

**CONVENIO DE COOPERACIÓN CIENTÍFICA
ENTRE
EL INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

Entre LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, en adelante “LA FACULTAD”, con domicilio legal en la calle Haya de la Torre y Medina Allende de la Ciudad de Córdoba, representado en este acto por la Dra. Silvia Graciela Correa, DNI: 16.486.042, Decana firmante, según Resolución RHCD-2025-477, conforme delegación de la Ordenanza HCS N° 06/2012, por una parte y por la otra el INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA), organismo desconcentrado dependiente de la SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA del MINISTERIO DE ECONOMÍA conforme el Decreto Nro. 462/2025, representado en este acto por el Sr. Presidente Ing. Agr. Nicolás BRONZOVICH (D.N.I. N° 22.855.224), con domicilio legal en calle Rivadavia 1439, de la ciudad de Buenos Aires, representado en este acto por el Presidente del Consejo Directivo o el Director del Centro Regional, Nicolás Bronzovich, por la otra, acuerdan suscribir el presente Convenio de Cooperación Científica que quedará sujeto a las siguientes cláusulas:

FINALIDAD DEL CONVENIO.

PRIMERA: “EL INTA” y “LA FACULTAD”, cooperarán para evaluar la “capacidad desinfectante/biopesticida de nanoemulsiones de ramnolípidos aplicadas a semillas de leguminosas de importancia agronómica” de acuerdo con el Proyecto de Trabajo y Cronograma de Actividades presentados en el Anexo I.

COMITÉ COORDINADOR

SEGUNDA: A los efectos del logro de los fines propuestos, se crea un Comité Coordinador integrado por un miembro titular y uno suplente por cada una de las partes, el que deberá constituirse dentro de los quince (15) días de la firma del convenio. Las partes podrán reemplazar sus representantes cuando así lo consideren conveniente, con obligación de comunicar por escrito en forma inmediata a la otra parte, los reemplazantes designados.

TERCERA: El Comité Coordinador tendrá las siguientes atribuciones y funciones: a) Preparar el Programa Anual de Actividades, el correspondiente presupuesto anual de gastos y el flujo de fondos para su ejecución. b) Modificar el Programa Anual de Actividades y su correspondiente presupuesto en cualquier momento de su desarrollo, cuando a través del seguimiento se compruebe la necesidad de hacerlo para el logro de los objetivos del convenio. c) Proceder al seguimiento de los trabajos afectados al convenio y establecer el grado de avance del Proyecto. d) Tratar todas las formulaciones, propuestas y/o recomendaciones que surjan de las partes contractuales, referente al Proyecto conjunto y que no estén comprendidas en el detalle de funciones. e) Resguardar la confidencialidad de la información cuando la misma tenga este carácter. f) Aprobar las publicaciones y/o documentos producidos. g) Lo tratado y resuelto en las reuniones ordinarias y extraordinarias será consignado en actas las que deberán ser firmadas por los miembros titulares y suplentes presentes de cada institución; además, serán elevadas copias a las autoridades respectivas, la Dirección de Relaciones Institucionales del INTA y a la Prosecretaría de Valorización del Conocimiento y Transferencia Tecnológica de la “LA FACULTAD”

OBLIGACIONES DEL INTA

CUARTA: El INTA, a través del Instituto de Patología Vegetal, conducirá los trabajos necesarios para el logro de los objetivos indicados en la cláusula primera. El INTA designará como responsable del presente convenio a la Dra. Natalia G. Meneguzzi con funciones de coordinación y responsabilidad de

la ejecución técnica y administrativa de las actividades correspondientes al INTA.

QUINTA: “EL INTA” se compromete a aportar los recursos económicos y físicos necesarios para el logro de los objetivos indicados en la cláusula cuarta, detallados en el Anexo II.

SEXTA: “EL INTA” se compromete a aportar el personal profesional detallado en el Anexo III, especificando su responsabilidad y tiempo afectado por cada uno de ellos. EL INTA, a través del Comité Coordinador, se obliga a comunicar por escrito, a “LA FACULTAD” sobre los cambios eventuales que pudieran producirse, con la obligación de que los mismos no afecten el objetivo del presente convenio ni el programa de actividades estipulado.

OBLIGACIONES DE “LA FACULTAD”

SEPTIMA: “LA FACULTAD” a través del Departamento de Química Biológica Ranwel Caputto, conducirá los trabajos necesarios para el logro de los objetivos indicados en la cláusula primera y detallados en el cronograma del Anexo I. “LA FACULTAD” designará como responsable del presente convenio a la Dra. Georgina Fabro con funciones de coordinación y responsabilidad de la ejecución técnica y administrativa de las actividades correspondientes a “LA FACULTAD”.

OCTAVA: “LA FACULTAD”, se compromete a acompañar la ejecución de los recursos económicos y físicos necesarios para el logro de los objetivos indicados en la cláusula primera y detallados en el Anexo I y Anexo II.

NOVENA: “LA FACULTAD” se compromete a aportar el personal profesional enunciado en el Anexo III, especificando la responsabilidad y tiempo afectado por cada uno de ellos para el cumplimiento de las actividades. “LA FACULTAD”, a través del Comité Coordinador, se obliga a comunicar por escrito a “EL INTA” sobre los cambios eventuales que pudieran producirse con la obligación que los mismos no afecten el objetivo del presente convenio ni el programa de actividades estipulado.

INSTRUMENTACION.

DECIMA: En los años sucesivos a la firma del presente Convenio, las partes, a través del Comité Coordinador, deberán elaborar y elevar a las autoridades competentes, para su aprobación y firma, las actas donde se establece el proyecto de trabajo, cronograma anual de actividades, el presupuesto anual estimado y personal participante. Se entiende por autoridad competente por el INTA al director del Centro de Investigaciones Agropecuarias y al Secretario General de la “LA FACULTAD”.

