

GGM 1

CELLULAR AND MOLECULAR ANALYSIS OF ANXA1Ac2-26 EFFECT IN CERVICAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Moreira H.T.¹, L.T. Cardin¹, B.R. Cunha², E.H. Tajara², S.M. Oliani¹, F.C. Rodrigues-Lisoni³. ¹Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, SP, Brazil. ²Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, FAMERP, São José do Rio Preto, SP, Brazil. ³Departamento de Biologia e Zootecnia, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, FEIS/UNESP, Ilha Solteira, SP, Brazil.
Email: flavialisoni@hotmail.com

Cervical cancer is the second most common cancer in women worldwide and is the fourth leading cause of cancer deaths in developing countries. Cervical carcinogenesis is related to genetic alterations, infection by the Human Papilloma virus (HPV) and increased angiogenesis and inflammation. Annexin-A1 (ANXA1), 37 kDa protein, which is expressed by tumor cells acts as a modulator of the inflammatory process. In the present study, we investigated the effect of the exogenous ANXA1 (peptide ANXA1Ac2-26) on cell morphology, proliferation and migration, pro-inflammatory cytokines and gene expression in cervical squamous cells carcinoma (SiHa) cell line. SiHa cell line was treated with ANXA1Ac2-26 at concentration of 3 μ M for 2, 4, 24, 48 and 72 hours. Cell morphology was observed under an inverted microscope; proliferation was measured by growth curve and cell migration was assayed using a migration approach. Pro-inflammatory cytokine and COX-2, EP3, EP4, MMP2, MMP9, TIMP1 and TIMP2 gene expression in control and ANXA1Ac2-26 treated samples was evaluated by Multiplex Magpix analyzer and quantitative PCR, respectively. ANXA1Ac2-26 promoted a significant decrease of cell proliferation and migration, but no change in cell morphology. The expression of interleukin 6 (IL-6) and COX-2, TIMP2 and EP4 genes was also reduced after ANXA1Ac2-26 treatment. A better understanding of the regulatory mechanisms of ANXA1 may lead to future biological targets for the therapeutic intervention of human cervical cancer.

GGM 2

GENOMA MITOCONDRIAL, LONGITUD TELOMÉRICA Y METILACIÓN GÉNICA NUCLEAR EN TUMORES MAMARIOS HUMANOS

Cané L.¹, M.L. Longarzo¹, E. Cálcena¹, P. Peltomäki², S.M. Richard¹, A.D. Bolzán¹, W.H. Pavicic^{1,3}. ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), CCT-CONICET-CICPBA, La Plata, Argentina. ²Department of Medical and Clinical Genetics, University of Helsinki, Helsinki, Finland. Email: wpavicic@imbice.gov.ar

La alteración en metilación de genes nucleares, número de copias de ADNmt y longitud telomérica juegan un papel importante en la carcinogénesis humana. Varios genes TSGs (*Tumor Suppressor Gene*) y microARNs poseen islas CpG asociadas a la regulación epigenética de su expresión. La variación de ADNmt (NC) induciría cambios de metilación en genes nucleares. La disfunción telomérica estaría asociada a la biogénesis mitocondrial. El estudio se realizó sobre 62 muestras pareadas T/N (Tumoral/No-tumoral adyacente) de pacientes con carcinoma mamario. Se evaluó por el método de MS-MLPA la metilación de 24 TSGs y 10 miRNAs, el indicador de metilación global LINE-1 y el fenotipo CIMP (*CpG island methylator phenotype*). Se cuantificó la longitud telomérica y el NC ADNmt por qPCR. Se encontró disminución significativa de NC ADNmt (\square 24 %, $p < 0,01$; $N > T$) en 63% de los casos. Comparando *T vs. N* obtuvimos: hipermetilación en microARNs 124a1/2/3, 148a, 152; hipometilación en 208a, 373 ($p < 0,001$). Los TSGs APC, CDH13 y RASSF1, y los marcadores de CIMP RUNX3, NEUROG1 y IGF2 presentaron hipermetilación ($p < 0,001$). Mir-124a2/3 presentaron correlación significativa ($p = 0,04$ y $p = 0,03$) entre NC ADNmt y niveles de metilación. RASSF1 ($p = 0,03$, $\rho = -0,3$) presentó una correlación inversa entre metilación y copias de ADNmt en tejido tumoral. IGF2 presentó correlación significativa ($p < 0,01$, $r = 0,5$) entre longitud telomérica y niveles de metilación de su promotor. En conclusión, la reducción de ADNmt y la variación en metilación de genes nucleares son eventos frecuentes y relacionados en tejido canceroso mamario.

