

85420240100114LI

Plan de Gestión de Datos

INFORMACION SOBRE EL PROYECTO
1. – Título del Proyecto
- Título del Proyecto (en castellano)
Generación de Tecnologías Innovadoras para la producción sostenible de Plantines hortícolas, plantas nativas de interés paisajístico y aromáticas 85420240100114LI
- Título del Proyecto (en inglés)
Generation of Innovative Technologies for the sustainable production of horticultural seedlings, native plants of landscape interest and aromatics.
-Descripción del Proyecto (en castellano) Resumen
<p>La propagación involucra la aplicación de principios y conceptos biológicos enfocados a la multiplicación de plantas útiles preservando su información genética. Las condiciones ambientales durante el periodo de producción de los plantines de especies hortícolas, ornamentales y aromáticas, resultan determinantes en su comportamiento post trasplante, ya que en algunas especies las condiciones de temperaturas y fotoperíodo recibidas en las fases iniciales de producción, tienen marcada influencia en los períodos postproducción. En la región centro de Santa Fe, es posible obtener una cosecha de calidad, utilizando una combinación de híbridos, de marzo a octubre. Es posible continuar produciendo con cultivares tempranos, sin embargo, estos tienen un periodo juvenil corto y aunque no necesitan vernalización, las temperaturas primaverales provocan la aceleración de la inducción y crecimiento de la pella, con poco desarrollo foliar, que se traduce en pellas de menos de 9 cm de diámetro, sin valor comercial. Con motivo de superar esta limitación, se pretende evaluar la producción de plantines de genotipos de coliflor de ciclo corto, en período primaveral, combinado con el manejo de la temperatura de sustrato, para evitar el aceleramiento de la inducción de la pella por las temperaturas primaverales menores a 20° C, y de esa forma, mantener por mayor tiempo las plantas en estado vegetativo, para evitar el aceleramiento de la inducción de la pella, y lograr mayor calidad de producción. Siguiendo con las estrategias de multiplicación, estas se aplicarán en especies vegetales nativas promisorias para su incorporación a cultivo, como ornamentales y aromáticas/medicinales. Para utilizar especies nativas con fines ornamentales o como base para la extracción de aceites esenciales, deben estudiarse estrategias de multiplicación y se debe contar con plantas madres que provean los propágulos (semillas u órganos vegetativos) para su multiplicación. De esta manera, se contribuirá a la conservación de especies nativas valiosas, cuyas poblaciones se encuentran amenazadas, debido a que en Argentina no se conserva su germoplasma. La información que se genere tendrá un impacto científico, social y productivo, ya que permitirá el desarrollo de conocimientos originales en cuanto a la adaptación de sistemas de reproducción adecuados para estas especies, además de nuevas oportunidades de mercado.</p>
-Descripción del Proyecto (en inglés) Resumen

Propagation involves the application of biological principles and concepts focused on the multiplication of useful plants while preserving their genetic information. The environmental conditions during the production period of seedlings of horticultural, ornamental and aromatic species are determining factors in their post-transplant behavior, since in some species the temperature and photoperiod conditions received in the initial phases of production have a marked influence on post-production periods. In the central region of Santa Fe, it is possible to obtain a quality harvest, using a combination of hybrids, from March to October. It is possible to continue producing with early cultivars, however, these have a short juvenile period and although they do not need vernalization, spring temperatures cause acceleration of induction and growth of the pellet, with little leaf development, which translates into smaller pellets. 9 cm in diameter, without commercial value. In order to overcome this limitation, it is intended to evaluate the production of seedlings of short-cycle cauliflower genotypes, in the spring period, combined with the management of the substrate temperature, to avoid the acceleration of the induction of the pellet due to spring temperatures. less than 20° C, and in this way, keep the plants in a vegetative state for a longer time, to avoid the acceleration of pellet induction, and achieve higher production quality. Continuing with the multiplication strategies, these will be applied to promising native plant species for incorporation into cultivation, such as ornamental and aromatic/medicinal. To use native species for ornamental purposes or as a base for the extraction of essential oils, multiplication strategies must be studied and mother plants must be available to provide the propagules (seeds or vegetative organs) for their multiplication. In this way, we will contribute to the conservation of valuable native species, whose populations are threatened, because their germplasm is not conserved in Argentina. The information generated will have a scientific, social and productive impact, since it will allow the development of original knowledge regarding the adaptation of suitable reproduction systems for these species, in addition to new market opportunities.