CONFIDENCIALIDAD

DECIMO PRIMERA: Cada una de las partes se compromete a no difundir las informaciones científicas o técnicas pertenecientes a la otra parte, a las que haya podido tener acceso, siempre que esas informaciones no sean de dominio público, o las partes acuerden expresamente lo contrario. Los datos e informes obtenidos durante la realización de los proyectos o acciones conjuntas, así como los resultados finales tendrán carácter confidencial, y su utilización total o parcial para su publicación, conferencia u otras modalidades de difusión, requerirá conformidad expresa de ambas partes.

PROPIEDAD INTELECTUAL.

DECIMO SEGUNDA: Si como consecuencia de los trabajos realizados en el presente Convenio, se obtuviesen resultados que permitan el depósito de derechos de propiedad intelectual, los porcentajes de participación en la propiedad intelectual y la carga de los costos necesarios para la obtención serán definidos en un nuevo convenio de Vinculación Tecnológica.

EXPLOTACION DE LOS RESULTADOS.

DECIMO TERCERA: Si como consecuencia de los trabajos realizados en el presente Convenio, se obtuviesen resultados que permitan la explotación comercial de los resultados de la investigación, las partes acordaran la distribución de los beneficios que deriven de su explotación en un CONTRATO DE LICENCIA que se realizará con el licenciatario encargado de tal explotación comercial.

PROPIEDAD DE LOS BIENES.

DECIMO CUARTA: Los bienes muebles e inmuebles de “LA FACULTAD” y de “EL INTA” afectados a la ejecución del presente convenio que se destinen al desarrollo de los planes de trabajo, o los que pudieran agregarse y/o utilizarse en el futuro, continuarán en el patrimonio de la parte a la que pertenecen, o con cuyos fondos hubiesen sido adquiridos, salvo determinación en contrario manifestada formalmente.

DECIMO QUINTA: Los elementos inventariados entregados por una de las partes a la otra en calidad de préstamo deberán ser restituidos a la parte que los haya facilitado una vez cumplida la finalidad para la que fueron entregados, en buen estado de conservación, sin perjuicio del desgaste ocasionado por el uso normal y la acción del tiempo. La partereceptora será considerada a todos los efectos como depositaria legal de los elementos recibidos.

AUTONOMIA DE LAS PARTES Y RESPONSABILIDADES

DECIMO SEXTA: El INTA y “LA FACULTAD” dejan formalmente establecido que cada una afrontará los riesgos de accidentes y/o enfermedades de su propio personal mientras desempeñen sus actividades y se hará cargo del mantenimiento de los bienes puestos a su disposición para el cumplimiento de los objetivos del presente convenio. También asumirán la responsabilidad por todo acto u omisión que cause gravamen de cada una de las partes respecto a su propio personal.

DECIMO SEPTIMA: La falta de cumplimiento de sus obligaciones por parte del personal del “LA FACULTAD” o de “EL INTA” afectado a la ejecución del presente convenio determinará la elevación de los respectivos antecedentes, previo informe del Comité Coordinador, a la parte de quien dependa a los efectos de que adopten las medidas que correspondan según los estatutos que lo rijan.

DECIMO OCTAVA: En toda circunstancia o hecho que tenga relación con este instrumento las partes mantendrán la individualidad y autonomía de sus respectivas estructuras técnicas y administrativas y asumirán particularmente en consecuencia, las responsabilidades consiguientes.

POSIBILIDAD DE ACUERDOS CON IGUAL FINALIDAD.

DECIMO NOVENA: Se deja expresa constancia que la suscripción del presente Convenio no significa un obstáculo para que la “LA FACULTAD” o “EL INTA” en forma conjunta o individual puedan celebrar otros acuerdos con idéntica finalidad con otras Entidades o Instituciones del país o del extranjero. En ese supuesto las partes deberán notificar anticipadamente a la otra, dándole la intervención necesaria a fin de coordinar posibles tareas comunes.

RECAUDOS PARA EL NORMAL DESARROLLO.

VIGESIMA: “LA FACULTAD” o “EL INTA” en forma conjunta o separada tomarán los recaudos necesarios para evitar interferencias de cualquier índole que alteren el normal desarrollo de las actividades que surjan de los compromisos adquiridos por el presente convenio y las que les corresponden específicamente.

BUENA FE Y CORDIALIDAD.

VIGESIMO PRIMERA: "LA FACULTAD" y "EL INTA" observarán en sus relaciones el mayor espíritu de colaboración y las mismas se basarán en los principios de buena fe y cordialidad en atención a los altos fines perseguidos en común con la celebración del presente convenio.

CONTROVERSIAS Y JURISDICCION.

VIGESIMO SEGUNDA: Las partes se comprometen a resolver en forma directa y amistosa entre ellos y por las instancias jerárquicas que correspondan, los desacuerdos y discrepancias que pudieran originarse en el planteamiento y ejecución de las actividades, y en caso de contienda judicial se someten a la jurisdicción y competencia de los Tribunales en lo Contencioso Administrativo Federal y Civil y Comercial Federal de la Capital Federal, renunciando a cualquier otro fuero o jurisdicción que pudiera corresponder.

NOTIFICACIONES.

VIGESIMO TERCERA: Para todos los aspectos legales, las partes constituyen los domicilios que se mencionan "*ad initio*".

DURACION.

VIGESIMO CUARTA: El presente convenio tendrá una duración de un (1) año y entrará en vigencia a partir de la fecha de su firma, podrá ser prorrogado por un término igual mediante acuerdo de las partes y previa evaluación de los resultados obtenidos.