GGM 3

ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL ONCOMIR HSA-MIR-183 Y EL SUPRESOR DE TUMOR PDCD4 EN CÁNCER DE PRÓSTATA

Oliveira-Rizzo C.^{1,2}, R. Fort¹, S. Chávez¹, G. Eastman³, J. Sotelo³, M. Duhagón^{1,2}. ¹Laboratorio de Interacciones Moleculares, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. ²Departamento de Genética, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay. ³Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay.
Email: coliveira@fcien.edu.uy

El cáncer de próstata (PCa) es una de las enfermedades oncológicas de mayor incidencia en el mundo y aún requiere del desarrollo de nuevos biomarcadores. Los microARNs (miRs) son pequeños ARNs que regulan la expresión génica interaccionando con secuencias complementarias en la 3'UTR de sus ARNm blanco. Su amplia desregulación en cáncer les proporciona un valor diagnóstico, pronóstico y predictivo de la progresión de la enfermedad. Nuestro grupo estudia la función de hsa-miR-183-5p, un miR que muestra un incremento de abundancia en tejido tumoral, sugiriendo su función como oncogén. Evidencia previa nos llevó a seleccionar a Pdc4 como gen candidato a blanco de represión directa por este miR. Pdc4 es un supresor de tumor que funciona como represor traduccional de ARNm específicos. Realizamos ensayos de genes reporteros en líneas celulares de PCa transfectadas con imitadores e inhibidores de este miR, que muestran que este gen constituye un blanco directo y de secuencia-específico de hsa-miR-183-5p. Adicionalmente, determinamos por inmunocitoquímica que el miR modula los niveles de la proteína Pdc4 endógena producida por las líneas celulares. Con el fin de estudiar la relevancia clínica de esta interacción en PCa, analizamos las muestras de adenocarcinoma prostático disponibles en *The Cancer Genome Atlas*. Se estudiaron las correlaciones entre la expresión del miR y Pdc4 (transcripto y proteína) así como también entre la expresión de Pdc4 y sus posibles blancos traduccionales. Nuestros resultados sugieren que hsa-miR-183-5p podría actuar como oncogén en PCa.

GGM 4

IMPACT POLYMORPHISMS OF IL-6 AND IL-10 INTERLEUKINS IN INDIVIDUALS WITH DOWN SYNDROME

Mattos M.F.¹, P.M. Biselli-Chicote¹, T.L.S. Assembleia¹, L. Ubach¹, E.M. Goloni-Bertollo¹, E.C. Pavarino¹. ¹Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular, UPGEM, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, FAMERP, São José do Rio Preto, SP, Brasil.
Email: erika@famerp.br

The Down Syndrome (DS) is the most frequent human chromosomal abnormality. The individual with DS presents some clinical features, including immunological changes that result in increased frequency of infections and autoimmune diseases. However, the etiological base of the immune changes in individuals with DS is not totally known. This study investigated the frequency of genetic polymorphisms *IL-6* (rs15800795), *IL-6* (rs15800796), *IL-6* (rs15800797), *IL-10* (rs1800872), *IL-10* (rs1800871), *IL-10* (rs1800896) in individuals with DS and without it. The study included 343 individuals, 196 with DS and 147 without DS (Control Group). Genotyping was performed by allelic discrimination technique through real time PCR using commercial assays TaqMan SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems®) or restriction enzyme analysis of PCR products. The heterogeneity of polymorphism frequencies among populations were tested using Logistic regression test by SNPSTATS online site. The haplotype frequencies and linkage disequilibrium were inferred using the Haploview program. The genotype frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium in both groups. There was no difference in the genotypic distribution and haplotypes frequencies between DS and without DS individuals for the polymorphisms evaluated ($p > 0.05$). Haplotype analysis showed that *IL-06* and *IL-10* are in strongly linkage disequilibrium. The frequency of polymorphisms analyzed does not differ significantly between individuals with DS and control in the casuistic analyzed.

GGM 5

POLYMORPHISMS IN MTHFR GENE AND MIR-149 MAY CONTRIBUTE TO THE INCREASED RISK OF CONGENITAL HEART DEFECTS IN DOWN SYNDROME?