-Palabras Clave descriptivas del Proyecto (en castellano)

Plantines hortícolas Plantas nativas Plantas Aromáticas

- Palabras Clave descriptivas del Proyecto (en inglés)

Horticultural seedlings - Native plants
Aromatics plants

2 – Datos del Director/ar del Proyecto

- Nombre y Apellido

Marcela Alejandra Buyatti

- Unidad Académica

Facultad de Ciencias Agrarias - UNL

- Teléfono oficial de contacto

3496 426400 int 371

-Teléfono móvil de contacto

3496 466635

-E-mail del Director/a del Proyecto

mbuyatti@fca.unl.edu.ar

DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

-Describe la toma de muestras / datos a realizar

1. METODOLOGÍA

1.1 - Plan de actividades:

El tiempo previsto para la ejecución del proyecto es de 36 meses. Durante este período se realizará revisión bibliográfica permanente a través de la biblioteca electrónica de la SECYT, en la cual hay bases de datos como CAB, Agrícola, Scopus, etc.

La recolección de datos climáticos será realizada por estaciones meteorológicas automatizadas, ubicadas dentro de la plantinera y en el módulo de producción de nativas del Campo experimental de Cultivos Intensivos y Forestales (CECIF – FCA).

1.1.1 Cultivos Hortícolas: Coliflor - Apio

Localización del experimento: Los ensayos se llevarán a cabo en las instalaciones del CECIF (Campo Experimental de Cultivos Intensivos y Forestales) y en las instalaciones del ICIAgro Litoral (UNL-CONICET) ubicados en la ciudad de Esperanza. Tendrán una etapa de plantin (siembra-trasplante) bajo invernadero experimental de una altura total de 5 m y un ancho de nave de 6 m, cubierto con plástico LDT (Larga duración térmica) de 150 micrones de espesor, apertura de ventanas del techo y laterales en forma manual, con una orientación norte-sur, y otra etapa a campo desde el trasplante en maceta a cosecha.

Material vegetal y condiciones de cultivo: Para la siembra se utilizarán dos genotipos de apio (*Apium Graveolens* L., cvs. Tall UTA 52-70 y Golden Spartany) y dos de coliflor (*Brassica oleracea* var. Botrytis L., híbridos T-200 y LD964290) las cuales serán sembradas en bandejas de poliestireno expandido, con un volumen de 20 cm³ y sustrato comercial compuesto de turba, perlita y vermiculita. La siembra de apio se realizará en el mes de mayo mientras que la de coliflor en julio, y se colocarán bajo con un régimen térmico día-noche de 21/15 °C (Duan et al., 2019; Brar et al., 2020) y 26/15 °C, respectivamente (Wang et al., 2012).

La etapa siembra-trasplante se desarrollará en invernadero, mientras que el desarrollo del cultivo desde trasplante a cosecha se realizará a campo, para ello se seleccionarán plantas por uniformidad de tamaño y se trasplantarán a macetas sopladas de 10 L rellenas con sustrato compuesto por tierra:perlita:vermiculita (3:1:2) (Simarmata et al., 2016). Las plantas serán colocadas con un espaciamiento de 0,6 m X 0,7 m, obteniendo una densidad de plantas de 2 plantas m⁻².

Tratamientos y diseño experimental: Los tratamientos se aplicarán de igual manera para cada especie (apio y coliflor) y para cada uno de los materiales genéticos correspondientes a ellas.

T1: Sistema flotante a alta temperatura: Consiste en ubicar las bandejas con los plantines en un sistema flotante bajo invernadero con agua a temperatura entre 20 y 22 °C. El tratamiento con agua calentada se iniciará cuando el plantín esté comenzando a superar el periodo juvenil, emisión de la 3^o y la 5^o hoja para apio y coliflor, respectivamente, y por un periodo de 45 días. La calefacción del agua en el sistema flotante se realizará con un calentador de peceras electrónico sumergible. T2: Sistema flotante con agua a temperatura ambiente: Similar al anterior, pero con agua a temperatura ambiente. T0: Sistema convencional (sin sistema flotante): Las bandejas se mantendrán bajo invernadero hasta el trasplante.