RESCISION.

VIGESIMO QUINTA: Cualquiera de las partes podrá rescindir el presente convenio cuando la otra no cumpla con la/s obligación/s establecidas en el mismo. Previamente deberá intimarse el cumplimiento efectivo de la/ misma/s, en un término de treinta (30) días corridos, bajo apercibimiento de proceder a la rescisión de este convenio.

VIGESIMO SEXTA: Cualquiera de las partes podrá rescindir unilateralmente el presente convenio comunicándolo por escrito a la otra parte con una anticipación de treinta días (30) a la fecha del vencimiento. La rescisión no dará derecho alguno a las partes a formular reclamos de indemnizaciones de cualquier naturaleza. En caso de una rescisión de esta índole, los trabajos en ejecución deberán continuar hasta su finalización.

En prueba de conformidad, se firman dos (2) ejemplares de un mismo tenor y a un solo efecto en la ciudad dea los días del mes de
del año dos mil

por INTA

por "LA FACULTAD"

ANEXO I

CONVENIO DE COOPERACIÓN CIENTÍFICA ENTRE EL INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

NOMBRE DEL PROYECTO: “Evaluación de la capacidad desinfectante de nanoemulsiones de ramnolípidos funcionalizadas con aceites esenciales aplicadas sobre semillas de leguminosas de interés agroindustrial”

EQUIPO DE TRABAJO: Dra. Lucille Tihomirova Kourdova (Becaria Postdoctoral CONICET y Prof. Asistente DS FCQ-UNC), Dra. Georgina Fabro (Inv. Adjunta CONICET, Prof. Asociada UNC), Dra. María Laura Fanani (Inv. Principal CONICET, Prof. Titular UNC), Dra. Natalia G. Meneguzzi (Investigadora IPAVE-CIAP-INTA), Estud. de Biotecnología Nicolás Damián Haro (FCQ, UNC).

LUGARES DONDE SE DESARROLLARÁ EL PROYECTO: Los experimentos de microbiología y biología molecular y crecimiento de plantas en cámaras de cultivo controladas se realizarán en el departamento de Química Biológica “Ranwel Caputto” (DQBRC-FCQ-UNC). Los experimentos de crecimiento de plantas de poroto y/o soja en invernadero se realizarán en espacio asignado a la Dra. Natalia Meneguzzi, IPAVE, INTA, Camino 60 cuadradas km 5.5, X5119 Córdoba.

FINANCIAMIENTO:

- PICT-2020-0763 otorgado a la Dra. Fabro (en curso).
- Subsidio SECyT-UNC FORMAR 2023-2024 otorgado a la Dra. Fabro (en curso).
- Fundación ArgenINTA, fondos administrados por la Dra. Meneguzzi (IPAVE-CIAP-INTA).

ANTECEDENTES

En los ambientes agrícolas de monocultivo, la uniformidad genética y el uso intensivo de agroquímicos favorece la aparición de patógenos adaptados que superan las defensas de las plantas generando epidemias que causan cuantiosas pérdidas a nivel mundial (1). En Argentina, el marcado aumento de la superficie sembrada de soja (*Glycine max*, Gm) y la diversidad de condiciones ambientales en las que se desarrolla el cultivo, ha influido en el desarrollo de enfermedades ocasionadas por diversos microorganismos patógenos, cuya importancia económica varía según región, patógeno, manejo del cultivo y susceptibilidad del cultivar (2). En la provincia de Córdoba el área de cultivos sembrada se extiende a más de 6 millones de hectáreas, de las cuales aproximadamente el 50% corresponden al cultivo de soja (Bolsa de Cereales de Córdoba), aportando un 29% de la producción nacional (Ministerio de Hacienda, Presidencia de la Nación). Por otro lado, el poroto común (*Phaseolus vulgaris*, Pv) es la tercera legumbre más consumida mundialmente, destacándose por su alto contenido en proteínas y carbohidratos. Argentina es su principal exportador, siendo su cultivo concentrado principalmente en el Noroeste argentino, aunque en los últimos años ha aumentado su producción en Córdoba (3). Las pérdidas en los rendimientos de estas leguminosas se deben a factores climáticos y también a enfermedades causadas por hongos, virus y bacterias (4).

Uno de los principales desafíos en la siembra de estos cultivos es la contaminación de las semillas por microorganismos patógenos, como bacterias y hongos. Estos patógenos pueden afectar la germinación y el desarrollo inicial de los cultivos en hasta un 40% (5), lo cual se traduce en pérdidas significativas en el rendimiento y repercusiones económicas negativas para los productores. Una de las enfermedades bacterianas que afectan a estos cultivos en nuestro país es el tizón bacteriano. En soja el tizón bacteriano es causado por bacterias del género *Pseudomonas* (6), mientras que esta enfermedad en poroto es causada por la infección con bacterias del género *Xanthomonas* (7). El tizón

