

OFICINA DE PARTES - FIA	
RECEPCIONADO	
Fecha	3.0 MAYO 2008
Hora	13:45
N° Ingreso	2632

PREMIO A TESIS UNIVERSITARIAS EN INNOVACIÓN AGRARIA 2008

1. IDENTIFICACIÓN DE EL (LA) POSTULANTE

EN CASO DE TESIS DESARROLLADAS EN FORMA COLECTIVA, ESTA SECCIÓN DEBE REPETIRSE PARA COMPLETAR LOS DATOS DE CADA INTEGRANTE DEL GRUPO.

NOMBRE		
YOSSELYN CARMEN GARAY CATALÁN		
RUT		
DIRECCIÓN POSTAL		
REGION		
XIV, REGIÓN DE LOS RÍOS		
TELÉFONO	TELÉFONO CELULAR	E-MAIL
NACIONALIDAD		
CHILENA		
TITULO PROFESIONAL O GRADOS ACADÉMICOS ANTERIORES (en el caso de estudiantes de Magíster).		
LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS MAGISTER EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN MICROBIOLOGÍA		

ESTA FICHA PUEDE FOTOCOPIARSE PARA PRESENTAR OTRAS POSTULACIONES

2. IDENTIFICACIÓN DE LA TESIS, MEMORIA O PROYECTO DE TÍTULO

UNIVERSIDAD UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD / INSTITUTO / ESCUELA / DEPARTAMENTO FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS INSTITUTO DE PRODUCCIÓN Y SANIDAD VEGETAL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA ESCUELA DE GRADUADOS DE CIENCIAS
PROGRAMA DE ESTUDIOS (CARRERA) MAGISTER EN CIENCIAS ESPECIALIDAD (si corresponde) MENCIÓN MICROBIOLOGÍA
NOMBRE DE LA TESIS, MEMORIA O PROYECTO DE TITULO AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE METABOLITOS CON ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE CEPAS DE <i>Bacillus</i> sp. HACIA LOS AGENTES FITOPATOGENOS <i>Erwinia carotovora</i> (Dye) Hall y <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn.
Para optar a Título de
Para optar al Grado Académico de MAGISTER EN CIENCIAS C/M MICROBIOLOGÍA
PROFESOR(A) GUIA DR. LUIGI CIAMPI P. Facultad / Instituto / Escuela / Departamento FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS INSTITUTO DE PRODUCCIÓN Y SANIDAD VEGETAL LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA ESCUELA DE GRADUADOS DE CIENCIAS

3. BREVE RESUMEN DEL TRABAJO DE TESIS, MEMORIA O PROYECTO DE TÍTULO (máximo dos carillas): problema que se buscó resolver, objetivos, metodología, resultados, etc.

Es importante destacar el potencial de *Bacillus* sp. para sintetizar metabolitos con actividad antifúngica y antibacteriana que se ha utilizado en control biológico de fitopatógenos. De los péptidos antifúngicos producidos por *Bacillus* se puede citar a micobacilinas, iturinas, bacilomicinas, surfactinas, micosubtilinas, fungistatinas y subporinas. Muchos péptidos antifúngicos secretados por *B. subtilis* tienen un PM de < 2000 Da. La aparición de resistencia contra péptidos antimicrobianos es menos probable que la resistencia a antibióticos convencionales. En Chile hay varias bacterias y hongos que afectan a cultivos de papa, particularmente, la investigación se enfoca en el uso de cepas de *Bacillus* para controlar los fitopatógenos *Erwinia carotovora* y *Rhizoctonia solani*, agentes causales de pudrición blanda y sarna negra en papa respectivamente. Para ello, se analizaron 12 cepas bacterianas del género *Bacillus*, pertenecientes al cepario del Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Siendo las cepas MB2, MB5, MB42, MBP1, MBP2, las que presentan mayores halos de inhibición contra ambos fitopatógenos. La tipificación molecular de las cepas se realizó por amplificación del gen ribosomal 16 S por PCR. El análisis de las secuencias DNA r16S de las cepas antagonistas se realizó mediante BLAST y CLUSTAL W. Las cepas en estudio corresponden a *B. subtilis* correspondiendo a un porcentaje de identidad sobre el 90%, siendo la cepa MB5 la más distinta con un 77% de identidad. Además, se analizan curvas de crecimiento de las mejores cepas antagonistas.

