

GGM 1

GENOMA MITOCONDRIAL Y METILACIÓN GÉNICA NUCLEAR EN TUMORES MAMARIOS HUMANOS

Cané L.¹, E. Cálcena¹, P. Peltomäki², S.M. Richard¹, A.D. Bolzán¹, W.H. Pavicic^{1,2}, ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), CCT-CONICET-CICPBA, La Plata. ²Department of Medical and Clinical Genetics, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

E-mail: wpavicic@imbice.gov.ar

La metilación de genes nucleares juega un papel importante en la carcinogénesis humana. Varios genes TSGs (*tumor suppressor gene*) y microARNs poseen en sus promotores islas CpG asociadas a la regulación epigenética de su expresión. La variación del número de copias (NC) de ADNmt, hallada con frecuencia en varios tipos tumorales, induciría cambios de metilación en genes nucleares. Mediante los métodos qPCR y MS-MLPA, respectivamente, analizamos ambos eventos en 39 muestras pareadas T/N (Tumoral/No-tumoral adyacente) de pacientes con cáncer de mama. Se encontró una disminución significativa de NC para ADNmt (30 %, $p < 0,01$; $N > T$) en el 74 % de los casos. Comparando Tvs.N obtuvimos: hipermetilación en microARNs 124a1, 124a2, 124a3, 148a y 152*, hipometilación en 208a y 373* ($p < 0,001$), y ningún cambio para 18bl, 1-1 y 200a. Los TSGs APC, CDH13 y RASSF1 presentaron hipermetilación ($p < 0,001$). El gen mir-200a dio como resultado una correlación significativa ($p = 0,03$) entre número de copias de ADNmt y niveles de metilación. El gen RASSF1 ($p = 0,03$, $r = -0,36$) presentó una correlación inversa entre metilación y copias de ADNmt en tejido tumoral. Podemos decir que la reducción de ADNmt y la variación en metilación de microARNs y TSGs son eventos frecuentes en tejido canceroso mamario. Los resultados nos permiten proponer a la disfuncionalidad mitocondrial –determinada como cambios en su contenido genómico– como un evento celular asociado a los cambios en niveles de metilación hallados frecuentemente en el desarrollo tumoral del tejido mamario, para el promotor de los genes mir-200a y RASSF1.

GGM 2

ANÁLISIS COMPUTACIONAL DE LA REGIÓN DE HEAT SHOCK PROTEIN-70 (HSP70) EN EL GENOMA BOVINO

Suqueli García M.F.¹, M. Castellote², S. Feingold², P.M. Corva¹.

¹Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP. ²INTA E.E.A. Balcarce.

E-mail: pcorva@mdp.edu.ar

Las proteínas de shock térmico de 70 kDa (HSP70) están muy conservadas en mamíferos, y en bovinos han sido vinculadas al éxito reproductivo de las hembras en climas subtropicales. Una búsqueda de secuencias de los respectivos genes reveló que en los genomas bovinos de referencia, Btau8 y UMD3.1, esta región de BTA23 tiene errores de ensamblado y la comparación con el genoma ovino de referencia tomado de Ensembl lo confirma. Se detectó que de los tres genes del clúster, HSPA1A, HSPA1L y HSPA1B sólo se encuentran anotados los dos primeros. También hay una diferencia en la secuencia reportada para HSPA1A (GenBank AY149618.1). Las proteínas HSPA1A y HSPA1B sólo difieren en un aminoácido y los genes que codifican para dichas proteínas no poseen intrones. La similitud de las regiones codificantes de estos genes podría ser el origen del error, generándose una secuencia híbrida entre ambos que resulta de menor tamaño, pues no incluye las cerca de 9 Kb que los separan. Siendo que HSPA1A y HSPA1L comparten la región promotora, esta secuencia errónea involucra los tres genes HSP70. Se propusieron como objetivos de este trabajo generar una secuencia corregida del genoma bovino de referencia de la región comprendida entre los genes NEU1 y LSM2 que flanquean a los genes de interés y mejorar la anotación de los genes del clúster de HSP70 en BTA 23. Utilizando diferentes herramientas bioinformáticas se generó una secuencia consenso de 52 Kb a partir de clones de una biblioteca genómica de bovino (BAC library CHORI-240) y de genomas bovinos completos recuperados de la división SRA de NCBI.

GGM 3

ANÁLISIS DE CURVAS DE FUSIÓN DE ALTA RESOLUCIÓN (HRM) PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE VARIANTES DE LOS GENES BRCA1 Y BRCA2

Galeano Petro L.¹, A.C. Abaunza Oviedo¹, G. Guevara Pardo¹.

¹Instituto Colombiano de Genética y Oncología Molecular, Bogotá D.C., Colombia.

E-mail: lilianag7@gmail.com

Las curvas de fusión de alta resolución (HRM) son un método de preselección en el escaneo de BRCA1 y BRCA2, que combina simplicidad y rápida identificación de todos los tipos de alteración en la estructura del ADN (deleciones, inserciones, sustituciones, cambio en el marco de lectura) y variantes genéticas (mutaciones deletéreas, polimorfismos, variantes de significancia desconocida). Analizamos curvas HRM con el objetivo de detectar y diferenciar tipos de alteraciones y variantes genéticas. Se evaluaron los genes BRCA1 y BRCA2 de 100 pacientes colombianas con cáncer de mama con diferentes mutaciones deletéreas, variantes de significancia desconocida y polimorfismos. El ensayo se realizó con el LightCycler® 480 Instrumento (Roche). Todas las alteraciones fueron identificadas y diferenciadas por HRM y confirmadas mediante secuenciación por Sanger. HRM es un método valioso para la detección rápida de mutaciones deletéreas, variantes de significancia desconocida y polimorfismos, con la gran ventaja de poder identificar y diferenciar nuevas variantes en los genes BRCA1 y BRCA2 en los productos de PCR.