Santos M.F.¹, A.A. Silva¹, J.M. Biselli-Périco^{1,2}, E.M. Goloni-Bertollo¹, E.C. Pavarino¹. ¹Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular, UPGEM, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, FAMERP, SP, Brasil. ²Departamento de Biologia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (IBILCE/UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil.
Email: erika@famerp.br

Folate plays an important role during embryologic development, including the development of the cardiovascular system. Congenital heart defects (CHD) occur in nearly half of individuals with Down syndrome (DS), highly relevant to infant mortality. Genetic variants in folate pathway genes as Metylenetetrahydrofolato redutase (*MTHFR*) gene are known to modulate the risk of CHD in DS. *MTHFR* expression is mediated by microRNAs (miRNAs) and then polymorphisms in miRNAs may also modify this metabolism. The aims of the study were to assess the effect of *MTHFR* (rs4846049 and rs4846048) and miR-149 polymorphisms as risk factors for CHD in DS. One hundred thirty-nine individuals with DS (80 with CHD and 59 without heart disease) were recruited from the Genetics Service of Hospital de Base, São José do Rio Preto, SP, Brazil. Genotype analyses for the polymorphisms were performed using the polymerase chain reaction (PCR) in real time. Logistic regression considering either the dominant model or recessive model for the effect of the polymorphisms was performed. No association between *MTHFR* rs4846048, rs4846049 and miR-149 polymorphisms and CHD in DS was observed (Dominant model: OR=0.71; 1.30; 1.17, P=0.41; 0.52; 0.65 respectively; Recessive model: OR=0.87; 0.64; 0.62, P=0.81; 0.43; 0.28 respectively). Our study does not support the hypothesis of association between these polymorphisms in the risk of CHD. However, larger studies and evaluations in other polymorphisms of the folate pathway genes are required to better understanding.

GGM 6

DIFFERENTIAL EXPRESSION PROFILE OF GENES INVOLVED IN THE ANTIOXIDATIVE METABOLISM IN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Pedro N.F.¹, A. Russo¹, J.M. Biselli-Périco², L.S. Raposo³, J.V. Maniglia³, D. Santi-Neto⁴, E.C. Pavarino¹, E.M. Goloni-Bertollo¹, P.M. Biselli-Chicote¹. ¹Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular, UPGEM, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, FAMERP. ²Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", UNESP. ³Departamento de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, FAMERP. ⁴Serviço de Patologia, Hospital de Base de São José do Rio Preto, Brazil.
Email: patriciabiselli@famerp.br

Susceptibility to the oral cancer is associated to genetic inheritance and/or environmental factors. Metabolism and excretion of exogenous compounds, such as tobacco and alcohol, depends on the activity of cytochrome P450 family and antioxidants enzymes. Imbalance on the enzyme activity can produce excess of reactive oxygen species (ROS) and contribute to oxidative stress, alteration of inflammation, angiogenesis, apoptosis and cell aging processes, leading to the cancer development. The study aiming to evaluate the expression profile of genes involved in the antioxidative metabolism in oral squamous cell carcinoma. Gene expression quantification was performed in oral tumor samples and adjacent non-tumor tissues by qPCR. Statistical analysis was performed by One-Sample T Test, Wilcoxon Signed Rank Test and Mann-Whitney Test. Twenty genes showed differential expression between oral tumors and non-tumor tissues ($p < 0.05$). *SOD2*, *ATOX1*, *PRDX4* and *PRNP* genes presented overexpression and *PRDX1*, *GSR*, *SOD1*, *CAT*, *CSDE1*, *ALOX12*, *GPX3*, *OXS1*, *DHCR24*, *DUOX1*, *DUOX2*, *EPHX2*, *GLRX2*, *GSTZ1*, *SOD3* and *OXR1* presented down expression. Genes that encode enzymes involved in the antioxidative metabolism exhibit differential expression in oral squamous cell carcinoma. Alteration in the expression of these genes can lead to disruption of metabolic pathways that are important to the oral carcinogenesis such as metabolism of exogenous xenobiotic compounds, glutathione, arachidonic acid, chemical carcinogenesis, steroid biosynthesis, peroxisome, ROS detoxification, mTOR and PI3K-AKT signaling pathway.