bacteriano se caracteriza por generar lesiones empapadas de agua en hojas, vainas, tallos o pecíolos, que rápidamente desarrollan halos amarillo verdosos (8) . Este tipo de enfermedades bacterianas causan grandes pérdidas en los cultivos y son difíciles de controlar debido a que uno de los modos de transmisión es la propia semilla, que puede estar contaminada con el patógeno sin manifestar síntomas. No existe un tratamiento curativo para estas enfermedades bacterianas, sólo tratamientos preventivos como la pulverización de planta adultas con un bactericida genérico a base de cobre cuando aparecen los primeros síntomas. Sin embargo, su eficacia es limitada en la fase de floración, cuando los síntomas sólo pueden reducirse, pero no eliminarse. Dado que el cobre es un metal pesado, estos tratamientos también son perjudiciales para el medio ambiente y además se han documentado algunas cepas bacterianas resistentes al cobre (9). Hasta el momento, el control de la enfermedad consiste en el uso de semillas con certificación sanitaria. El análisis fitosanitario, utilizando pruebas microbiológicas y moleculares para detectar patógenos, no siempre es solicitado por los productores que, en caso del poroto, a menudo reúsan sus propias semillas. Asimismo, normalmente la semilla comercializada de soja es desinfectada con pesticidas químicos. El uso de semillas con resistencia genética (9) es limitado ya que no siempre está disponible para todos los varietales. Posteriormente al análisis fitosanitario, las semillas contaminadas deben descartarse, afectando la cantidad disponible para una nueva siembra. Para evitar esto se utilizan tratamientos químicos con fungicidas y bactericidas sintéticos (curado). Sin embargo, el uso extensivo de estos tratamientos químicos, además de ser costoso económicamente, genera contaminación ambiental, debido a la toxicidad aguda y crónica de los pesticidas en uso, que afectan tanto a quienes los aplican como a quienes consumen los alimentos tratados (10). Además, es sabido que el uso desmedido de antibióticos y pesticidas en el ambiente conduce a la selección de bacterias hiperresistentes, cada vez más difíciles de eliminar. Por ello, es importante desarrollar nuevas formulaciones que puedan combatir o prevenir la enfermedad sin ser perjudiciales para el ambiente y la salud humana.

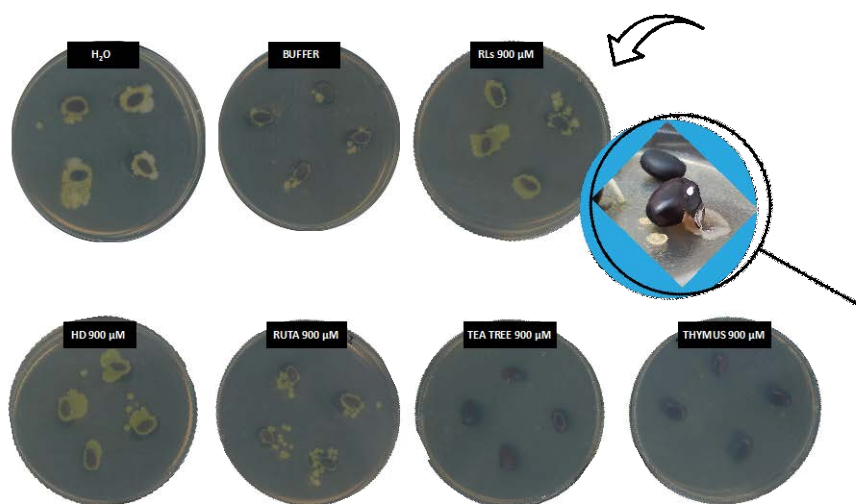
Si bien los pesticidas químicos sintéticos son necesarios para sostener la producción de agroalimentos, su reemplazo por alternativas más seguras y sustentables es una prioridad. En este marco, **se propone continuar evaluando la efectividad de insumos de origen biológico, biodegradables y no tóxicos, basados en ramnolípidos y aceites esenciales, como alternativa al uso de pesticidas actuales.** En **trabajos previos** que surgen de las investigaciones de los laboratorios de las Dras. Fabro y Fanani (11, 12), se han desarrollado nanoemulsiones (NEs) de ramnolípidos capaces de potenciar el sistema inmune vegetal, empleadas como vehículo para encapsular aceites esenciales (AEs) con actividad antimicrobiana e insecticida. Dichas formulaciones comenzaron a ser testeadas, a nivel foliar, en poroto contra *Xanthomonas* spp mediante un convenio de vinculación firmado previamente entre INTA-IPAVE y la FCQ (Resolución Decanal 2524 del 6 de Diciembre de 2023). En base a los resultados de dicho convenio, es que **deseamos proponer la continuación del convenio anterior incorporando mediante el presente proyecto** la evaluación del potencial curasemilla de estas NEs en base a los antecedentes que se describen a continuación.

Una de las estrategias empleadas en la actualidad para combatir las enfermedades de las plantas es aumentar sus respuestas de defensa innata, provocando la inducción de un estado de memoria inmunológica de amplio espectro denominado *priming*. Esto permite que, frente a futuras infecciones, las plantas puedan responder con mayor rapidez y eficiencia a la presencia del patógeno (13). Distintos tratamientos con moléculas exógenas pueden inducir ese estado de *priming*, mejorando la respuesta inmune y la resistencia de las plantas a futuros estresores, tanto bióticos como abióticos. Así como en otras plantas, se conoce que la inducción de *priming* en el poroto mejora su resistencia a la infección de *P. syringae* pv. *phaseolicola* (13, 14). Los Rhamnolípidos (RLs), producidos naturalmente por algunos microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, forman parte de los compuestos que pueden generar una respuesta inmune inducida en las plantas (15, 16, 17). Se ha demostrado que estos glicolípidos tienen una amplia gama de propiedades antibacterianas y antifúngicas, ya sea directamente o a través de la estimulación del sistema inmunitario innato de las plantas (15, 16, 17, 18). Debido a que son fácilmente biodegradables y que presentan una baja ecotoxicidad (19), los RLs muestran un alto potencial para ser utilizados en la agricultura. Además, los RLs naturales son

