durante la migración (miR-140-3p, miR-140-5p y miR-455-5p) y la condensación (miR-23b-3p, miR-187-3p, miR-363-5p y miR-455-3p). Los experimentos de pérdida de función de los TEM-miARNs utilizando inhibidores comerciales específicos, muestran un retraso en la migración y un menor número de células migratorias. Los embriones tratados con inh. para cond-miARNs en la región craneal, presentan menor condensación del GT o defectos en los nervios derivados en comparación con los controles. La sobreexpresión del core de cond-miARNs en las CCN troncales (que no forman parte del ganglio) en un embrión donador GFP, seguida del trasplante a la región craneal, mejora la capacidad de las CCN para condensar y diferenciar en neuronas del GT. De esto, podemos concluir que la abundancia intrínseca de miARN juega un papel clave en la delaminación y condensación de NCC durante la formación del ganglio del trigémino.

36) Efecto del cambio climático sobre el zooplancton de lagunas pampeanas

Matías Mariani, Nadia Diovisalvi, Horacio Zagarese.
Laboratorio de Ecología Acuática, INTECH (CONICET-UNSAM).

Debido al calentamiento global, se prevé un aumento continuo de la temperatura y de la salinidad dentro de las lagunas. Las lagunas son consideradas “centinelas” de los cambios en el ambiente. Uno de sus componentes microscópicos es el zooplancton. Estos animales responden rápidamente a las variaciones del entorno, debido a su corto tiempo generacional y a su alta tasa de reproducción, entre otras características. En este trabajo evaluamos el efecto de la temperatura y la salinidad en la talla del zooplancton en lagunas de La Pampa, y el efecto del nivel hidrométrico (tomando a la salinidad como efecto de dilución) sobre las estructuras dormantes en lagunas permanentes de Buenos Aires. Para la talla analizamos muestras de 17 lagunas, tomadas entre los años 1995-2015, mensual o estacionalmente, durante uno o dos años consecutivos. Cada una cuenta con mediciones limnológicas y con estimación de la temperatura mensual mediante información satelital. Analizamos la estructura y talla comunitaria, la diversidad y equitatividad de tallas, la proporción de especies grandes y pequeñas y la talla de las especies más representativas. Para las estructuras dormantes tomamos sedimento de 3 lagunas. Los sedimentos se incubaron 33 días a tres salinidades distintas: 0,2 g/L, 2 g/L y 20 g/L. Cada tres días registramos los individuos emergidos. Se analizaron la estructura comunitaria y el total de eclosiones. Entre los resultados más relevantes observamos la reducción de la talla frente a la temperatura por achicamiento de especies y por recambio de especies, y de la riqueza frente al aumento de la salinidad. La respuesta frente a la salinidad difiere entre las especies. En cuanto a las estructuras dormantes, no registramos individuos en la condición de 20 g/L. El aumento de la salinidad afecta negativamente la riqueza y el total de eclosiones, y en menor medida la diversidad y la equitatividad.

37) Patrones de cambio de los grupos funcionales del fitoplancton de la laguna Chascomús en una serie temporal de largo término

Santucho, G.J.¹; Quiroga, M.V.¹; Llamas, M. E.¹; Huber, P.^{1,2}; Lagomarsino, L.¹; Bustingorry, J.¹; Escaray, R.¹; Zagarese H.¹; Unrein, F.¹

¹Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM); Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM), Chascomús, Argentina. ²Universidad Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil

La laguna Chascomús es un ambiente eutrófico, turbio y poco profundo, típico de la región pampeana. Los períodos cíclicos de sequía e inundación debido a las oscilaciones de El Niño generan cambios en sus condiciones físico-químicas y biológicas. Nuestro objetivo fue describir los cambios que ocurren en la comunidad fitoplanctónica a lo largo de una serie temporal (2007-2023) en función de las variaciones ambientales. Para esto se utilizó el enfoque de grupos funcionales de Reynolds (GFR). Un análisis de ordenamiento (PCA) basado en el biovolumen de estos GFR mostró una evolución temporal gradual, donde los codones X1, X2 y J (especies pequeñas de clorofitas de *Monoraphidium*, *Scenedesmus* y *Tetrastrum*, entre otras), y S1 (*Planktolyngbya* spp.) fueron más abundantes al principio de la serie, mientras que el codón D (*Staurosirella berolinensis*) y SN (*Raphidiopsis mediterranea*) lo fueron hacia el final. En tanto que el codón K (*Aphanocapsa* spp., *Cyanodiction* spp.) siempre estuvo presente a lo largo de todo el período de estudio, disminuyendo a un 10% hacia el final de la serie temporal. El grupo SN estuvo en proporciones elevadas en 2009 y 2021-2023 en coincidencia con dos bajantes de la profundidad de la laguna y con el incremento en las concentraciones de nitrógeno orgánico total. La altura hidrométrica y la concentración de nutrientes, en particular del nitrógeno, explicaron significativamente la variabilidad de la composición de los GFR. Además, para algunos GFR se observaron patrones estacionales recurrentes. En conclusión, se observa un cambio gradual unidireccional a lo largo de más de una década de estudio que tiende hacia una predominancia cada vez mayor de diatomeas del grupo D y cianobacterias potencialmente tóxicas.