GGM 4

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE PUB16 EN *Arabidopsis thaliana* BAJO ESTRÉS ABIÓTICO Y SU ROL EN LOS MECANISMOS DE POLINIZACIÓN

Acosta M.G.^{1,2}, D.M. Mistrorigo^{2,4}, M.G. Pacheco³, V.H. Casco^{1,4}.

¹LAMAE, Facultad de Ingeniería, UNER y CITER-CONICET,

Entre Ríos, Argentina. ²Laboratorio de Genética, Biotecnología y Mejoramiento Vegetal, INTA EEA Paraná, Entre Ríos, Argentina.

³Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Genética Edward A.

Favret, INTA Castelar, Buenos Aires. ⁴Facultad de Agronomía,

UNER, Entre Ríos, Argentina.

E-mail: acosta.maria@inta.gob.ar

Se ha establecido que en *Arabidopsis thaliana* un alto porcentaje de las proteínas con dominios U-box (AtPUB) actúan como ligasas de ubiquitina E3 que modifican su patrón de expresión génica de acuerdo al estrés abiótico aplicado. En el presente trabajo, mediante estudios bioinformáticos se rastrearon en *A. thaliana* homólogos funcionales a ARC1, una proteína PUB de *B. napus* que participa en el mecanismo de polinización, regulando el proceso de aceptación/rechazo del polen propio. Posteriormente se caracterizó la expresión génica de proteínas AtPUB utilizando estudios moleculares. La secuencia de *A. thaliana* filogenéticamente más relacionada con ARC1, aún no caracterizada, resultó ser PUB16. Utilizando real time PCR (qRT-PCR) se analizó la expresión génica tanto en genotipos de *A. thaliana* salvajes (AtWT) como mutantes (Atpub16), con y sin estrés hormonal (giberelina, GA). Se probó que la expresión génica de PUB16 se incrementa significativamente (2,8 veces) en AtWT sometidas a estrés hormonal, manteniéndose en niveles basales en las plantas mutantes. En paralelo, el bioensayo de polinización permitió verificar un aumento significativo de granos de polen unidos a estigmas en plantas AtWT tratadas con GA, respecto a las crecidas en condiciones normales, mientras que las mutantes no exhiben diferencias significativas de adhesiones polen-estigma respecto del control. Estos resultados permiten determinar por primera vez un posible rol biológico de PUB16 en el proceso de polinización de *A. thaliana*, aumentando los contactos polen-estigma frente al agregado de GA.

GGM 5

RELACIONES DE PARENTESCO ENTRE POMELO PARANÁ Y DISTINTAS VARIETADES CÍTRICAS MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES MICROSATÉLITES

Lezcano C.C.¹, B.I. Canteros¹, A.F. Puebla², E.M.S. Moreno³, M.G. Muñoz Hidalgo², V. Nishinakamasu². ¹EEA INTA Bella Vista, Corrientes. ²Instituto de Biotecnología INTA Hurlingham, Buenos Aires. ³Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes. E-mail: lezcano.cecilia@inta.gob.ar

Pomelo Paraná es una variante de *Citrus x paradisi*. Se desconoce su origen genético, se considera que es un híbrido natural cuya exacta ubicación taxonómica respecto a otros pomelos no se ha determinado. La fruta es semejante a pomelo pero difiere de éste por su menor contenido de acidez y la alta resistencia a la canchosis de los cítricos (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*). El objetivo fue determinar las posibles relaciones de parentesco entre pomelo Paraná y distintas variedades cítricas mediante el uso de marcadores microsatélites (SSR). El ADN genómico total fue extraído de hojas jóvenes de pomelo Paraná, Duncan, Foster, pummelo Chandler, *C. grandis* x *C. paradisi* y naranja Valencia. Los amplicones obtenidos se visualizaron en geles de agarosa 2 %. Además las amplificaciones fueron analizadas en *Fragment Analyzer* (FA). Se utilizaron los pares de *primers* específicos P73, P94, P620, P1223, P1826, CCSM77, CCSM156, CCSM09, CCSM06. Los cromatogramas obtenidos con FA revelan claramente una diferencia en cuanto al patrón de bandas de pomelo Paraná con respecto a las demás variedades estudiadas. Esto coincide con el patrón de bandas obtenido con los geles de agarosa, sin embargo, se observa mayor resolución en el FA. El análisis de coordenadas principales obtenido a partir de los valores de distancias genéticas (índice de Nei) indica menor distancia entre pomelo Paraná y naranja Valencia, mientras que hay mayor distancia entre pomelo Paraná y pomelo Duncan, Oro blanco, Chandler y Foster.

