

pesticidas Fenitrothion (F), Glyphosate (Gly) and Trifloxystrobin (TFS).

In the direct predation test, the treatment where predator and prey were not exposed to pesticides (A-R-) exhibited the highest predation rates, while the treatment where predator and prey were simultaneously exposed to pesticides (A+R+) presented the lowest predation rates. These results indicate that predator-prey was biased in favor of the amphibians larvae exposed to pesticides since they were significantly less predated by the eels. The ethological responses were altered in tadpoles exposed to the pesticides, being the reduction of swimming activity and breath-

ing the most frequent responses observed in pesticide-exposed tadpoles. The metabolic responses were altered in their normal levels by the exposition to F, Gly and TFS, being BChE more sensitive as biomarker than AChE when exposed to pesticides.

In conclusion, this study demonstrated that pesticides F, Gly and TFS altered the predator-prey interaction between *S. marmoratus* and tadpoles, interfering on preys' ethological and metabolic responses. However, these modifications cannot be necessarily related to an increase in mortality by predation, since the final result of this thesis was biased in favor of the amphibian larvae exposed to pesticides.

---

## Preparación de superficies de silicio poroso para el desarrollo de biosensores ópticos

---

**Liliana Carolina Lasave**

llasave@intec.unl.edu.ar

Dr. Roberto Arce – Dra. Verónica González

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC)

Laboratorio de Semiconductores Nanoestructurados

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

Universidad Nacional del Litoral

Fecha de la defensa: 03/12/2013

### Resumen

Esta tesis resume un estudio multidisciplinario realizado sobre el diseño y fabricación de dispositivos ópticos de silicio poroso nanoestructurado para aplicaciones en el campo de la detección bioquímica. El objetivo final de esta investigación está dirigido al desarrollo de biosensores libres de

marcadores. Para ello se utilizan las propiedades ópticas de estos materiales en combinación con los efectos que sobre los mismos produce la incorporación de especies biológicas en su interior. El silicio poroso es un material ideal para la fabricación de transductores debido a su morfología de tipo esponja, caracterizada por un área de superficie específica de hasta 500 m<sup>2</sup>cm<sup>-3</sup>, lo que asegura una interacción efectiva con gases y sustancias líquidas. Por otra parte, el silicio poroso es un material de bajo costo, totalmente compatible con los procesos microelectrónicos estándar.

Para este trabajo, se prepararon diferentes estructuras de silicio poroso, desde capas simples hasta multicapas (espejos de Bragg y microcavidades ópticas), las cuales se han caracterizado para su utilización

como transductores ópticos para la detección de sustancias químicas y de interacciones biológicas. Los métodos de caracterización óptica y morfológica de las películas de silicio poroso preparadas, basados en mediciones de espectros de reflectancia y en microscopía electrónica de barrido respectivamente, permitieron corroborar la utilidad de las muestras para los fines propuestos. Así mismo se evaluó la sensibilidad y reversibilidad de dichos dispositivos para su aplicación como sensores.

La superficie del silicio poroso se ha modificado a fin de otorgarle: estabilidad química en medio acuoso, humectabilidad, así como también las funcionalidades específicas mediante la inmovilización de biomoléculas. Para ello se evaluaron distintos procedimientos de estabilización (térmica y química) y de modificación de la superficie para inmovilizar biomoléculas covalentemente y por adsorción física. Empleando aproximaciones de medio efectivo, fue posible estimar la fracción de biomoléculas presente en el interior de la matriz porosa, el cual es un parámetro muy importante para evaluar el grado de recubrimiento superficial producido.