Se registrará la temperatura del aire cada 60 min con un Data Logger digital miniatura marca iButton, modelo Thermochron durante todo el periodo del cultivo, y la del sustrato y agua con un

termómetro de mercurio tres veces por semana a las 8, 12 y 20 hs durante el periodo de tratamiento.

El diseño experimental consistirá en bloques completos al azar comprendiendo cada bloque una unidad de bandeja multicelda de siembra con tres repeticiones por tratamiento.

Evaluaciones a realizar

Actividad 1: actualización de la bibliografía (revisión bibliográfica).

Actividad 2: Registro de parámetros morfológicos: en ambos cultivos, desde el inicio de los tratamientos en la plantinera hasta la cosecha en el campo.

- Altura de la planta. Se realizará durante todo el ciclo del cultivo con una periodicidad de 15 días. La medición se realizará al azar en un total de 21 plantas dentro de cada tratamiento, y se medirá el plantín desde la base del tallo hasta la parte apical extendiendo la hoja en posición vertical.
- Peso fresco de raíz (g) y parte aérea (g). Para determinar el peso fresco, se tomarán muestras al azar de 4 plantas por tratamiento y repetición con una periodicidad de 20 días desde el inicio del trasplante. La parte aérea será separada de la parte radical con un bisturí. Las raíces limpias se secarán con papel absorbente y se registrará el peso con una balanza Scientech de ± 1 mg de precisión. También se tomará el peso de la parte aérea, conformada por hojas y tallos, según el estadio de la planta. La última medición de esta variable coincidirá con el momento de cosecha.
- Área foliar (cm²): El área foliar se determinará mediante un medidor electrónico de área foliar LI-COR modelo LI-3100 (Lincoln, Nebraska) según la metodología propuesta por Helaly et al. (2014). Se utilizarán las hojas de las plantas sobre las que se determinó el peso fresco.
- Peso seco de raíz (g) y parte aérea (g). A las muestras del punto anterior se las colocará en una estufa con circulación de aire a 65 °C hasta lograr un peso constante, obteniéndose el peso de materia seca.
- Número de hojas: Se tomará el registro del número de hojas por observación directa con una periodicidad de 15 días, registrándose aquellas cuya longitud fuera superior a 1 cm. La última observación de esta variable coincidirá con el momento de cosecha.

Actividad 3: Evaluación de parámetros fisiológicos:

- Estado nutricional: Las muestras de tejidos vegetales se tomarán durante el período de cosecha (septiembre-noviembre) sobre hojas desarrolladas, y se recolectarán tres muestras por tratamiento. Se almacenarán las hojas en una conservadora con hielo, a la que se le agregará N líquido. Las muestras se llevarán inmediatamente al laboratorio para almacenarlas en freezer a -40°C. Posteriormente, se secarán utilizando un liofilizador TAITTEC VD-400F. Luego se procederá a su trituración con molinillo.
- Análisis de carbohidratos (glucosa, fructosa, sacarosa y almidón): para la extracción de azúcares solubles de las hojas trituradas se utilizará la metodología de extracción en etanol (Kerepesi et al., 1996) y para la cuantificación el método de Fenol-Sulfúrico (Dubois et al., 1956; Hall, 2013). Finalmente, se realizarán las lecturas en espectrofotómetro HITACHI a una absorbancia de 490 nm. Los resultados serán expresados como mg de glucosa g⁻¹ de peso fresco de tejido.
- Almidón: Para determinar almidón se procederá a utilizar el residuo de la materia seca de la alícuota correspondiente a la extracción en etanol, la cual se hará reaccionar con

ácido sulfúrico diluido (0,005 N), según la metodología propuesta por Chou et al. (2006).

Actividad 4: Registro de fecha de floración y cosecha, rendimiento y parámetros calidad comercial obtenida a partir de los tratamientos aplicados en cada especie evaluada. Serán registradas durante el desarrollo del cultivo a campo desde el momento de trasplante a cosecha, según corresponda cada caso.