GGM 6

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE GENES DE DETERMINACIÓN DEL SEXO EN *Diachasmimorpha longicaudata*

Mannino M.C.¹, A.C. Scannapieco^{1,3}, M. Rivarola^{2,3}, S. Gonzalez², C.A. Conte¹, M. Farber^{2,3}, J.L. Cladera¹, S.B. Lanzavecchia¹. ¹IGEAF, INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ²Instituto de Biotecnología, INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET. E-mail: mannino.constanza@inta.gob.ar

Diachasmimorpha longicaudata (Hymenoptera: Braconidae) es un insecto controlador biológico de moscas plaga de la fruta. Resulta de interés avanzar en la caracterización genética de esta especie y particularmente en su sistema de determinación sexual. Los mecanismos de determinación del sexo en insectos se caracterizan por cascadas de genes altamente variables al inicio y con un bloque central altamente conservado que contiene un regulador binario conocido como tra/fem y al menos un efector conocido como dsx. Una señal primaria desconocida activará una de las dos variantes de la cascada, resultando en un patrón regulatorio sexo-específico. A partir de los resultados del transcriptoma de *D. longicaudata* se ha logrado obtener una cantidad masiva de información de transcritos de la especie. Se identificó una serie de secuencias que se expresan diferencialmente entre hembras y machos adultos (EdgeR), y se generaron candidatos a estar involucrados en la determinación del sexo. Se seleccionaron y evaluaron algunos de estos candidatos por medio de RT-qPCR para confirmar las tendencias evidenciadas por transcriptómica. Estos resultados permiten un primer acercamiento a los genes que se encuentran involucrados en la determinación del sexo de *D. longicaudata*, generando información genómica promisoría para la manipulación genética de la proporción de sexos en la optimización de los protocolos de cría artificial de este agente de control biológico.

GGM 7

DIVERSIDAD MITOCONDRIAL EN LLAMAS DE LA PROVINCIA DE CATAMARCA

Daverio M.S.¹, Y. Lorenzo¹, F. Rigalt², L. Vidal Rioja¹, F. Di Rocco¹.
¹Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE),
 CIC-PBA, CCT-CONICET, La Plata, Buenos Aires. ²EEA INTA-Catamarca, Catamarca.
 E-mail: m.sil.daverio@outlook.com

La cría de llamas (*Lama glama*) constituye una actividad económica de gran importancia en el noroeste argentino debido a que es una especie poliprodutora de carne, cuero y fibra. Generalmente, los rebaños extra-andinos comienzan con unos pocos animales de las provincias de Jujuy y Catamarca. Por ello, el conocimiento de su ancestría así como de su diversidad genética es relevante para asegurar su conservación y uso sustentable. En este trabajo analizamos la diversidad mitocondrial de llamas de Catamarca mediante secuenciación de 540 pb de la región control del ADN mitocondrial de animales de las localidades de Laguna Blanca (n=25), Corral Blanco (n=11) y Antofagasta de la Sierra (n=9). Los parámetros de diversidad genética se estimaron con DnaSP 4.0 y las relaciones evolutivas entre los haplotipos se analizaron con el programa Network 4.6, incluyendo además muestras de camélidos silvestres (n=40). La diversidad haplotípica ($Hd=0,886$) y nucleotídica ($\pi=0,023$) fueron altas. Se identificaron 13 haplotipos dos de los cuales fueron exclusivos de Laguna Blanca, 2 de Corral Blanco y 1 de Antofagasta de la Sierra. Todas las muestras se distribuyeron en dos clusters bien diferenciados, agrupándose el 64,5 % con los guanacos y el 35,5 % con las vicuñas. Los resultados de este estudio muestran que las llamas catamarqueñas poseen una alta diversidad mitocondrial, con una contribución importante del linaje vicuña, producto de la hibridación con esta especie o probablemente con alpacas.

GGM 8

USO DE MICROSATÉLITES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Brassica napus*, *B. rapa* Y SUS HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS

Torres Carbonell F.¹, A. Presotto^{1,2}, C. Pandolfo^{1,2}, M.S. Ureta^{1,2}, M. Poverene^{1,2}. ¹Departamento de Agronomía, UNS. ²CERZOS-CONICET.
 E-mail: francisco.torres@uns.edu.ar

El cultivo de colza (*Brassica napus*; AACC, n=19) resistente a herbicidas es una tecnología reciente en nuestro país y presenta el riesgo de transferencia de esta característica a especies emparentadas. El nabo (*B. rapa*; AA, n=10) es una maleza que suele ser simpátrica con el cultivo y los cruzamientos entre ambas especies son posibles. Se evaluó la utilidad de cuatro marcadores microsatélites para confirmar híbridos cultivo-silvestre. Se sembraron en macetas bajo invernáculo accesiones de *B. napus* y *B. rapa* con y sin tolerancia a imidazolinonas. Se extrajo ADN genómico a partir de hoja y se evaluaron dos marcadores SSRs específicos del genoma A (BRMS005 y BRMS033) y dos específicos del genoma C (AP1c5pr y Bn83B1). Se probaron distintas condiciones de PCR y los productos se revelaron en geles de agarosa al 2,5 %. Los patrones de banda más definidos se obtuvieron con los marcadores BRMS005 y AP1c5pr. El primero presentó un producto de amplificación con dos bandas en *B. rapa* y una banda de menor peso en *B. napus*, lo que permitió diferenciar las dos especies. Mientras que el AP1c5pr mostró productos de amplificación en el cultivo y no se observó amplificación en *B. rapa*. Estos marcadores combinados en una PCR multiplex serían una herramienta muy valiosa para detectar híbridos y evaluar su frecuencia en poblaciones de nabo lindantes a cultivos de colza, especialmente porque en pocas generaciones de retrocruza los híbridos se asemejan a alguno de sus parentales y su detección visual no sería posible.