excelentes estabilizadores de emulsiones, por lo cual pueden ser capaces de encapsular compuestos hidrofóbicos bioactivos como los aceites esenciales (AEs), con conocidas propiedades antimicrobianas, combinando así las propiedades de ambos componentes y mejorando su eficacia como bioprotectores de las plantas. En los laboratorios de la Dra. Fabro y la Dra. Fanani, donde la Dra. Kourdova realiza sus investigaciones posdoctorales, se han desarrollado distintas nanoemulsiones de RLs y AEs de ruda, tomillo y árbol de té, con el fin de aplicarlos a plantas para mejorar su respuesta a infecciones con distintos patógenos y al ataque de insectos. Las nanoemulsiones conformadas por RLs y n-hexadecano (HD), un aceite de propiedades inertes, mostraron la capacidad de actuar como estimulantes del sistema inmune de la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, mejorando su respuesta a la infección bacteriana de *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000 (11). Además, estas nanoemulsiones fueron inocuas para la microbiota natural del suelo y para distintos microorganismos beneficiosos que suelen ser utilizados en formulaciones como bioinoculantes de semillas (11). Resultados publicados recientemente (12) indican que los RLs + AEs también disminuyen el crecimiento de bacterias patógenas en *A. thaliana* al mismo tiempo que actúan como inhibidores de la capacidad reproductiva de insectos pulgones que son vectores de virus (11). **Asimismo, resultados preliminares obtenidos en el marco de la colaboración con la Dra. Meneguzzi permitieron evidenciar que la aplicación a semillas de poroto contaminadas con *Xanthomonas* spp, (20) indican que las NEs de RLs conteniendo AEs reducen significativamente el crecimiento de microbios presentes sobre la cubierta de la semilla, cuando las mismas son desinfectadas y germinadas *in vitro* (Figura 1).** Este resultado podría deberse a diferentes causas: una disminución de la cantidad de patógeno en el tejido vegetal por una actividad antimicrobiana directa de las NEs o bien un efecto estimulador de la respuesta inmune vegetal en los tejidos tratados, o ambas.

Figura. 1.

POTENTIAL OF NEs AS A SEED DISINFECTION TREATMENT



TREATMENTS WITH TEA TREE OR THYME NEs WERE EFFECTIVE IN REDUCING THE MICROORGANISMS PRESENT IN THE BEAN SEEDS.

OBJETIVOS

Objetivo General: Evaluar la capacidad desinfectante e inductora de *priming* de NEs de ramnolípidos (RLs) conteniendo Aceites Esenciales (AEs) sobre semillas de plantas leguminosas de importancia agronómica.

Objetivos Específicos:

- OE1) Investigar el efecto directo de las NEs sobre el crecimiento de patógenos bacterianos como *Xanthomonas* spp y *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* en medios líquidos y sólidos.
- OE2) Evaluar si las NEs, dado su contenido de RLs y AEs con actividad antimicrobiana, pueden actuar como agente desinfectante superficial de semillas (“curasemillas”) en poroto común (*Phaseolus*

vulgaris L.) y soja (*Glycine max*).

● OE3) Estudiar si las NEs tienen capacidad inductora de *priming* evaluando si el tratamiento de semillas afecta, en la planta adulta, al desarrollo de síntomas de enfermedades bacterianas causadas por *Xanthomonas* spp y *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*.

DESARROLLO EXPERIMENTAL PROPUESTO

Objetivo Específico 1. Investigar el efecto directo de las NEs sobre el crecimiento de patógenos bacterianos como *Xanthomonas* spp y *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* en medios líquidos y sólidos.

En base a los antecedentes del grupo obtenidos con la planta modelo *A. thaliana*, se postula que NEs con combinaciones óptimas de RLs y AEs podrían tener la capacidad de disminuir la proliferación de patógenos bacterianos en semillas de leguminosas de interés agrícola como el poroto y la soja. Para determinar la actividad inhibitoria directa de las NEs contra las bacterias patógenas mencionadas, se utilizará la técnica de concentración inhibitoria mínima (MIC), la cual se define como la concentración más baja de anfifílos que inhibe el crecimiento bacteriano visible después de la incubación a 28 °C en condiciones aeróbicas. Para la evaluación de inhibición del crecimiento en cultivos líquidos se determinará el crecimiento bacteriano mediante el monitoreo de la densidad óptica a 600 nanómetros (OD₆₀₀). Se evaluará el efecto del agregado de diferentes tipos y concentraciones de NEs en el crecimiento *in vitro* tanto desde el momento de la inoculación como sobre cultivos ya crecidos a ODs entre 0.005 y 0.1. Asimismo, luego de determinarse la OD₆₀₀ cada muestra será plaqueada en medio LB para recuento de colonias supervivientes. Como control positivo se utilizarán antibióticos de amplio espectro (gentamicina, espectinomicina, cabenilina, etc). Para la evaluación del crecimiento en medio sólido, se crecerán las bacterias en césped a partir de diluciones seriadas obtenidas de cultivos líquido (OD₆₀₀= 0.0005 a OD 0.1). Se dejarán crecer a temperatura ambiente por 24 ó 48 hs y en ambos casos se procederá aplicar sobre las mismas discos de papeles de filtro de 0.5mm² de diámetro conteniendo 10 microlitros de cada una de las NEs, buffer control negativo o antibióticos como control positivo. Luego, cada 24 hs se medirán los diámetros de los halos de inhibición con un calibre. Más detalles técnicos sobre este tipo de ensayos se encuentran publicados en las referencias 21 y 22.