38) Influencia de la fluctuación lumínica sobre el crecimiento del picoplancton fotosintético de una laguna somera turbia

Fernández, R.¹, L. Lagomarsino¹, P. Calzadilla² & F. Unrein¹.

¹*Instituto Tecnológico Chascomús (CONICET-UNSAM); Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM), Chascomús, Argentina.* ²*Department of Earth and Environmental Sciences, Faculty of Science and Engineering, University of Manchester, Manchester, United Kingdom.*

La laguna Chascomús es un cuerpo de agua somero, hipertrófico y polimítico, típico de la región Pampeana. Debido a su elevada turbidez (Secchi promedio de 11 cm), la luz se extingue en los primeros centímetros de profundidad, lo que limita la capacidad del fitoplancton para captar fotones solo cuando se encuentra cerca de la superficie. Con una profundidad media de 2 m, las algas pasan aproximadamente el 80% del tiempo en completa oscuridad. Por ende, la exposición del picoplancton fotosintético a la luz está directamente relacionada con su movimiento vertical, el cual es consecuencia de la acción del viento sobre la laguna. En este estudio, evaluamos la premisa de que este movimiento vertical determina la exposición de estos organismos a ciclos de luz y oscuridad con diferentes frecuencias, lo cual incide directamente en su abundancia y crecimiento. Para ello, llevamos a cabo simulaciones experimentales sometiendo cultivos de picocianobacterias y picoeucariotas, aislados de la laguna, a diversos ciclos de luz-oscuridad. Las pruebas se realizaron a una temperatura de 22°C, exponiendo los cultivos respectivamente a relaciones 1:4 de luz:oscuridad, con cuatro frecuencias distintas. La cantidad total de fotones recibidos por día se mantuvo constante en todos los tratamientos. La abundancia y las variaciones en la concentración de pigmentos se analizaron mediante citometría de flujo, mientras que los cambios morfológicos se evaluaron a través de microscopía de epifluorescencia. Se observó que la abundancia de picocianobacterias fue más elevada en los tratamientos de menor frecuencia, simulando así una menor intensidad de viento. En estos tratamientos, también se registró un aumento en la proporción de picocianobacterias agregadas y en la concentración de clorofila-a/célula. Por otro lado, las picoeucariotas no mostraron diferencias significativas en la tasa de crecimiento o en la agregación entre tratamientos, aunque, al igual que en las picocianobacterias, la concentración de clorofila-a/célula fue mayor en los tratamientos que simulaban menor intensidad de viento.

39) Influencia del vertido de efluentes cloacales sobre la concentración de oxígeno disuelto y la diversidad de peces en el arroyo girado y la laguna Chascomús

Quesada CG^{1*}, Herdman J¹, Berasain GE², Miranda LA¹

¹INTECH, CONICET-UNSAM. ²Estación Hidrobiológica de Chascomús. *quesadacg@gmail.com