GGM 9

MOSCAS FUMADORAS DE TABACO Y CARDIOPATÍAS. EFECTO DE LA NICOTINA EN LA SOBREVIDA Y LA FUNCIÓN CARDÍACA DE *Drosophila melanogaster*

Perdomo S.¹, L. Morro¹, A. Villegas¹, R. Fernández¹, A. Icardi¹, N. Beltrame¹, B. Brugo¹, C.A. Valverde², M. Santalla^{1,2}, A. Mattiazzi², P. Ferrero^{1,2}. ¹Biología Celular y Molecular, Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales, UNNOBA. ²Centro de Investigaciones Cardiovasculares, UNLP-CONICET.
E-mail: santallamanuela@gmail.com

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* es un excelente modelo para estudiar la acción de genes sobre las adicciones humanas. Aquí proponemos un diseño experimental en el que moscas adultas consumen humo de cigarrillo de manera semejante al modo en que lo hace un fumador para estudiar efectos nocivos del tabaco. Se conoce que los componentes del cigarrillo provocan enfermedad de arteria coronaria, apoptosis de cardiomiocitos, infarto agudo de miocardio y cardiopatías congénitas en pacientes y en otros organismos modelo. Los mecanismos por los cuales los componentes del tabaco inducen cardiomiopatías no se conocen con claridad. Nuestros resultados experimentales indicaron que el humo del cigarrillo incrementó la incidencia de mortalidad en moscas adultas cuya supervivencia fue evaluada durante 20 días. La expectativa máxima de vida se redujo en el grupo de las moscas fumadoras. Además, observamos un efecto del tabaco sobre el sistema cardíaco mediado por la nicotina. La administración de nicotina en agudo aumentó la frecuencia cardíaca, aumentó el índice de arritmias y modificó la dinámica del calcio intracelular, un componente esencial para la contracción. Finalmente, la acción de la nicotina sobre el corazón podría estar mediada parcialmente por una cascada tipo beta adrenérgica ya que el bloqueante de receptores tipo beta, el atenolol, revirtió la acción de la nicotina sobre la amplitud del transitorio de calcio.

GGM 10

ENDÓFITOS DE SEMILLAS DE TRIGO

Grossi C.E.M.¹, S.M. Díaz Herrera^{1,2}, M.S. Zawoznik¹, M.D. Groppa^{1,2}. ¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. ²IQUIFIB-CONICET.
E-mail: cecilia.em.grossi@gmail.com

En el campo las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) con las que se inoculan diversos cultivos deben competir con las comunidades endofíticas presentes en las semillas de las plantas, las cuales pueden proliferar en el mismo nicho ecológico. Con el fin de investigar a qué microorganismo/s tendrían que hacer frente las bacterias inoculadas en plantas de trigo, en este trabajo nos propusimos aislar microorganismos endófitos de las semillas de esta especie vegetal mediante un protocolo dependiente del cultivo. Los aislamientos obtenidos se identificaron a nivel de género a través de la secuenciación del gen 16S del ARNr; la mayoría de ellos correspondieron a Firmicutes, géneros *Paenibacillus* y *Bacillus*. Solo se aisló un microorganismo Gram negativo, una Enterobacteriácea compatible con el género *Pantoea*. Se realizó un árbol filogenético para observar la relación evolutiva entre los distintos aislamientos a partir del alineamiento de las secuencias del gen 16S del ARNr. Se realizó también un análisis RAPD para discriminar los distintos aislamientos de *Paenibacillus*. Algunos aislamientos presentaron habilidades para promover el crecimiento vegetal o de biocontroladores, por eso se comenzó a poner a punto un protocolo de transformación de estas bacterias con proteínas fluorescentes (GFP y eYFP) a través de conjugación bi o triparental utilizando *Escherichia coli* DH5 α . ya que contar con aislamientos marcados permitirá conocer la dinámica de colonización de estos organismos en los diversos tejidos vegetales a lo largo del ciclo de vida de este importante cultivo.

GGM 11

DETERMINACIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN BRAF POR TÉCNICAS MOLECULARES EN MUESTRAS DE PUNCIÓN ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA (PAAF) DE TIROIDES

Moya C.M.¹, M. Monteros Alvi², M. Nallar Dera³. ¹Sector de Biología Molecular, Programa de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital de Endocrinología y Metabolismo "Dr. Arturo Oñativia". ²Sector de Anatomía Patológica, Programa de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital de Endocrinología y Metabolismo "Dr. Arturo Oñativia". ³Programa de Cirugía, Hospital de Endocrinología y Metabolismo "Dr. Arturo Oñativia", Salta. E-mail: cmmoya@yahoo.com

Los carcinomas papilares representan el 80 % de los tumores malignos tiroideos. Las alteraciones génicas de mayor importancia clínica en el cáncer papilar de tiroides son las mutaciones en el gen BRAF, de ellas el cambio T1799A (V600E) es la más frecuente. El 100 % de los nódulos con mutación BRAF positiva se asocian con cáncer y son los de peor pronóstico. Los objetivos fueron diseñar e implementar un estudio molecular que permita identificar las mutaciones en el gen BRAF en PAAF de tiroides y analizar la frecuencia mutacional en la población estudiada. Se diseñaron *primers* específicos en los exones 11 y 15 del gen BRAF para realizar el *screening* de las mutaciones más frecuentes mediante *High Resolution Melting* (HRM). Se pusieron a punto las condiciones del HRM y se estudiaron 30 PAAF de nódulos tiroideos con diagnósticos Bethesda II, III, IV, V y VI. En paralelo, como control se analizaron las mismas muestras por un kit comercial que detecta las cinco mutaciones más frecuentes en el codón 600 de BRAF. Además, todas las muestras analizadas fueron secuenciadas para confirmar los resultados. Hasta el momento no se detectaron mutaciones en el exón 11. Todos los pacientes positivos presentaron la mutación V600E y fueron identificadas por ambas técnicas. La frecuencia mutacional en la muestra analizada es del 25 %. La técnica diseñada es altamente confiable con un 100 % de concordancia con el kit comercial. La frecuencia de mutaciones en BRAF se encuentra dentro del rango descrito en la literatura para riesgo de malignidad en Bethesda II a VI