Como ensayo colateral de este objetivo también evaluaremos los efectos de las NEs-RLs sobre la bacteria benéfica *Bradyrhizobium diazoefficiens* (Bd). Es importante determinar si las NEs no tienen efecto adverso sobre el crecimiento de este rizobio fundamental para la nodulación de la soja (23). *In vitro*, realizaremos curvas de crecimiento y ensayos de inhibición en placa de Bd en presencia de las formulaciones usadas en OE2. Para evaluar *in vivo* el efecto sobre la nodulación, semillas de soja, expuestas a las formulaciones seleccionadas serán transferidas a cultivo hidropónico conteniendo al simbionte Bd. Se analizarán las etapas tempranas del proceso de nodulación (deformación de pelos radicales, formación del hilo de infección). A los 14 y 21 días post-tratamiento se analizará la biomasa aérea y radicular, arquitectura de la raíz, número y peso de nódulos por planta y contenido de ureidos. Se cosechará material para análisis tisulares y estudios moleculares según OE4. Para realizar estas actividades, junto a la Dra. Kourdova trabajará el estudiante de Practicanato de Biotecnología de la FCQ, Nicolás Damián Haro, quien realizará su tesina de grado en el tema.

Objetivo Específico 2. Evaluar si las NEs, dado su contenido de RLs y AEs con actividad antimicrobiana, pueden actuar como agente desinfectante superficial de semillas (“curasemillas”) en poroto común (*Phaseolus vulgaris* L.) y soja (*Glycine max*).

Semillas de soja y de poroto, colectadas de campos contaminados, que llegan al servicio prestado en INTA-IPAVE de Clínica y Servicios Estratégicos, del cual participa como miembro la Dra Meneguzzi, serán expuestas a las formulaciones de NEs. Se evaluarán distintas concentraciones de RLs y de AEs, métodos de aplicación (inmersión/rociado) y tiempos de incubación con las NEs, determinando luego

de cada tratamiento la carga de microorganismos residual (post-tratamiento) mediante la germinación de las semillas *in vitro* en diferentes medios de cultivo de composición selectiva. Para realizar estas actividades, junto a la Dra. Kourdova trabajará el estudiante de Practicando de Biotecnología de la FCQ, Nicolas Damián Haro, quien realizará su tesina de grado en el tema. Colaborará en los ensayos la Dra. Fabro. De resultar alguno de los tratamientos efectivo como curasemilla se seguirá el desarrollo y medirán parámetros fisiológicos (fotosíntesis, producción de semillas, altura) de las plantas durante todo su ciclo de vida a los fines de evaluar posibles efectos adversos sobre el crecimiento

Objetivo Específico 3. Estudiar si las NEs tienen capacidad inductora de *priming* evaluando si el tratamiento de semillas afecta, en la planta adulta, al desarrollo de síntomas de enfermedades bacterianas causadas por *Xanthomonas* spp y *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*.

Primero, para determinar si molecularmente se establece la resistencia inducida de tipo *priming*, se analizará la capacidad del pre-tratamiento en semilla con las NEs de inducir la expresión de genes marcadores de defensa (genes biomarcadores) en el tejido foliar (hojas) que se desarrolle a partir de las semillas. Se utilizarán para los tratamientos aquellas concentraciones de NEs, modos y tiempos de aplicación determinados como los mas efectivos en el OE2, a los fines de investigar el posible establecimiento de *priming* luego de la inducción local de defensas debido a la aplicación de las NEs en semillas. Como control se utilizarán plantas cuyas semillas no fueron tratadas y aquellas tratadas con los diluyentes de la aplicación de las NEs. Luego, tejidos foliares de las plantas producidas por la semillas pre tratadas o no, que alcancen las fases de desarrollo V2-V3 serán muestreados, congelados en nitrógeno líquido y utilizados para extraer ARN y posteriormente realizar retro-transcripción a ADN copia y ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con primers (oligonucleótidos cebadores) extraídos de bibliografía especializada. En una segunda fase, se incorporarán muestras de tejidos foliares infectados con *Xanthomonas* spp y *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Estas infecciones se realizarán tanto sobre plantas pre-tratadas con NEs como sobre plantas pre-tratadas con los controles negativos del ensayo.

Adicionalmente al estudio anterior, plantas obtenidas a partir de semillas pre-tratadas o no (controles) con NEs serán sujetas a ensayos de infección con *Xanthomonas* spp (poroto) y *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (soja) y se evaluará el desarrollo de sintomatología relacionada a la enfermedad (lesiones causadas en hojas). Se evaluarán y cuantificarán (fotografiado y medición de áreas de lesión) los síntomas macroscópicos de la infección bacteriana a los fines de determinar si algún pre-tratamiento con NEs efectiva y significativamente disminuye los síntomas causados por la/s bacterias patógenas en alguna/s de las plantas estudiadas (soja, poroto). En muestras seleccionadas donde se observe variación a nivel de síntomas, a partir de tejidos infectados, se procederá a aislar las bacterias para su recuento en placa mediante curvas de crecimiento siguiendo protocolos estándar (11, 12).

RESULTADOS ESPERADOS

1. Se espera que las NEs de RLs + AEs afecten negativamente el crecimiento y/o capacidad infectiva de distintos organismos patógenos sobre las plantas. Dado que se conoce que los RLs *per se* presentan propiedades antimicrobianas frente a distintos patógenos, se teoriza una respuesta potenciada por los AEs, y de amplio espectro, permitiendo combatir múltiples enfermedades y ser extrapolable a diferentes cultivos. De esta manera, se trasladarían los resultados obtenidos en *A. thaliana* hacia el cultivo del poroto y el de soja.
2. Se espera que las NEs induzcan la expresión de marcadores de activación del sistema inmune de las plantas, provocando una respuesta de defensa sistémica en las mismas, pudiendo generar protección/resistencia tejido vegetal foliar incluso en tiempos posteriores al de la aplicación. Además, se especula la inducción de *priming*, prolongada en el tiempo, permitiría a los vegetales hacer frente de una manera más rápida y eficaz a las infecciones por las bacterias patógenas mencionadas en este proyecto.

3. Se espera que la aplicación de las NEs no tenga efectos perjudiciales sobre el crecimiento normal de las plantas ni tampoco interfieran con la sobrevivencia de distintos organismos benéficos, como los rizobios usados como bioinoculantes.