El oxígeno disuelto (OD) en el agua es un factor ambiental clave que afecta el desarrollo embrionario, el crecimiento, la reproducción y supervivencia de peces. Se considera un ambiente acuático hipóxico cuando los niveles de OD son menores a 2,8 mg/L. El objetivo de este trabajo fue determinar zonas hipóxicas del arroyo Girado desde el vertido del efluente cloacal hasta su ingreso en la laguna Chascomús y estudiar la diversidad y abundancia íctica en estas zonas. Semanalmente durante un año, se midió el OD en el efluente cloacal (EC), en la unión del efluente con el arroyo Girado (UEA) en el curso del arroyo Girado (AG) y en la laguna Chascomús (LCh). A su vez, se midió un día al mes durante un año, el OD cada 6 hs (6, 12, 18 y 24) para estudiar la variación diaria en los sitios mencionados. Por otro lado, se realizaron muestreos estacionales de peces en las zonas hipóxica y normóxica del arroyo Girado. Se determinó que en el EC los valores de OD variaron entre: 0,77- 3,84 mg/L, en la UEA 0,7-3,80 mg/L (zonas hipóxicas); mientras que en el AG y en la LCh se registraron valores entre: 3,5-11,76 mg/L y 5,9-11,11 mg/L (zonas normóxicas). Los valores mínimos diarios para todos los sitios de muestreo se determinaron a las 6 hs y los máximos a las 18 hs en relación con la actividad fotosintética del fitoplancton. En ambas zonas del arroyo se encontraron especies de peces tolerantes a la hipoxia: *Hypostomus commersoni*, *Cyprinus carpio*, *Cyphocharax voga*. Además, se capturaron también algunos ejemplares de *Odontesthes bonariensis* (pejerrey) en diferentes estadios de madurez sexual, a pesar de ser sensibles a la hipoxia. Estos resultados analizan por primera vez el impacto de la descarga del efluente cloacal de la ciudad de Chascomús sobre el arroyo Girado provocando zonas hipóxicas.

40) Efecto de la atrazina y el glifosato sobre el desarrollo temprano de embriones y larvas de *Odontesthes bonariensis*

Nicolás Torres Martínez^{1,2*}, Leandro A. Miranda^{1,2}

¹INTECH (CONICET-UNSAM). Chascomús, Buenos Aires. Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM). ²Laboratorio de Ictiofisiología y Acuicultura. *email: ntorres@intech.gov.ar

Las lagunas son los ecosistemas de agua dulce más productivos de la región pampeana argentina. Sin embargo, desde mediados del siglo XX han sufrido cambios, principalmente asociadas a la expansión agropecuaria, siendo los herbicidas Atrazina y Glifosato los más usados. Debido a la escasa información de su impacto sobre embriones y larvas de pejerrey, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de estos agroquímicos sobre el desarrollo temprano de *O. bonariensis*. Para ello se obtuvieron 420 embriones del stock de reproductores del INTECH durante el periodo de reproducción del 2022 distribuyéndolos en 7 tratamientos (control; ATZ 1X (300 ng/L); ATZ 10X (3.000 ng/L); GFT 1X (15 ng/L); GFT 10X (150 ng/L); Mezcla 1X (300 y 15 ng/L) y Mezcla 10X (3.000 y 150 ng/L)) por triplicado. Los análisis estadísticos se realizaron con el modelo MLGM, usando un test de comparación múltiple LSD Fisher ($p < 0,05$) en el software InfoStat. Los agroquímicos ATZ y GFT afectaron el desarrollo embrionario y larvario del pejerrey *Odontesthes bonariensis* acortando su tiempo de vida. Se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en ATZ los días 4 al 8 (ATZ1X) y del 15 al 19 (ATZ10X). Para GFT los días 16 al 19 (GFT10X). Finalmente, para las mezclas los días 14 y 17-18 (MZ10X). Así mismo MZ10X fue el único tratamiento que logró disminuir la eclosión de los embriones en comparación al control mostrando significancia los días 13 y 14. Finalmente, Las deformaciones óseas no fueron influenciadas por los tratamientos. Se demostraron los efectos nocivos de los herbicidas Atrazina y Glifosato sobre el desarrollo temprano del pejerrey *O. bonariensis* (especie emblemática y autóctona de la Argentina). Debido al gran uso de estos agroquímicos en el sector agropecuario, estos resultados son una señal de alarma para tomar medidas de protección sobre la ictiofauna pampeana.

41) Efecto de los péptidos gastrointestinales ghrelina y nesfatina-1 sobre el control del eje de crecimiento en el pejerrey *Odontesthes bonariensis*

Antonia del Pilar Rosero-García*, Luís Fabián Canosa.