GGM 7

microRNA EXPRESSION ANALYSIS OF BRAZILIAN PEDIATRIC ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL): DISTINCT REGULATION BETWEEN B- AND T-CELL ALL

Almeida R.S.¹, S.C.S. Andrade^{2,3}, L.L. Coutinho², E.A. Donadi⁴, N. Lucena-Silva^{1,5}. ¹Department of Immunology, Aggeu Magalhães Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, FIOCRUZ-PE, Recife, PE, Brazil. ²Department of Animal Biotechnology, University of São Paulo (USP), Piracicaba, SP, Brazil. ³Institute of Biosciences, University of São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil. ⁴Division of Clinical Immunology, Department of Medicine, University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil. ⁵Pediatric Oncology, The Professor Fernando Figueira Integral Medicine Institute (IMIP Hospital), Recife, PE, Brazil. Email: renatabiologia@gmail.com

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a common childhood hematologic disorder classified in two major types: B- and T-ALL. MicroRNAs (miRNAs) play an important role in cell differentiation and malignant transformation, and have been less studied in Brazilian patients, particularly in those from Northeast region. We aimed to investigate differentially expressed (DE) miRNAs between newly diagnosed pediatric B- and T-ALL patients referred to IMIP Hospital in Recife-PE, Northeast Brazil. Bone marrow from eight patients of each disease were collected (B-ALL, median age=5.5, 7M, 1F; T-ALL, median age=11.5, 7M, 1F). RNA obtained with TRIzol was used for library construction (Illumina Small RNA Kit) and sequencing was performed in HiSeq platform. FastQC, Cutadapt, miRDeep2, miRBase and edgeR were used to miRNA identification and DE analysis. miRNAs with $FDR \leq 4 \times 10^{-4}$ were selected and targets were obtained from miRTarBase. Functional annotation (FA) was performed for miRNA targets using DAVID tools (Kegg Pathways), considering corrected P -value ≤ 0.05 . 10 DE miRNAs were identified between B- and T-ALL, with 1 up-regulated ($\log_{2}FC = 3.0$) and 9 down-regulated ($\log_{2}FC < -4.0$) in T-ALL. FA revealed 35 enriched Kegg pathways, including several solid and hematologic cancer pathways, and cell signaling pathways related to immune system. We conclude that DE miRNAs might influence many biological processes related to cancer development and cell lineage commitment.

GGM 8

UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA ACCIÓN NEUROPROTECTORA DEL FLAVONOIDE QUERCETINA FRENTE AL DAÑO HIPÓXICO TRAS ASFIXIA PERINATAL

Cardozo V.¹, L. Lopez², L. Vaamonde³, F. Blasina⁴, D. Agrati¹, M. Zuluaga¹, A. Parodi^{1,2}, G. Bedó¹. ¹Facultad de Ciencias, Udelar, Uruguay. ²Instituto Pasteur, Uruguay. ³Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay. ⁴Hospital de Clínicas, Uruguay. Email: cardozo.viviana@gmail.com

La asfixia perinatal es una de las principales causas de daño cerebral en recién nacidos. Esta situación clínica resulta en una mortalidad significativa, e incluso si se alcanza la supervivencia, la injuria hipóxica puede determinar trastornos neurológicos, emocionales, sociales y de aprendizaje. Hasta la fecha, no existe un tratamiento exitoso para las EHI severas, lo que hace necesaria la búsqueda de nuevas estrategias de neuroprotección, de rápida acción y fácil aplicación. En este sentido, hemos venido trabajando en la caracterización de los cambios moleculares que subyacen al tratamiento con el flavonoide quercetina tras la asfixia perinatal en un modelo de cerdo recién nacido. Se ha demostrado que dicho compuesto es capaz de ejercer un efecto protector, pero su eficacia y mecanismo de acción aún no ha sido completamente elucidado. Para profundizar en la evaluación de las propiedades neuroprotectoras de la quercetina, durante el período neonatal, implementamos un modelo de asfixia severa en ratas recién nacidas, y ensayamos la administración intranasal de la quercetina, determinando su biodisponibilidad cerebral. Hemos logrado estandarizar el modelo, logrando reanimar crías hasta con 19 minutos de asfixia, y logrado la administración de la dosis adecuada de quercetina. En los animales sometidos a hipoxia se ha medido la inducción del factor HIF-1 α y se caracteriza el patrón de expresión global mediante estudios proteómicos. La protección frente a las alteraciones neurológicas es evaluada mediante pruebas comportamentales.