Las curvas de crecimiento de las mejores cepas antagonistas (MB2, MB5, MB42, MBP1, MBP2) mostraron que la actividad antifúngica predomina a lo largo de su ciclo en todos los casos, excepto en la cepa MBP2 donde predomina la actividad antibiótica, siendo esta la que predomina en la fase de crecimiento exponencial para todas las cepas. Esta actividad antibiótica sería por la posible secreción de surfactina en las primeras etapas, esta potenciaría la acción de iturina a medida que transcurre el ciclo para contrarrestar los hongos. Los mejores resultados promedio de la actividad antibiótica y antifúngica se obtuvieron a las 60 h de incubación.

Los filtrados de las cepas antagonistas evidencian estabilidad a -20, 5, 25 y 80 °C, inactivándose cuando se expone a 121°C durante 15 min.

Para estimar el peso molecular del metabolito antagonista, se utilizó Centriplus (YM-3, YM-10, YM-30 Centrifugal Filter Unit), correspondiente a 3 kDa, 10 kDa y 30 kDa respectivamente. El filtrado es activo a > 30 kDa, < 30 kDa, < 10 kDa, < 3 kDa para todas las cepas en estudio. Por lo tanto, el péptido que buscamos tiene un peso molecular de <3 kDa.

El espectrograma de absorbancia de los filtrados con PM de < 3 kDa, evidenciaron semejanza con Iturina A (Sigma), presentando un máximo a 275 nm. Siendo Surfactina (Sigma) la que presenta una menor absorbancia. Esto podría deberse a que iturina A presenta un residuo de tirosina en la posición 2 invariable, el que se detectó en el espectrograma, no así para surfactina que carece de tirosina en su estructura.

Las fracciones activas obtenidas en la estimación del peso molecular fueron fraccionadas por HPLC, se compararon con Iturina A y Surfactina (Sigma). Protocolo de acuerdo a Chitarra (2003) modificado. Del análisis de los cromatogramas se desprende que todas las fracciones presentaron picks en los

tiempos de retención de Iturina y Surfactina (Sigma). Sin embargo, ambos estándares presentan un mismo tiempo de retención, por lo cual HPLC o el protocolo empleado no serviría para discriminar entre ambos. Varios investigadores sugieren utilizar espectrometría de masa asociado a HPLC, para una adecuada identificación.

Key words: *Bacillus subtilis*, control biológico, iturina, surfactina.

4. APOORTE DEL TRABAJO DE TESIS, MEMORIA O PROYECTO DE TÍTULO A LOS PROCESOS DE INNOVACIÓN AGRARIA (máximo dos carillas).

Explique, brevemente, en qué sentido este trabajo constituye un aporte a los procesos de innovación agraria, especificando la aplicabilidad de sus resultados.

En la realidad productiva del país se utilizan escasos productos biológicos para combatir patógenos vegetales, todos ellos de origen foráneo. La Universidad Austral de Chile desde hace años ha desarrollado una línea de investigación orientada a los microorganismos útiles para la agricultura. Esta vasta experiencia ha implicado estudiar bacterias en su hábitat natural, los productos que biosintetizan, y generar formulaciones específicas, terminando en la presentación de una patente de invención en Chile, relacionada con agentes de control biológico.

El objetivo esencial de este proyecto es diseñar formulaciones específicas de productos biológicos los cuales serán aplicados a través del riego tecnificado. Estos estarán constituidos por microorganismos específicos. Esta tecnología está diseñada para ser utilizada en invernadero y a campo. Para ello se ha seleccionado como cultivo modelo, al de la cala, flor de corte de rápida expansión exportadora en Chile, y que es severamente afectada por bacterias causantes de pudriciones húmedas (*Erwinia carotovora*). Contra este agente no hay productos eficientes, siendo también de gran preocupación en países extranjeros productores de cala, como lo es Nueva Zelanda. De igual forma, se ha seleccionado el cultivo de la papa para aplicar controles biológicos que hagan menos grave el ataque de la sarna negra provocada por *Rhizoctonia solani*. También, para este problema productivo, existe productos fungicidas, con resultados muy limitados.