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH), Laboratorio de Neuroendocrinología Comparada. Universidad Nacional de San Martín (UNSAM). CONICET. Buenos Aires, Argentina. *email: aroserogarcia@intech.gov

El pejerrey *Odontesthes bonariensis* es un importante recurso ictícola en Argentina que tiene como limitante su lento crecimiento. En este sentido, creemos que es relevante estudiar la regulación endocrina del crecimiento de esta especie. Dicho crecimiento es regulado por el eje endocrino somatotrófico que incluye a la hormona de crecimiento (GH), los factores de crecimiento similares a insulina (IGF), sus receptores y transportadores séricos específicos. La secreción de GH por parte de la hipófisis está controlada por neuropéptidos hipotalámicos estimulatorios e inhibitorios, y el proceso de crecimiento requiere la incorporación de nutrientes y energía. Así, factores que participan en el control de la ingesta, como los péptidos gastrointestinales ghrelina y nesfatina-1 con función orexígena y anorexígena, respectivamente, interactúan con el eje de crecimiento a nivel tanto hipotalámico como hipofisario. Nosotros hipotetizamos que estos dos factores pueden actuar sobre el hígado alterando la respuesta a GH en este órgano y modificando la producción de los IGFs, pudiendo mediar de este modo los efectos reportados sobre el eje de crecimiento a nivel hepático de macronutrientes. Por lo tanto, nos hemos propuesto evaluar el efecto de estos dos péptidos sobre el eje de crecimiento de *O. bonariensis*. Se realizó un análisis *in silico* del genoma de pejerrey utilizando como sonda la secuencia de pro-grelina de tilapia *Oreochromis niloticus*. A partir de este análisis se obtuvo una secuencia codificante de una proteína que en la parte activa del péptido (secuencia de aminoácidos entre paréntesis), altamente conservada en la mayoría de los teleósteos (GSSFLSPSQKP), presenta sustituciones (aminoácidos subrayados) en *O. bonariensis* (SESFLRPSHKP), lo cual hace dudar si dicho péptido *per se* sea funcional, ya que en el medaka *Oryzias latipes*, un pez agástrico como el pejerrey, se ha perdido el gen de ghrelina. Se realizarán ensayos para estudiar la funcionalidad de la ghrelina en el pejerrey.

42) Hormona inhibidora de gonadotrofinas (Gnih) en la hipófisis del pejerrey, *Odontesthes bonariensis*

Ana M. Pahí-Rosero,^{1,2*} Gabriela C. López,^{1,2} María R. Pérez,^{1,2} Javier. Herdman,^{1,2} Paula G. Vissio,³ Gustavo M. Somoza.^{1,2}

¹INTECH (CONICET-UNSAM). Chascomús, Buenos Aires. ³Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM).
³DBBE-FCEN, UBA/IBBEA, CONICET-UBA), Buenos Aires, Argentina. * email: anamaria@intech.gov.ar

La Hormona inhibidora de gonadotrofinas (Gnih) es un neuropéptido hipotalámico que inhibe la síntesis y secreción de las gonadotrofinas hipofisarias en aves y en mamíferos. Sin embargo, su relación con la reproducción en peces no es clara. El objetivo de este trabajo fue evaluar la ontogenia de las fibras y células productoras de la misma a nivel hipofisario. Para llevar a cabo esto, se mantuvieron larvas desde la eclosión a 24 ± 1 °C (temperatura a la cual se manifiesta el sexo genotípico) hasta la semana 10, tomándose muestras semanalmente. Posteriormente, los peces se transfirieron a estanques con agua a 17 ± 2 °C, continuado con muestreos mensuales hasta el año de vida. La presencia de Gnih se determinó mediante inmunohistoquímica, utilizando un anticuerpo heterólogo ya caracterizado en peces adultos de esta especie. Desde el momento de la eclosión se detectó la presencia de fibras inmunorreactivas a Gnih (ir-Gnih) en la hipófisis. A partir de la semana 1, se detectaron, además de las fibras, células ir-Gnih. Esto se observó hasta la semana 7 coincidiendo en hembras y machos con la diferenciación gonadal. A partir de esta semana, sólo se observaron fibras en hipófisis hasta el año de vida, contrastando con la situación en adultos en donde no hay inervación Gnihérgica en la hipófisis. En ese momento, la histología gonadal mostró oocitos en crecimiento primario en ovarios y espermatogonias y algunos espermatocitos en testículos. Estos resultados sugieren que Gnih podría cumplir un rol específico durante el desarrollo y que puede estar relacionado con el inicio de la maduración sexual.

43) Obtención de una línea de pejerrey editado para *sstr5*

Boan A. *, Herdman J., Miranda L., Canosa L., Fernandino J.I.