GGM 12

BASES MOLECULARES DE LAS BARRERAS PRECIGÓTICAS A LA HIBRIDACIÓN EN LAS PAPAS SILVESTRES (*Solanum SP.*)

Maune J.F.¹, A.C. Pontaroli¹, E.L. Camadro¹. ¹Unidad integrada EEA Balcarce INTA-FCA, UNMdP, CONICET. E-mail: camadro.elsa@inta.gob.ar

La incompatibilidad cruzada (IC) es la principal barrera interna precigótica a la hibridación en las papas (*Solanum sp.*). Su comprensión es de importancia para ampliar la base genética de la papa común y conservar germoplasma silvestre *ex situ*. Para esclarecer si en la IC están involucrados loci génicos distintos al locus S de autoincompatibilidad gametofítica, se realizaron 156 cruzamientos dirigidos entre 172 plantas de 12 introducciones de papas silvestres, seleccionándose combinaciones genotípicas según la relación polen-pistilo. Se repitieron las polinizaciones en: (a) una combinación genotípica con IC; (b) la autofecundación del progenitor femenino; y (c) cada progenitor en combinaciones compatibles (controles). Se usó la técnica cDNA-AFLP para identificar genes candidatos en pistilos fijados en N2 líquido (2, 7, 24 y 28 hs post-polinización). Se identificaron 27 bandas polimórficas (de 100-150 pb) presentes sólo en (a) o (c). Dos de ellas mostraron similitud con el factor de respuesta a auxinas ARF-6 (valor $E \leq 6e-14$), cuatro con la proteína mitocondrial MPP-alpha ($E \leq 0,37$), una con un retrotransposón ($E = 1e-4$) y otra con una secuencia asociada a la reacción huésped-patógeno ($E = 4e-6$). ARF-6 y MPP-alpha han sido previamente asociadas con androesterilidad y detención del crecimiento de tubos polínicos en experimentos de silenciamiento de los respectivos genes en otras Solanáceas. Estos resultados dan sustento a observaciones previas del grupo de investigación sobre el control multigénico de la IC independiente de la especificidad del locus S.

GGM 13

DETECCIÓN DEL TRANSGÉN GT73 DE RESISTENCIA A GLIFOSATO EN POBLACIONES NATURALES DE *Brassica napus* Y *B. rapa*

Pandolfo C.^{1,2}, A. Presotto^{1,2}, F. Torres Carbonell¹, S. Ureta^{1,2}, M. Poverene^{1,2}, M. Cantamutto³. ¹Departamento de Agronomía, UN del Sur. ²CONICET Bahía Blanca. ³INTA Hilario Ascasubi. E-mail: cpandolfo@cerzos-conicet.gob.ar

La colza (*Brassica napus* L., n=19, AACC) es uno de los principales cultivos oleaginosos, ocupando el tercer lugar en la producción mundial. Actualmente existen variedades transgénicas de colza resistentes a glifosato cultivadas en cinco países; en Argentina el cultivo de colza transgénica no se encuentra aprobado. El nabo silvestre (*B. rapa* L., n=10, AA) es una especie invasora de gran cantidad de cultivos en todo el mundo, y puede hibridar con el cultivo de colza. En el sudeste de Buenos Aires se identificaron poblaciones de *B. napus* y *B. rapa* resistentes a glifosato. Bajo la hipótesis de que las poblaciones portan el transgén de resistencia a glifosato, se analizó su presencia mediante la detección del evento GT73, basada en el *Protocol RT73-Community Reference Laboratory for GMO Food and Feeds* de la Unión Europea. Los *primers* utilizados amplifican un producto de 108 pb que comprende la región recombinante entre la construcción transgénica y el genoma de la colza. Como control positivo y para identificar la pertenencia taxonómica de las especies se utilizó el marcador microsatélite BRMS005, específico del genoma A de *Brassica*. El microsatélite amplificó productos en todos los individuos analizados, y los patrones de bandas permitieron diferenciar *B. napus* de *B. rapa*. Todos los individuos de fenotipo resistente amplificaron el fragmento de 108 pb. Este hallazgo concuerda con la hipótesis que los biotipos ferales de *B. napus* y las poblaciones naturales de *B. rapa* resistentes a glifosato contienen el transgén correspondiente al evento GT73.

GGM 14

UN MÉTODO RÁPIDO Y SIMPLE PARA DETERMINAR EL SEXO EN PINGÜINOS PYGOSCÉLIDOS

Teran E.M.¹, M.A. Juárez², P. Perchivale², G. Lo Coco³, M.V. Cuello¹, L.S. Jurado Medina¹, M. Schwab¹, M. Muzzio¹, M.M. Santos², M.R. Santos¹. ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Celular, La Plata, Argentina. ²Instituto Antártico Argentino, CABA, Argentina. ³Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", CABA, Argentina. E-mail: estermt@outlook.es

La determinación del sexo en aves es relevante para estudios de ecología, evolución y conservación. Sin embargo, en especies donde no existe dimorfismo sexual, es necesario contar con una prueba de sexado que sea eficiente y a la vez no invasiva. En este sentido, se evaluó una prueba molecular anteriormente aplicada en aves no-ratites que se basa en el análisis de ADN mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Para ello, se procedió a la extracción de ADN a partir de muestras de sangre de 287 ejemplares de dos especies de pingüinos (*Pygoscelis adeliae* y *Pygoscelis papua*). A través de esta técnica molecular y el uso de cebadores específicos, se amplificaron regiones conservadas del gen *chd* (*Chromodomain-helicase-DNA-bindingprotein*) que flanquean intrones de diferente longitud presentes en ambos cromosomas sexuales (Z y W). De este modo es posible diferenciar hembras (*chd-ZW*) de machos (*chd-ZZ*) mediante la observación en geles de agarosa de dos fragmentos en aves hembras y solamente uno en machos. Nuestros resultados avalan esta técnica como un método rápido y eficaz para determinar el sexo en pingüinos pygoscelidos.