Generar uno o mas productos biológicos con resultado erradicativo de la población del patógeno, implica mejorar la rentabilidad del cultivo ya sea de papa o de cala. Hay un mercado potencial, para este tipo de soluciones biológicas, que se está expandiendo en Chile y que se relaciona con la agricultura orgánica. Mercados internacionales de fruta, hortalizas y vino demandarán productos de esta naturaleza. Los usuarios agrícolas empeñados en exportar limpio y de seguro están dispuestos a utilizar estas nuevas soluciones.

Extracto desde la página oficial del proyecto:
<http://www.bioinsumos.cl/resumen.htm>

Las pruebas de invernadero y campo realizadas por otros investigadores han dado excelentes resultados. Constituyendo las cepas aisladas e identificadas por el presente estudio y otras pertenecientes al cepario de la Universidad Austral de Chile como óptimo para su posterior comercialización. Actualmente, la patente producto del proyecto se encuentra en las últimas etapas para su posterior aprobación.

5. OTRAS ACTIVIDADES VINCULADAS AL TRABAJO DE TESIS, MEMORIA O PROYECTO DE TÍTULO.

Señale si en el marco de este trabajo o con motivo de él, Usted ha realizado otras actividades como: publicaciones, presentaciones en seminarios, asistencia a seminarios, asesorías u otras.

8 - 19 de enero 2007. Taller Internacional teórico- práctico : "Biotechnology of Plant-Associated Microbes: Practical Applications for Agricultural, Forestry, Food, and Environmental Sciences". Dictado en el Centro de Biotecnología de la Universidad de Concepción. Becada por la Universidad de Concepción.

Asistencia a Congresos Expositora:

XI REUNIÓN NACIONAL DE LA PAPA. DESAFIOS DEL RUBRO PAPA: CALIDAD Y DIVERSIFICACIÓN. PUERTO VARAS 13,14 Y 15 DE DICIEMBRE 2006.

Avance de Resultados: "AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE METABOLITOS CON ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE CEPAS DE *Bacillus* sp. HACIA LOS FITOPATÓGENOS *Erwinia carotovora* (Dye) Hall y *Rhizoctonia solani* Kühn".

Isolation and characterization of antagonistic metabolites from *Bacillus* spp., toward the plant pathogenic agents *Erwinia carotovora* (Dye) Hall and *Rhizoctonia solani* Kühn.

Y. Garay, L. Ciampi, R. Fuentes, M. Costa, R. Schöebitz y J. Nissen. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Fono 221512, Fax 221233, yosselyngaray@uach.cl

Expositora:

XVII CONGRESO DE LA SOCIEDAD CHILENA DE FITOPATOLOGÍA. CONCEPCIÓN, 27-30 DE NOVIEMBRE 2007.

"AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE METABOLITOS CON ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE CEPAS DE *Bacillus* sp. HACIA LOS AGENTES FITOPATÓGENOS *Erwinia carotovora* (Dye) Hall y *Rhizoctonia solani* Kühn".

Isolation and characterization of antagonistic activity metabolites from *Bacillus sp.* strains against phytopathogenic agents *Erwinia carotova* (Dye) Hall and *Rhizoctonia solani* Kühn.

GARAY Y. y CIAMPI L. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Isla Teja s/n, Valdivia-Chile. Fono: (56) 63 221512

e-mail:yosselyngaray@uach.cl

Asistente: (Por gestión personal, para interiorisarme de la realidad de las ciencias agrárias a nivel mundial).

VI ENCUESTRO LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE BIOTECNOLOGÍA AGROPECUARIA REDBIO 2007. VIÑA DEL MAR, 22-26 DE OCTUBRE 2007.

Patentes y Publicaciones

Actualmente, me encuentro evaluando a que revista enviar manuscrito terminado producto de la investigación de la tesis de Magister.

La tesis de Magíster se encontraba inmersa en el Proyecto Fondef DO3i 1140 "Formulaciones y estrategias para mejorar el biocontrol de enfermedades en cultivos de elevada importancia socioeconómica en Chile. Modelos: *Rhizoctonia solani* en papas y *Erwinia carotovora* en calas". Dirigida por el Dr. Luigi Ciampi P. El producto de esta investigación esta en vías de ser patentadas.