- Momento de floración (días): Se cuantificará la cantidad de días necesarios para alcanzar el momento en que el 50% de las plantas iniciaron la formación de las estructuras florales. Para esta medición se tomarán 6 muestras de cada tratamiento con un intervalo de 20 días y se observará si el ápice de crecimiento presenta inducción a floración.
- Cosecha (días): serán establecidos como la cantidad de días necesarios para alcanzar el momento en que el 50% de las plantas se encuentran aptas para cosecha. Por lo general, se realiza una evaluación visual (Andujar et al., 2016; Bruznican et al. 2020).
- Rendimiento: Se determinará al momento de la madurez comercial de cada especie y en cada una de las unidades experimentales. Se expresarán en Kg ha⁻¹.
- Parámetros de calidad comercial a cosecha

Coliflor (Washintong, 2013; Costa et al., 2020)

De cada una de las unidades experimentales se tomarán seis plantas al azar de cada tratamiento.

Diámetro de pella (cm): Este parámetro se medirá mediante la utilización de un calibre digital.

Grado de compactación de la pella (GC): Se determinará utilizando la siguiente fórmula expresando su grado de compactación en g cm⁻¹.

$$GC = \text{Peso pella} / \text{Diámetro de la pella}$$

Altura de la inflorescencia (IH): se medirá con cinta métrica.

Apio:

Presencia de escapo floral: Se determinará su presencia o ausencia en forma visual según lo propuesto por Isnainun y Tini (2021) sobre 6 plantas seleccionadas al azar por tratamiento.

Longitud del escapo floral (cm): Se realizará un corte longitudinal a la planta y se medirá su longitud con una cinta métrica.

Actividad 5:

Análisis estadístico: A las variables observadas en cada una de las especies, se aplicará el ANOVA teniendo en cuenta el efecto de los tratamientos y el material genético y su interacción. Se verificarán los supuestos del ANOVA, y en caso de ser necesario se aplicarán los ajustes correspondientes. Cuando la variable se registre en el tiempo se analizará como modelos lineales generales. Se tendrán en cuenta los factores aleatorios de bloque y planta, y para las diferencias de las medias se aplicará el test DGC al 5% de significancia. Para esto se utilizará el programa estadístico InfoStat vinculado al programa R (Di Reinzo et al., 2020)

1.1.2. Producción agámica de plantas nativas de interés paisajístico.

Características de las plantas en estudio

Las plantas fueron seleccionadas por su valor paisajístico, ya que, al ser arbustivas, pueden ser usadas como cercos vivos, así como complemento en el diseño de espacios verdes públicos y privados, dada su adaptación a condiciones climáticas extremas, típicas de la ecoregión del

Espinal. Al ser rústicas requieren menos cuidados y tienen más posibilidades de sobrevivir sin la ayuda de riego y cuidados especiales; ayudando a aumentar y conservar la biodiversidad.

Cyclolepis genistoides Gillies ex D. Don

Esta especie pertenece a la familia de las asteráceas. Es un arbusto perenne de 1 a 2,5 metros de altura, se distribuye por la zona central de Argentina hasta Paraguay; en la provincia crece en suelos salitrosos del extremo sudoeste bonaerense en la Ecorregión del Espinal (Scarpa, 2012; Flora Argentina, 2022)

Tallo estriado, de color verde-grisáceo. Ramas rígidas perpendiculares al tallo.

Se caracterizan por presentar las flores agrupadas en capítulos, inflorescencia que funcionalmente se comporta como una flor. Hojas sin estípulas, generalmente alternas, en ocasiones en roseta basal; pueden presentar espinas.

Fruto tipo aquenio o cipsela. Puede presentar en su extremo superior vilano, en ocasiones sobre una prolongación estrecha o pico.

Lycium boerhaviaefolium L.

Arbustos polimorfos, erectos, de 1 a 4 m de alto, con tallos ramificados, espinas caulinares. Pertenece a la familia solanácea las cuales son plantas herbáceas, árboles y arbustos. Hojas simples, alternas y sin estípulas, gruesas, planas; láminas obovado-circulares u ovadas, Flores 5-meras, solitarias, 2-3 por braquiblasto, o en inflorescencias tirsoideas hasta de 12 flores. Corola levemente zigomorfa.