GGM 15

IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS ALELOS DE AUTOINCOMPATIBILIDAD EN PAPAS SILVESTRES (*Solanum* SECT. PETOTA)

Marcellán O.¹, F. Maune¹, E.L. Camadro^{1,2}. ¹Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP-EEA Balcarce, INTA. ²CONICET.

E-mail: marcellan.olga@inta.gob.ar

La hibridación entre la papa cultivada y las especies silvestres, fuente de resistencia a estreses bióticos y abióticos, puede estar obstaculizada por barreras precigóticas. A fin de dilucidar las bases genéticas de dichas barreras se inició un proyecto para identificar genes de incompatibilidad cruzada (IC). Estas especies también poseen un sistema de autoincompatibilidad gametofítica (AIG) controlado por el locus S, por el cual una planta diploide rechaza su propio polen o el proveniente de otra planta con el mismo haplotipo S. Las reacciones de incompatibilidad que ocurren en el 1er tercio del estilo pueden deberse tanto a AIG como a IC. Para identificar alelos S-RNase de AIG en 13 genotipos de *S. gourlayi* (grl), *S. spegazzinii* (spg) y *S. chacoense* e híbridos interespecíficos involucrados en cruzamientos incompatibles intra- e interespecíficos, se amplificó ADN usando oligonucleótidos basados en cuatro regiones conservadas del gen, se secuenciaron los amplicones y se alinearon las secuencias usando Blast. Se identificaron ocho nuevos alelos con secuencias parciales que incluyeron las regiones conservadas 2 y 3, la región hipervariable que es la responsable de la especificidad alélica y el intrón que tuvo una longitud similar entre los alelos (82-87 bp). La identidad a nivel de nucleótido varió desde 73 % (entre alelos de un mismo genotipo de spg y de dos genotipos de grl) hasta 98 % (entre los dos genotipos de grl mencionados). Esta caracterización permitió seleccionar progenitores que no presentan identidad alélica para la AIG, para el estudio molecular de la IC.

GGM 16

EXPRESIÓN DE GENES DE CITOCROMO P450 EN POBLACIONES DE *Triatoma infestans* SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES A DELTAMETRINA

Grosso C.G.¹, M.J. Blariza¹, B.A. García¹. ¹INICSA (CONICET-UNC) y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

E-mail: bgarcia@biomed.uncor.edu

Incrementos en la expresión a nivel de la transcripción de genes de citocromos P450 (CYP450) son frecuentemente considerados responsables de aumentar el metabolismo de insecticidas y parece ser un fenómeno común en la evolución del desarrollo de resistencia en insectos. Con el propósito de analizar genes que podrían estar relacionados con la resistencia a insecticidas en *Triatoma infestans*, se aislaron 3 genes CYP450. A partir de las secuencias de ADN copia (ADNc) de esos genes se diseñaron *primers* específicos y sondas Taqman para la determinación de su expresión mediante la técnica de PCR en Tiempo Real. Se determinó la dosis letal 50 % (DL50) del principio activo deltametrina con la que se realizó una aplicación tópica en la parte ventral del abdomen de ejemplares de *T. infestans* provenientes de poblaciones susceptibles y resistentes a deltametrina. Las determinaciones de expresión se llevaron a cabo a partir de ARN total extraído de *pools* de cuerpo graso de esos insectos en distintos intervalos de tiempo después de la aplicación tópica del principio activo insecticida. Los resultados de la determinación de la expresión a nivel de transcripción de los tres genes CYP450, revelaron que esa expresión fue inducida por deltametrina en los diferentes sexos y estadios estudiados. Además, se detectó sobreexpresión de uno de esos genes en la población que presentó el mayor grado de resistencia al insecticida. Los resultados obtenidos apoyarían la hipótesis que postula la participación de genes CYP450 en el desarrollo de la resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans*.

GGM 17

IDENTIFICACIÓN DE MARCOS DE LECTURA (ORF) NO PREDECIBLES EN GENOMAS EUCARIOTAS POR MEDIO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Biondini E.¹, G. Capriotti¹, J. Celano¹, B. Cieri¹, A. León¹, G. Manzelli¹, M. Mattiozzi¹, A. Moroni¹, M. Napoli¹, R. Ramos¹, C. Sala¹, M. Sartor¹, R. Tintorelli¹, J. Torres Gregorio¹, E. Vilardo¹, R. Rivera Pomar^{1,2}, P. Magjor^{1,2}. ¹Universidad Nacional del Noroeste de la pcia. de Buenos Aires (UNNOBA). ²Centro de Bioinvestigaciones (CeBio), UNNOBA.
E-mail: moroni.ad@gmail.com

La anotación de genomas predice genes con bastante exactitud mediante la detección de ORF, pero falla en regiones no codificantes, además de dejar de lado predicciones de ORF <50 aminoácidos. La espectrometría de masas (MS) permite identificar el proteoma que expresa la información genómica. Aquí validamos *in silico* resultados de MS en tándem obtenidos de embriones de *Drosophila melanogaster*, *Rhodnius prolixus* y *Tribolium castaneum*. Los péptidos fueron extraídos y analizados usando LC/MALDI-TOF-TOF y la herramienta MS/MS IonsSearch, correlacionando los espectros con secuencias provenientes de bases de datos de las 3 especies. Una búsqueda BLASTp de los péptidos que no fueron identificados por MS/MS IonsSearch corroboró la similitud con proteínas previamente anotadas en los genomas. En los casos en que no se correspondieron con ORF anotados, se identificó el ORF por tBLASTn. Luego, con el *software* Translate se tradujeron secuencias genómicas en las que se identificaron los ORF de los péptidos secuenciados. Por último, se llevó a cabo un BLASTp con el ORF deducido para completar la anotación. Usando esta metodología identificamos nuevos ORF no anotados en las tres especies de insectos. Estos resultados novedosos fueron obtenidos durante los trabajos prácticos de la asignatura Genómica que se dicta en la carrera de Genética de la UNNOBA a partir de mediciones experimentales llevadas a cabo como parte de proyectos de investigación del Centro de Bioinvestigaciones UNNOBA-CIC.