GGM 9

PATTERNS OF microRNA EXPRESSION IN BRAZILIAN PEDIATRIC ACUTE LEUKEMIA: DIFFERENCES BETWEEN ACUTE MYELOID AND B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

Santos J.F.^{1,2}, R.S. Almeida², S.C.S. Andrade^{3,4}, L.L. Coutinho³, E.A. Donadi⁵, N. Lucena-Silva^{2,6}. ¹Biomedicine Program, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil. ²Department of Immunology, Aggeu Magalhães Research Center, Oswaldo Cruz Foundation - FIOCRUZ-PE, Recife, PE, Brazil. ³Department of Animal Biotechnology, University of São Paulo (USP), Piracicaba, SP, Brazil. ⁴Institute of Biosciences, University of São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil. ⁵Division of Clinical Immunology, Department of Medicine, University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil. ⁶Pediatric Oncology, The Professor Fernando Figueira Integral Medicine Institute (IMIP Hospital), Recife, PE, Brazil. Email: jair.figuereado.dos.santos@gmail.com

Acute Myeloid Leukemia (AML) and B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL) are acute forms of leukemia characterized by malignant transformation of blast cells. MicroRNAs (miRNAs) have been related as relevant key players in hematologic malignancies. This study aims to identify differentially expressed (DE) miRNAs between AML (6 M and 2 F) and B-ALL (7 M and 1 F) patients referred to IMIP Hospital in Recife, PE, Brazil. Eight bone marrow (BM) samples (patients) for each type of childhood leukemia were obtained and RNA were extracted and used for miRNAs library construction (Illumina Small RNA Kit). miRNAs sequencing was performed in HiSeq platform and data analyzed with FastQC, Cutadapt, miRDeep2, miRBase and EdgeR for DE determination. False Discovery Rate $\leq 5 \times 10^{-4}$ was considered in analysis and miRNA targets were obtained from miRTarBase. MiRNA targets were functionally classified using DAVID tools (Kegg Pathways), considering corrected *P*-value ≤ 0.05 . We identified 27 DE miRNAs between AML and B-ALL, with 15 up-regulated and 12 down-regulated in B-ALL. The induced miRNAs presented logFC above 2.0 and those repressed logFC ≤ -2.9 . Functional classification revealed 21 enriched Kegg pathways related to solid cancer, myeloid leukemia, and also to cell signaling pathways, including p53 and MAPK. We conclude that several miRNAs are differently regulated in these leukemia types and might contribute to distinct malignant mechanisms responsible for disease phenotypes.

GGM 10

DETERMINING THE GENETIC BASIS OF EPIDERMOLYSIS BULLOSA SYMPTOMS THROUGH GENOTYPE-PHENOTYPE ASSOCIATIONS AND NGS

Fuentes I.^{1,2}, P. Morandé¹, C. Fuentes^{1,3}, M.J. Yubero^{1,3}, M.E. Mc Nab¹, G. Repetto^{2,3}, S. Krämer^{1,4}, A. Kantor⁵, F. Mellado⁵, A. Klausegger⁶, J. Bauer⁶, F. Palisson^{1,3}. ¹Fundación DEBRA, Chile. ²Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. ³Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. ⁴Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ⁵Fundación Oftalmológica Los Andes. ⁶Department of Dermatology, EBHouse Austria, Paracelsus Medical University, Salzburg, Austria. Email: ignacia.fuentesbustos@gmail.com

Among rare diseases, one of the most dramatic examples is Epidermolysis bullosa (EB), also referred as to “butterfly children” due to the extreme skin fragility these patients have. This disorder is characterized by its large genetic and clinical heterogeneity, caused by mutations in 18 genes and resulting in more than 30 different clinical subtypes, which enormously difficult its diagnosis and prognosis specially at the neonatal period where they all look very similar. In this multicentric study, we have used next generation sequencing (NGS) technology together with a high quality, detailed and extensive clinical evaluation to explore into the genetic basis of EB symptoms. Our cohort expanded to more than 100 Chilean patients from all EB types and clinical evaluations in four different health specialty areas: dermatology, pediatrics, ophthalmology and dentistry. Preliminary results from the first two years of the project have already demonstrated population-specific genetic variation with clinical significance. Results obtained from this research will largely contribute to the worldwide understanding of how the genotype influences the phenotype in EB. Moreover, these results will be collected as a comprehensive genotype-phenotype database that will be available for clinicians all over the world, helping them for making a correct diagnosis, deciding how to treat and counsel patients and giving EB patients the chance to aim for a personalized treatment in the future.