Maytenus vitis-idaea Griseb.

Pertenece a la familia de la Celastraceae, son arbustos, o árboles pequeños, monoico, siempreverde, 5 m de altura, ramas gruesas. Hojas alternas, pecíolo de 2-6 mm de largo, láminas elíptico-lanceoladas de 2-6 x 1,5-3 cm, gruesas y coriáceas, ápice y base atenuadas, bordes irregularmente aserrados. Estípulas rojizas, caedizas. Flores hermafroditas o unisexuales, en grupos de 2-3 en las axilas; 5-sépalos de 1 mm de largo; 5-pétalos vinosos de 2-3,5 mm, ovario reducido en flores masculinas con 5 estambres; en femeninas, el ovario ovoide termina en un estilo corto y éste a su vez, en un estigma plano bilobulado. Fruto cápsula de 6-8 x 5 mm, 2 valvas que contienen 1 a 2 semillas.

Actividad 1: actualización de la bibliografía (revisión bibliográfica).

Actividad 2:

Las plantas serán seleccionadas y georreferenciadas en diferentes ambientes de su distribución geográfica en la provincia de Santa Fe (PRODOCOVA).

Se recolectará material fresco de cada especie vegetal, con sus correspondientes datos identificatorios: número de registro, fecha, datos geográficos (GPS), condiciones climáticas, suelo y número de ejemplares obtenidos. Un ejemplar de cada especie quedará depositado en el Herbario “Arturo E. Ragonese” de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNL.

Actividad 3: REPRODUCCIÓN AGÁMICA

Los ensayos se llevarán a cabo en las instalaciones de la FCA – UNL, en invernaderos, en los cuales se dispondrá de una cama de enraizamiento calefaccionada, utilizando como base para el enraizamiento un sustrato comercial Grow Mix® – Sustrato Profesional.

En cuanto a la obtención de parámetros y procesamiento de datos se realizará en el Laboratorio de Cultivos Intensivos, Pabellón de Producción Vegetal

Con dichas estacas se evaluará:

- Necesidad del uso de reguladores comerciales de crecimiento (auxinas) para el enraizamiento
- Determinar el tipo de auxina a utilizar en la propagación vegetativa: ANA (Ácido Naftalen Acético) e IBA (Ácido Indol Butírico) y las concentraciones más apropiadas de para el enraizamiento de estaquillas.
- Determinar la capacidad de enraizamiento de las estaquillas en diferentes estaciones del año.

Los ensayos se realizarán en por lo menos tres épocas del año (Otoño – Invierno – Primavera), bajo un diseño completamente al azar.

Las evaluaciones se realizarán a los 90 días de establecido el ensayo. Se evaluarán las siguientes variables:

- Número de estaquillas enraizadas, calculada en base al número de plantas con raíz superior a 2 mm.
- Número de raíces por estaquilla, determinado por recuento de raíces visibles mayores a 2 mm;
- Longitud de raíz (cm), por medición directa con calibre de la longitud de la raíz más larga de cada estaquilla;
- Número de ápices radiculares
- Diámetro medio de raíces (mm)

Actividad 4: Análisis Estadístico

Se recolectarán 15 estacas de cada una de las especies a estudiar. En el caso especial de la especie *Cyclolepis genistoides* Gillies ex D. Don, se tomarán 15 estacas por cada pie, masculino y femenino. Las mismas serán asignadas al azar a los tratamientos. Cada estaca será la unidad experimental y en ella se registra el valor 0 cuando no forme raíz y valor 1 cuando forme raíz. Los datos de la primera variable se analizarán con Regresión Logística, mientras que los datos del resto de las variables se analizarán con Regresión Múltiple. Las diferencias de medias se evaluarán a través del test LSD de Fisher ($p < 0.05$). Para todos los casos se utilizará el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2020).

Los datos de capacidad de enraizamiento se analizarán mediante REGRESIÓN LOGÍSTICA, donde se evalúa la relación entre el diámetro de cada estaca y probabilidad de enraizamiento introduciendo este término como covariable en el análisis antes mencionado. Los resultados obtenidos serán analizados mediante análisis de la variancia y las medias de cada tratamiento comparadas utilizando el test de Tukey al nivel de 5% de probabilidad, mediante la utilización del software estadístico InfoStat.