Se desarrolló un innovador sistema óptico basado en la medición de reflectancia en el rango visible utilizando microcavidades autosostenidas de silicio poroso, para efectuar estudios de adsorción proteica en tiempo real, libre de marcación, y con adecuada sensibilidad (la resolución del sistema de medición en términos de cambio de índice de refracción, fue una parte en 105). Dicho estudio se complementó con el desarrollo de un modelo teórico para estudiar la cinética del proceso de difusión y adsorción de las proteínas en matrices porosas de silicio. El modelo propuesto permitió estimar parámetros ciné-

ticos relacionados con el ingreso y con la adsorción física de las proteínas a la superficie de silicio poroso (tiempo de difusión y constante de adsorción). Dichos parámetros son útiles para estudiar la difusión y adsorción de una proteína en distintas condiciones experimentales, así como también para caracterizar morfológicamente (tamaño y tortuosidad de poros) distintas matrices porosas empleando una misma proteína modelo. El modelo proporciona además la relación entre la proteína libre y adsorbida, que es un parámetro útil para evaluar la efectividad del proceso de sensibilización que se está realizando.

Por último se prepararon y caracterizaron películas de silicio poroso por medio de un modelo simple de cálculo, y fue posible determinar su utilidad para inmunoensayos en fase sólida.

Se optimizó el sistema de preparación de películas autosostenidas de modo de reducir los tiempos experimentales involucrados en la sensibilización de las superficies con biomoléculas.

Se desarrollaron películas de silicio macroporoso sensibilizadas con dos proteínas de interés para la detección de anticuerpos anti-T.cruzi (llamadas CP1 y FRA), por el método de adsorción física. El objetivo último es el de utilizar estos dispositivos como plataformas de detección de dichos anticuerpos utilizando sueros hiperinmunes obtenidos en conejo.

*Preparation of porous silicon surfaces for the development of optical biosensors*

### **Summary**

This thesis summarizes a multidisciplinary study on the design and manufacture of optical devices based on nanostructured

porous silicon for applications in the field of biochemistry detection. Porous silicon is ideal for the manufacture of transducers due to its spongelike morphology, characterized by a specific surface area of 500 m<sup>2</sup>cm<sup>-3</sup>, which ensures an effective interaction with gases and liquids. Moreover, this porous material is inexpensive and fully compatible with standard microelectronic processes.

For this work, different structures of porous silicon were prepared from simple layers to multilayer (Bragg mirrors and optical microcavities), which have been characterized for use as transducers for optical detection of chemical substances and biological interactions.

An innovative optical system based on the measurement of reflectance in the visible range using self-sustaining porous silicon microcavities, for real time and label-free studies of protein adsorption was developed. This study was complemented by the development of a theoretical model to study the kinetics of the diffusion and adsorption of proteins on porous silicon.

Moreover, macroporous silicon films sensitized with two proteins of interest for the detection of antibodies to *T. cruzi* (called CP1 and FRA) were prepared. The ultimate objective is to use these devices as platforms for detection of such antibodies present in hyperimmune sera obtained in rabbit.

---

## Diversidad morfo-genética de *Cercospora* en soja. Detección precoz de la infección por *C. kikuchii*

---

**Ma. Gabriela de los Milagros Latorre Rapela**

latorrerapela@gmail.com

Dra. María Cristina Lurá

Dr. Iván S. Marcipar

Cátedra de Microbiología General

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

Universidad Nacional del Litoral

Fecha de la defensa: 19/04/2013

### Resumen

En la provincia de Santa Fe, el cultivo de la soja (*Glycine max* L. Merr.) representa una de las principales fuentes de ingreso. Entre los agentes causales de enfermedades infecciosas, las especies del género *Cercospora* constituyen un problema importante. El tizón de la hoja y la mancha púrpura de la semilla cuyo agente causal es *C. kikuchii* y la mancha ojo de rana (MOR) pro-

ducida por *C. sojina*, reducen el valor nutricional de la planta y provocan severo deterioro de las cosechas.

Las especies de *Cercospora* producen una toxina de color rojo denominada cercosporina, que es la responsable de la patogenicidad y provoca la enfermedad. La producción de esta toxina es regulada por la proteína CFP ("Cercosporin Facilitator Protein") que, a su vez, es codificada por el gen *cfp* (*cercosporin facilitator protein*). La CFP, además, exporta la cercosporina hacia el exterior del hongo.

El propósito de este trabajo de tesis fue contribuir al conocimiento de las especies de *Cercospora* que ocasionaron patología en las plantas de soja, cultivadas en diferentes regiones de la provincia de Santa Fe durante las campañas 2005/2006,