La realización de este proyecto es relevante para extender/trasladar los resultados obtenidos en laboratorio con un modelo de estudio (*A. thaliana*) hacia plantas de cultivo de interés agrícola (poroto y soja). Si los resultados son positivos, permitirá aportar una alternativa “verde” al mantenimiento de la sanidad vegetal en cultivos de interés agroindustrial.

CRONOGRAMA DE TRABAJO (1 AÑO).

Mes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OE1	x	x	x	x								
OE2				x	x	x	x	x	x	x	x	
OE3						x	x	x	x	x	x	x

PRESUPUESTO- COSTOS APROXIMADOS (USD/AR\$ a Mayo 2025) a cubrir con el FINANCIAMIENTO DISPONIBLE ACTUAL Y SUBSIDIOS FUTUROS A SOLICITAR.

Categorías x OE	Biol. Mol	Invernadero
OE1	Medios de cultivo AR\$ 50000.	
OE2	RLs, AEs, medios cultivo (AR\$ 200000).	Sustrato/macetas AR\$75000
OE3	Reactivos para extracción de ARNy RT-qPCR AR\$ 250000.	Sustrato/macetas AR\$75000

BIBLIOGRAFÍA

- Oerke, E.C. Crop losses to pests, J. Agric. Sci. 144 (2006) 31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>.
- Vega, . C.R.C. G. Salas, Bases para el manejo de cultivo de soja, in: H.E.J. Baigorri, L.R. Salado Navarro (Eds.), El Cultiv. Soja En Argentina, 1st ed., Agroeditorial, 2012: pp. 109–124. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/3062>.
- Reginatto, J. Análisis económico-financiero del poroto como alternativa en la rotación de cultivos para la zona norte de la provincia de Córdoba, 2018. moz-extension://9a90f197-d534-493b-8fcd-a5e9ac2c7481/enhanced-reader.html?openApp&pdf=http%3A%2F%2Fpa.bibdigital.uccor.edu.ar%2F1569%2F1%2FTM_Reginatto.pdf.
- Casalderrey, N.B. . Enfermedades del poroto (*Phaseolus vulgaris*) causadas por hongos y bacterias en el Noroeste argentino, 2018. <https://inta.gob.ar/documentos/enfermedades-del-poroto-phaseolus-vulgaris-causadas-por-hongos-y-bacterias-en-el-noroeste-argentino-0>.
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) & Instituto Nacional de Semillas (INASE). (2023). Calidad fisiológica y sanitaria de semillas de soja: campaña 2022/2023. INTA - Estación Experimental Agropecuaria Pergamino
- Jesica P. Sotelo, María F. Paletti Rovey, María E. Carezzano, Melina V. Moliva, María de las M. Oliva, Characterization of *Pseudomonas syringae* strains associated with soybean bacterial blight and in vitro inhibitory effect of oregano and thyme essential oils, Physiological and Molecular Plant Pathology, Volume 128, 2023, 102133, <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102133>.

7. Chen, N.W.G. et al. (2021) 'Common bacterial blight of bean: a model of seed transmission and pathological convergence', *Molecular Plant Pathology*, 22(12), p. 1464. doi:10.1111/MPP.13067.
8. Arnold, D.L. et al. (2011) 'Pseudomonas syringae pv. phaseolicola: from "has bean" to supermodel', *Molecular Plant Pathology*, 12(7), pp. 617–627. doi:10.1111/J.1364-3703.2010.00697.X.
9. Zhang, S. et al. (2017) 'Assessment of copper resistance in Pseudomonas syringae pv. phaseolicola, the pathogen of halo blight on snap bean', *Crop Protection*, 98, pp. 8–15. doi:10.1016/J.CROPRO.2017.03.009.
10. Del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.
- Del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). *Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud*. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.
11. Mottola, M. , M.C. Bertolino, L.T. Kourdova, J. Valdivia Pérez, Aye, M.F. Bogino, N.E. Nocelli, L. Chaveriat, P. Martin, R.V. Vico, G. Fabro, M.L. Fanani, Nanoemulsions of synthetic rhamnolipids act as plant resistance inducers without damaging plant tissues or affecting soil microbiota, *Front. Plant Sci.* 14 (2023). <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1195718>.
12. Kourdova, L.T. □ Mottola, M. □ Peppino Margutti, M.; Bogino, M.F.; Maritano, P.; Vico, R.V.; Blanco-Herrera, F.; Fanani, M.L. (*); Fabro, G (*). Rhamnolipid-Stabilized Essential Oils Nanoemulsions: Sustainable Biopesticides and Biostimulants with Potential for Crop Protection. *Agronomy* 2025, 15, 824. <https://doi.org/10.3390/agronomy15040824>.
13. Ramírez-Carrasco, G.; K. Martínez-Aguilar, R. Alvarez-Venegas, Transgenerational Defense Priming for Crop Protection against Plant Pathogens: A Hypothesis, *Front. Plant Sci.* 8 (2017). <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.00696>.
14. Martínez-Aguilar, K.; G. Ramírez-Carrasco, J.L. Hernández-Chávez, A. Barraza, R. Alvarez-Venegas, Use of BABA and INA As Activators of a Primed State in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Front. Plant Sci.* 7 (2016). <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.00653>.
15. Crouzet, J., A. Arguelles-Arias, S. Dhondt-Cordelier, S. Cordelier, J. Pršić, G. Hoff, F. Mazeyrat-Gourbeyre, F. Baillieul, C. Clément, M. Ongena, S. Dorey, Biosurfactants in Plant Protection Against Diseases: Rhamnolipids and Lipopeptides Case Study, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8 (2020) 1014. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.01014>.
16. Sanchez, L., B. Courteaux, J. Hubert, S. Kauffmann, J.H. Renault, C. Clément, F. Baillieul, S. Dorey, Rhamnolipids elicit defense responses and induce disease resistance against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic pathogens that require different signaling pathways in Arabidopsis and highlight a central role for salicylic acid, *Plant Physiol.* 160 (2012) 1630–1641. <https://doi.org/10.1104/PP.112.201913>.
17. Vatsa, P., L. Sanchez, C. Clement, F. Baillieul, S. Dorey, Rhamnolipid Biosurfactants as New Players in Animal and Plant Defense against Microbes, *Int. J. Mol. Sci.* 2010, Vol. 11, Pages 5095-5108 11 (2010) 5095–5108. <https://doi.org/10.3390/IJMS11125095>.
18. Chen, J., Q. Wu, Y. Hua, J. Chen, H. Zhang, H. Wang, Potential applications of biosurfactant rhamnolipids in agriculture and biomedicine, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101 (2017) 8309–8319. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00253-017-8554-4>.
19. Randhawa, K.K.S. and P.K.S.M. Rahman, Rhamnolipid biosurfactants-past, present, and future scenario of global market, *Front. Microbiol.* 5 (2014) 454. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00454>.
20. Kourdova LT, Haro N, Meneguzzi N, and Fabro G. BIOPROTECTIVE POTENTIAL OF RHAMNOLIPID NANOEMULSIONS CONTAINING ESSENTIAL OILS AGAINST PATHOGENIC MICROORGANISMS AFFECTING CROPS OF AGRO-INDUSTRIAL INTEREST. LX Annual Meeting of the Argentinean Society for Biochemistry and Molecular Biology Research. Córdoba, Argentina. 5-8th November 2024. International scientific meeting.
21. Nocelli, N.; Bogino, P. C.; Banchio, E.; Giordano, W. Roles of Extracellular Polysaccharides and Biofilm Formation in Heavy Metal Resistance of Rhizobia. *Materials (Basel)*. 2016, 9 (6).
22. Cambiagno, D. A.; Lonz, C.; Ruysschaert, J. M.; Alvarez, M. E. The Synthetic Cationic Lipid diC14 Activates a Sector of the Arabidopsis Defence Network Requiring Endogenous Signalling Components.