1.1.3. Evaluación de plantas Aromáticas

Actividad 1: actualización de la bibliografía (revisión bibliográfica).

Actividad 2:

Para el cumplimiento del objetivo específico “Determinar la producción de biomasa y la partición de asimilados en las plantas de tres variedades de *O. basilicum* L. cultivadas a campo”, se conducirán un ciclo de ensayo. Se obtendrán plantas de *O. basilicum* de las tres variedades a partir de la siembra de sus semillas en bandejas de germinación de 40 cm³ de capacidad de alvéolos individuales, rellenas con una mezcla de turba y perlita en partes iguales (v:v).

Durante todo el periodo de ensayos, se dispondrá de una estación meteorológica automática, con sensores colocados a 1,5 m desde el nivel del suelo. Esta información permitirá una adecuada caracterización del ambiente de cultivo. Se aplicará riego por goteo y fertirrigación. Cuando las plantas hayan desarrollado entre 3 y 4 hojas, se trasplantarán.

Se evaluarán las variables semanalmente durante el desarrollo de las plantas.

Longitud del tallo: consistirá en medirlo desde la base del tallo hasta la parte apical, utilizando para ello una regla convencional metálica, graduada en milímetros, expresando esta variable en centímetros.

También durante el desarrollo de las plantas se registrará número de nudos, número de ramas y número de inflorescencias.

Se estimará el incremento de área foliar mediante la utilización de una relación alométrica obtenida luego de la relación entre dimensiones lineales de sus hojas y el área foliar medida con un scanner LICOR LI-3000.

Al concluir el periodo de evaluación experimental, las plantas se trasladarán al laboratorio donde se procederá a separar raíz, tallo y hojas para las determinaciones:

Longitud de raíz: las raíces se lavarán con agua potable y posteriormente con agua destilada. Una vez que se eliminó el exceso de agua, se colocan en papel y después de esto, se medirá la longitud de raíz, utilizando para ello una regla graduada. Las medidas se tomarán desde la base del tallo donde inician los pelos radicales hasta donde termina la raíz principal, expresando la longitud en centímetros.

Área foliar: se determinará en un equipo integrador de área foliar (Li-Cor®, modelo LI-3000A).

Biomasa fresca y seca de parte aérea (tallos + hojas) y de raíz: se dividirá cada planta en tallos y hojas; se pesará cada una por separado, utilizando para ello una balanza analítica. Posteriormente se sumarán los pesos obtenidos, que se expresarán en gramos de materia vegetal fresca. Una vez obtenido el peso fresco de las raíces y parte aérea, éstas se colocarán en bolsas de papel y se dispondrán en una estufa de secado a temperatura de 70 ° C hasta obtener su deshidratación completa. Posteriormente se pesarán en balanza analítica, expresando el peso en gramos de materia vegetal seca.

Actividad 3:

Para el cumplimiento del objetivo específico “Obtener aceites esenciales de las variedades seleccionadas de *O. basilicum* L. y caracterizarlos químicamente” la recolección del material vegetal (partes aéreas) se llevará a cabo durante los meses de diciembre y enero. Se limpiará y acondicionará el material vegetal para que se encuentre libre de insectos y de otras especies vegetales contaminantes. Las partes aéreas correspondientes a cada variedad de albahaca serán colocadas en un destilador tipo Clevenger que funciona por arrastre con vapor de agua. Previamente se pesará el material vegetal para calcular el rendimiento de los aceites esenciales obtenidos, el cual se expresará en mL por cada 100 g de material fresco. Los aceites esenciales serán analizados con un cromatógrafo gaseoso Agilent modelo 7890B acoplado a un espectrómetro de masas Agilent modelo 5977, columna: HP-5MS UI (30 m x 0,25 mm con 0,25 µm de film). Las condiciones de corrida serán las siguientes: Inyector 250 °C; temperatura de la columna: 160 °C mantenido por 3 min llevado a 5 °C/min hasta 30 °C; tiempo de corrida: 31 min. Espectrómetro de Masas: full SCAN: 50-400, volumen de inyección: 1 µl- Split: 1:20. Para identificar los principales componentes, se compararán los espectros de masas de los picos más abundantes con la base de datos que dispone el equipo [Biblioteca de Espectros de Masas del NIST (The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library versión 2.0 build 19 de noviembre de 2000)].