Instituto Tecnológico de Chascomús, INTECH (CONICET-UNSAM). Escuela de Bio y Nanotecnologías (UNSAM). Chascomús, Argentina. *aboan@intech.gov.ar

El pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) es un pez emblemático de la región pampeana de Argentina que presenta gran atractivo gastronómico y turístico. Sin embargo, a lo largo de los años, no se ha logrado establecer ningún establecimiento productivo para esta especie, siendo los largos tiempos de crecimiento la mayor limitante. En los vertebrados, la hormona de crecimiento (GH) desempeña un papel central en la regulación del crecimiento somático. En los peces, la liberación de GH está bajo constante regulación negativa, y uno de estos reguladores es la hormona somatostatina (SST). La acción de la SST está mediada por sus receptores y en peces se han descripto 4 (SSTR-1-3 y -5), siendo SSTR-2 y -5 los que se asocian mayormente a la mediación de la acción de esta hormona en la hipófisis. Teniendo en cuenta los antecedentes, proponemos la hipótesis de que bloquear la inhibición por SST en individuos de pejerrey daría como resultado un aumento en la secreción de GH con el concomitante crecimiento de los peces. Utilizando la herramienta de edición génica CRISPR/Cas9 realizamos la edición del gen que codifica para el SSTR-5 con el fin de generar individuos con pérdida de función para esta proteína. Una vez obtenidos, la edición fue confirmada mediante una PCR a tiempo final utilizando oligonucleótidos que flanquean el sitio de edición en el genoma. Finalmente, individuos editados e individuos de genotipo salvaje se incubaron hasta eclosión y posteriormente se criaron en tanques de 30 litros durante 1 mes. Al final del periodo, se les midió el largo estándar. Si bien se logró obtener por primera vez un individuo de pejerrey editado para el gen *sstr5*, no se observó crecimiento prematuro en los individuos editados.

44) Avances en la extracción y caracterización de colágeno obtenido de residuos de la industria pesquera Argentina

Victoria F. Alcolea Ersinger^{1*}, Daniela L. Lamas^{1,2}, Águeda E. Massa^{1,2}

¹Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). ²Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IIMyC-CONICET). *email: valcoleaersinger@inidep.edu.ar

El colágeno es un compuesto biológico de gran interés comercial, ya que presenta aplicaciones en distintas industrias. Los residuos derivados del sector pesquero, especialmente las pieles, son una fuente de colágeno cuya extracción podría no solo agregar valor a estos subproductos, sino también mitigar los problemas medioambientales asociados a esta actividad económica. En este estudio, se propuso optimizar los métodos de extracción de colágeno a partir de residuos pesqueros, empleando pretratamiento y técnicas ácidas y enzimáticas. A partir de ejemplares capturados por el INIDEP, las pieles fueron extraídas, reducidas en tamaño y sumergidas en NaOH (0,1M) durante distintos periodos (2-24 h) para eliminar las proteínas no colágenas. Luego, se llevó a cabo el desgrasado mediante la inmersión del extracto en etanol (10%) durante lapsos entre 6 y 24 h. Para la extracción del colágeno, se utilizó ácido acético 0,5M (método ácido) y pepsina comercial en diferentes porcentajes (1-5-10% w/w, método enzimático) durante períodos entre 24 y 72 h. Posteriormente, se centrifugó, se procedió a resuspender el precipitado en las mismas condiciones y se repitió el proceso 24h más. Los extractos resultantes fueron purificados mediante precipitación utilizando NaCl 2,6 M en un buffer Tris-HCl (pH 7,5), seguido por diálisis en ácido acético y agua. Para evaluar los distintos procesos, se realizó la determinación del contenido de hidroxiprolina mediante espectrofotometría UV-Visible y análisis del perfil electroforético (SDS-page). Los resultados mostraron que los tiempos óptimos para el pretratamiento fueron 2 horas para el desproteínizado y 6 horas para el desgrasado. El rendimiento máximo en la extracción ácida se logró a las 72 horas, mientras que en la extracción enzimática, la concentración de pepsina fue el factor determinante directamente proporcional con el rendimiento. Todos los extractos mostraron el pico de absorción en el espectro UV visible característico de colágeno. Además, el SDS-PAGE mostró bandas de peso molecular asociadas a cadenas α y β de colágeno. Los resultados obtenidos sugieren que los métodos de extracción químicos y enzimáticos son viables para obtener colágeno a partir de pieles de residuos pesqueros, potenciando el uso de los mismos como fuente de biocompuestos. Esto generaría una alternativa biotecnológica e innovadora para fomentar el aprovechamiento integral y sostenible de los recursos pesqueros.