GGM 18

CHROMOSOMAL ORGANIZATION OF K7355-1 SATELLITE DNA IN *Ancistrus* SP. (SILURIFORMES: LORICARIIDAE)

Silva K.R.¹, S. Mariotto², L. Centofante³, P.P. Parise-Maltempi¹. ¹Programa de Pósgraduação em Ciências Biológicas (Biología Celular e Molecular), Instituto de Biociencias, UNESP Universidade Estadual Paulista. ²Instituto Federal de Ciências e Tecnologia do Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil. ³Instituto de Biociencias, UFMT Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil.
E-mail: kethy-rs@hotmail.com

Satellite DNA (satDNAs) are the most dynamic components of eukaryote genome. They are tandem repeats of about 100 to 500 pb, generally with hundreds or thousands of copies. They are commonly located in the pericentromeric and centromeric chromosome regions, and in some cases in heterochromatic regions of sex chromosomes. Nowadays, the genera *Ancistrus* shows 74 species described and a lot of them are not identified yet. *Ancistrus* sp. addressed in this work is from Curupira river in Paraguay basin (Mato Grosso) and show a 2n=44 and ZZ/ZW karyotype. The objective of this work was to isolate and characterize satellite DNA sequences in *Ancistrus* sp. genome. The genome of the species was sequenced through Illumina next-generation sequencing (NSG) that generated 175 clusters identified as a putative satellites, minisatellites and transposons by a software Repeat Explorer. Among them, a sequence of 142 pb named as K7355-1, that showed a characteristic layout of satellite DNA was used as a probe in hybridization *in situ* experiments. It was observed chromosome signals in centromeric regions of almost all chromosomes. This result contributes to the study of genomic organization of the specie corroborating the fact that centromeric regions, rich in constitutive heterochromatin, show a lot of repetitive sequences. Thus, satellite DNAs may play a role both in controlling of formation or maintenance of heterochromatin or possible expression of particular genes that codified proteins, as well as to demonstrate that the Next Generation Sequence is a useful tool to analyze cytogenomics.

GGM 19

POLIMORFISMO EN LA SECUENCIA GENÓMICA COMPLETA ENTRE UN CULTIVAR ARGENTINO Y UNA ESPECIE SILVESTRE DE TOMATE (*Solanum* SPP.)

Cambiaso V.^{1,2}, J.H. Pereira da Costa^{1,2}, G.R. Rodríguez^{1,2}, G.R. Pratta^{1,2}, L.A. Picardi^{1,3}, D.M. Francis⁴, R. Zorzoli^{1,3}. ¹Cátedra de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina. ²CONICET. ³CIUNR. ⁴Department of Horticulture and Crop Science, Ohio State University, Ohio, USA. E-mail: vladimir.cambiaso@unr.edu.ar

Actualmente con nuevas técnicas de secuenciación y teniendo un genoma de referencia, se han conocido las secuencias de más de 400 genomas de tomates cultivados y silvestres. El objetivo del trabajo fue analizar el polimorfismo entre la secuencia genómica del cultivar argentino Caimanta (C) de *S. lycopersicum* y la entrada LA0722 (P) de *S. pimpinellifolium*. El ADN fue secuenciado con un equipo Illumina HiSeq2500. Se obtuvieron para cada genotipo lecturas apareadas de 101 pares de bases (pb) a partir de ambos extremos de cada molécula de ADN. Los programas Bowtie2, Picard y GATK se utilizaron para alinear ambas secuencias al genoma de referencia, organizar y filtrar las secuencias por su calidad y detectar las variantes genéticas entre ambos genomas. Se utilizó VCFTools para trabajar sobre las listas de polimorfismos encontrados. Se obtuvieron 127.746.858 y 132.442.070 lecturas de fragmentos logrando una profundidad promedio de cobertura de 15,35X y 15,79X para C y P respectivamente. Al comparar los genomas se detectaron 1.081.626 polimorfismos de una sola base (SNP) y 316.430 inserciones/deleciones (INDEL) distribuidos en los 12 cromosomas. El cromosoma más polimórfico fue el 8 (130.590 SNP y 37.397 INDEL) y el menos polimórfico el cromosoma 3 (44.480 SNP y 14.765 INDEL). Los resultados permitirán construir un mapa saturado con marcadores de ADN desarrollados en base al polimorfismo encontrado y detectar *QTLs* en poblaciones derivadas del cruzamiento entre C y P. Se concluye que se ha detectado un alto nivel de polimorfismo entre estos dos genotipos para todos los cromosomas.