Mol. Plant Pathol. 2015, 16 (9), 963–972.

23. Andreola, S. ., M. Rodriguez, R. Parola, S. Alemano, R. Lascano, Interactions between soybean, *Bradyrhizobium japonicum* and Soybean mosaic virus: the effects depend on the interaction sequence, *Funct. Plant Biol.* 46 (2019) 1036–1048. <https://doi.org/10.1071/FP17361>.

ANEXO II

CONVENIO DE COOPERACIÓN CIENTÍFICA ENTRE EL INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Aportes INTA

Recursos humanos	\$ 5000000 (Salario Dra. Meneguzzi)
Insumos	\$ 150000
Total:	\$ 5150000
Equipamiento	Campana de flujo laminar, autoclave, agitador orbital, incubadoras/estufas de placas, centrifugas, balanzas de precisión.
Infraestructura	Invernaderos con condiciones controladas. Mesadas de laboratorio equipadas para estudios microbiológicos.

Los fondos provienen del siguiente finamientos: Fundación ArgenINTA, fondos administrados por la Dra. Meneguzzi.

Aportes Contraparte FCQ

Recursos humanos	\$5000000 (salarios Dra. Fabro, Dra. Fanani, Dra. Kourdova)
Insumos	\$500000
Total:	\$5500000
Equipamiento	Campanas de flujo laminar, campanas de extracción, autoclaves, estufas de cultivo, incubadoras de plantas, cuartos de crecimiento de plantas con iluminación LED y control de temperatura, agitadores orbitales, termocicladores de PCR en tiempo real, lupas, microscopios ópticos y de fluorescencia, Sonificadores, agitadores magnéticos, Tamañómetro, Potencial Z.
Infraestructura	Laboratorio de microbiología, salas de equipamiento de uso común, bioterios de plantas con control de luz y temperatura.

Los fondos provienen del siguiente finamiento.

- PICT-2019-02331 otorgado a la Dra. Fanani, del cual la Dra. Fabro forma parte del grupo colaborador (FCQ-UNC) (prorrogado).
- PICT-2020-0763 otorgado a la Dra. Fabro.
- Subsidio SECyT FORMAR 2023-2024 (en curso), otorgado a la Dra. Fabro.

ANEXO III

CONVENIO DE COOPERACIÓN CIENTÍFICA ENTRE EL INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

PERSONAL PARTICIPANTE

POR "EL INTA"

Nombre y Apellido	Legajo	Función (Coordinador o Participante)	Unidad	Dedicación (días/año)	E-mail
Dra. Natalia Meneguzzi	20620	Coordinadora y participante	IPAVE	60	meneguzzi.natalia@inta.gob.ar

POR "FCQ"

Nombre y Apellido	DNI	Función (Coordinador o Participante)	Dedicación (días/año)	E-mail
Dra. Georgina Fabro	25861356	Coordinadora y participante	60	georgina.fabro@unc.edu.ar
Dra. M. Laura Fanani	23195090	Coordinadora	10	lfanani@unc.edu.ar
Dra. Lucille T. Kourdova	19061427	Participante	60	lukourdova@unc.edu.ar
Estud. Biotec. Nicolás Haro	43693783	Participante	30	nicolas.haro@mi.unc.edu.ar



Universidad Nacional de Córdoba
2025

**Hoja Adicional de Firmas
Informe Gráfico**

Número:

Referencia: Convenio de Cooperación Científica INTA-FCQ UNC

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 14 pagina/s.