Actividad 4:

Para el cumplimiento del objetivo específico “Aislar y caracterizar morfológica y molecularmente las cepas fúngicas de *P. digitatum*” se realizarán aislamientos a partir de material vegetal que muestre síntomas de la enfermedad causada por el hongo, hasta obtener cultivos monospóricos que serán caracterizados morfológicamente y depositados en el Centro de Referencia de Micología (CEREMIC-UNR) y en la colección de fitopatógenos del grupo de Producción y Protección Vegetal del ICiAgro Litoral (UNL-FCA-CONICET). La identificación molecular del patógeno se realizará en base al análisis estandarizado de fragmentos de ADN cortos “DNA barcoding” (Hebert et al. 2003) por amplificación por PCR de la región ITS (del inglés “internal transcribed spacer”) del ADN nuclear ribosomal (rDNA) (Schoch et al. 2012), complementados con la secuenciación parcial de otros genes recomendados por la bibliografía, de acuerdo al patógeno a identificar.

Actividad 5:

“Evaluar la capacidad antifúngica “in vitro” de los tres quimiotipos de aceites esenciales obtenidos de albahaca frente a la especie de hongo fitopatógeno aislado”, las suspensiones de conidios serán obtenidas de acuerdo con los lineamientos del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017), ajustadas a 104 UFC mL⁻¹ (Unidades Formadoras de Colonias por mL) mediante recuento en cámara de Neubauer y los inóculos así preparados se conservarán en viales a 4 °C hasta el momento de realizar los bioensayos tanto in vitro. Placas de Petri de vidrio de 6 cm de diámetro se cubrirán con 10 mL de medio APD previamente fundido. Una vez solidificado el mismo, se colocarán en el centro de la placa, 10 µL de inóculo fúngico de concentración entre 104 y 105 UFC/mL. Luego de evaporada el agua de la solución de conidios, en el centro de la tapa de la placa de Petri se depositarán 15 µL de aceite esencial o agua (experimento control). Dicha cantidad de aceite esencial corresponde a una concentración de 1000 ppm calculada según las dimensiones de las placas de Petri. Las placas así preparadas serán incubadas de forma invertida, de manera que el aceite esencial que se evapora, entre en contacto con el medio de cultivo donde el hongo se está desarrollando. Una vez que el micelio de las placas control haya cubierto por completo la superficie del medio (entre 5 y 7 días), se realizarán las medidas del área del micelio desarrollado en cada placa tratada con cada aceite esencial, a través del escaneo de las mismas para su posterior lectura y análisis con el software ImageJ®. Los ensayos se realizarán por triplicado, de manera que se obtendrá un valor promedio de los diámetros de crecimiento fúngico que se expresarán en porcentaje respecto al 100% de crecimiento de los experimentos control.

Actividad 6: Análisis Estadístico

A las variables estudiadas se le aplicará el ANOVA y se verificarán los supuestos del ANOVA. Se realizará análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias (Tukey HSD, $p \leq 0.05$), mediante el programa estadístico Infostat (Di Rienzo et al., 2020).

– Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad / ser de acceso público? (marque X)

NO (X)

SI. Elija una de las opciones:

se encuentra en evaluación de protección por medio de patentes

	<p>no se inició el proceso de evaluación de patentabilidad, pero podría ser protegible existe un contrato con un tercero que impide la divulgación Otro. Justifique.</p>
<p>– Período de Confidencialidad: Es el periodo durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El periodo máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad / serán de acceso público.</p> <p>Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios. Marque su opción con “X”.</p>	
<input type="checkbox"/>	1 (UN) año
<input type="checkbox"/>	2 (DOS) años
<input type="checkbox"/>	3 (TRES) años
<input type="checkbox"/>	4 (CUATRO) año
<input type="checkbox"/>	5 (CINCO) años
<input type="checkbox"/>	Otro.
Motivos: ninguno	