GGM 20

BÚSQUEDA DE POLIMORFISMOS MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA DE GENES RELACIONADOS AL DESARROLLO REPRODUCTIVO DE TOROS GUZERAT

Lirón J.P.¹, A.M. Loaiza Echeverri², M.E. Fernández¹, M. Drummond², D.E. Goszczynski¹, M.R.J.M. Henry², G. Giovambattista¹, D.A. Andrade de Oliveira². ¹IGEVET-Instituto de Genética Veterinaria (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. ²Escuela de Veterinaria, Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil. E-mail: juanpedroliron@gmail.com

El desarrollo reproductivo está regulado por factores genéticos y ambientales. Entre los caracteres reproductivos, la pubertad es una característica importante en producción animal, y en bovinos existe una marcada diferencia en la edad de inicio de la pubertad, dentro y entre razas. Guzerat es una de las principales razas cebuinas criadas en Brasil para producción de carne. La identificación de genes y polimorfismos que expliquen la variación de este carácter permitiría la selección temprana de toros precoces, aumentando el progreso genético en el mejoramiento de esta raza. El objetivo del trabajo fue detectar polimorfismos genéticos en genes relacionados al desarrollo sexual. Para esto, se secuenciaron 730 amplicones correspondientes a regiones codificantes, promotoras y reguladoras 5'UTR y 3'UTR de 127 genes candidatos en 96 animales machos de la raza Guzerat, mediante la tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS) utilizando un secuenciador MiSeq (Illumina Inc.). Se filtraron los datos por calidad de secuencia, se alinearon las secuencias al genoma *Bos taurus* de referencia y se realizó la detección y genotipificación de polimorfismos de tipo SNP e indels. Del total de polimorfismos hallados en los 300.000 pb secuenciados, luego de aplicar el filtro por calidad y $MAF > 0,05$, se obtuvieron 838 SNPs, que corresponden a 1 SNP cada 358 pb, y 375 indels. Estos últimos corresponden a 1 indel cada 800 bp; sin embargo muchos pueden ser artefactos de la técnica. Como continuación de este trabajo, los polimorfismos serán asociados a caracteres reproductivos en la raza estudiada.

GGM 21

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD BOVINO MEDIANTE UN ARREGLO DE SNPS

Goszczyński D.E.¹, M.E. Fernández¹, A. Rogberg-Muñoz¹, J.P. Lirón¹, H.F. Morales Durand¹, D.M. Posik¹, M.H. Carino¹, P. Peral García¹, G. Giovambattista¹. ¹IGEVET-Instituto de Genética Veterinaria (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
E-mail: guillermogiovambattista@gmail.com

El Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) bovino es una región cromosómica de aproximadamente 21.984 Kb que incluye genes que cumplen un rol central en la respuesta inmune, y por lo tanto, en los mecanismos de resistencia/susceptibilidad a enfermedades infecciosas y autoinmunes. Es por esta razón que el estudio de la estructura y variabilidad del MHC (denominado BoLA en bovinos) es de gran interés para las ciencias biológicas. En el presente estudio se analizaron 5.585 SNPs en 185 animales correspondientes a seis razas bovinas mediante la tecnología Axiom. Se estimaron los valores de *callrate*, frecuencia promedio del alelo menor (MAF), heterocigosidad esperada (He), bloques de ligamiento (LD) y distancia promedio entre marcadores. Los resultados obtenidos mostraron un valor promedio de *callrate* de 99,48 (26,50 a 100) para los marcadores utilizados. El valor de MAF resultó de 0,23 (0 a 0,5), resultando en un valor de He de 0,31 (0 a 0,616). El análisis de LD permitió identificar 1.165 bloques de ligamiento con un tamaño que varió entre 2 y 29 marcadores, siendo la distancia promedio entre marcadores de 3.937 Kb. Según lo esperado, estos valores variaron considerablemente cuando las razas se analizaron en forma independiente. Los análisis realizados pusieron en evidencia que los marcadores utilizados presentan suficiente información, tanto en razas taurinas como cebuinas, para futuros estudios de variabilidad genética del BoLA y de asociación con caracteres sanitarios y de producción.

GGM 22

EVALUACIÓN DE MATERIAL DE PARTIDA NECESARIO PARA EXTRACCIÓN DE ADN DE COLEÓPTEROS MEDIANTE UTILIZACIÓN DE KIT COMERCIAL

Moreno Ruiz Holgado M.M.¹, E. Martín^{1,2}, M. Bonano¹. ¹Facultad de Ciencias Naturales e IML. ²Fundación Miguel Lillo.
E-mail: eduardomartin76@gmail.com

La extracción y purificación de ácidos nucleicos constituye la primera etapa de la mayoría de los estudios de biología molecular. Los diferentes protocolos de extracción buscan optimizar la cantidad y pureza de ADN obtenido, como así también garantizar la eliminación de inhibidores potenciales que entorpezcan reacciones posteriores de ligación, clonación y secuenciación. Si bien los kits comerciales son eficaces para extracción de ADN genómico de una amplia variedad de materiales (*e.g.*: sangre, cultivos celulares, tejido animal, levaduras, etc.), estos generalmente no están ajustados para la extracción en invertebrados como ser de tejidos de Coleópteros (*e.g.*: *Astylus atromaculatus* y *Cycloneda sanguinea*). Además, la cantidad de tejido de partida sugerido en los kits es de 25 mg (*e.g.*: animales) y debemos tener en cuenta que un individuo completo de *A. atromaculatus* pesa 23 mg aprox. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar el mínimo de tejido necesario para obtener una extracción de ADN exitosa en Coleópteros con un kit comercial, para lo cual se testearon diferentes cantidades de tejido de partida de las especies mencionadas. La efectividad de la extracción de ADN se corroboró mediante corrida electroforética. La cantidad mínima de material de partida necesario para una extracción exitosa fue de 3 mg aprox. Si bien los análisis biológicos que requieren la conservación de la integridad morfológica del espécimen no serán posibles con esta extracción, podemos concluir que el kit produce extracciones exitosas de ADN en Coleópteros con baja cantidad de material de partida.