GGM 11

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE FAMILIAS CON DISPLASIA ECTODÉRMICA ANHIDRÓTICA: REPORTE DE UNA NUEVA MUTACIÓN EN EL GEN *EDA*

Valinotto L.E.¹, A.S. Mistchenko¹, J.A. Massimo², G.B. Manzur^{1,3}, M.I. Natale¹. ¹CEDIGEA, Htal. de niños "R. Gutiérrez". ²Servicio de Dermatología Htal. de Niños "R. Gutiérrez", Buenos Aires, Argentina.

Email: valinottohrg@gmail.com

Las displasias ectodérmicas (DE) son un amplio grupo de genodermatosis que se caracterizan por la alteración de estructuras derivadas del ectodermo. Aunque algunos de estos síndromes poseen características específicas, determinados rasgos clínicos son comunes en muchos de ellos. La DE anhidrótica ligada al X (DEAHX) está asociada a mutaciones en el gen *EDA*. Este gen codifica la ectodisplasina-A la cual participa en una de las vías de señalización que modulan la actividad de la molécula NF-κB. Debido al modo de herencia, los hombres afectados muestran todas las características típicas de la enfermedad o gran parte de ellas, mientras que las mujeres portadoras sólo muestran manifestaciones parciales. Los rasgos clínicos distintivos incluyen alteraciones en el pelo (hipotricosis), los dientes (hipodoncia) y la sudoración (hipohidrosis). Objetivo: Realizar el diagnóstico molecular de pacientes con sospecha clínica de DEAHX. Materiales y métodos: se secuenció el gen *EDA* a partir de muestras de sangre en cuatro familias con diagnóstico presuntivo de DEAHX. Se realizó la detección de mutaciones siguiendo como estrategia la amplificación de exones por PCR con cebadores ubicados en los intrones flanqueantes. Resultados: Se detectaron en todas las familias mutaciones en el gen *EDA* una de las cuales, ubicada en el exón 2, es descripta por primera vez en este trabajo (p.Ser160Arg).

GGM 12

ANÁLISIS MOLECULAR DE CITOQUERATINAS: HALLAZGO DE NUEVAS MUTACIONES ASOCIADAS A EPIDERMÓLISIS BULLOSA SIMPLE

Natale M.I.¹, A. Mistchenko¹, I. Cella², L. Profilo^{1,3}, J.A. Massimo³, G.B. Manzur^{1,3}, L.E. Valinotto¹. ¹CEDIGEA Hospital Gutiérrez.

²Hospital Garrahan. ³Hospital Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina.

Email: minatale@hotmail.com

Las citoqueratinas son responsables del mantenimiento de la estructura celular y de los tejidos confiriendo protección ante traumatismos mecánicos. Son además reguladores de la fisiología celular, de las vías de señalización intracelular, la apoptosis y la cicatrización. Mutaciones en genes de citoqueratinas están asociadas a diversas genodermatosis: epidermólisis ampollar simple (EAS), eritrodermia ictiosiforme congénita ampollar (EICA) y queratodermias palmo-plantares. El objetivo fue secuenciar los genes *KRT14*, *KRT5*, *KRT1* y *KRT10* en pacientes con diagnóstico clínico de EAS, EICA y sus familiares. Analizar las mutaciones encontradas, relacionar los hallazgos con los descriptos en la literatura y evaluar la relación entre genotipo y fenotipo. Se evaluaron 10 familias con características clínicas sugerentes de EAS o EICA. Se realizó la detección de mutaciones por secuenciación Sanger de los genes candidatos (*KRT5* y *KRT14* para EAS; genes *KRT1* y *KRT10* para EICA). Se encontraron mutaciones en el gen *KRT14* en 5 familias; en el gen *KRT5* en 4 familias y una familia con una mutación en el gen *KRT10*. Se describen por primera vez en este estudio dos mutaciones asociadas a EAS. Adicionalmente se encontraron mutaciones ya descriptas en literatura asociadas a EAS generalizada, EAS localizada y a EAS con pigmentación moteada. La mutación en *KRT10* se presentó en una familia con EICA. Este conocimiento nos permitió predecir la evolución de la enfermedad en cada paciente y optimizar los tratamientos para reducir las complicaciones.

GGM 13

THE TRANSCRIPTIONAL CO-REPRESSOR SKI LOCALIZES ON SATELLITE DNA IN HUMAN MITOTIC CHROMOSOMES, REGULATING H3K9 TRIMETHYLATION IN THOSE REGIONS

Pola V.¹, E.A. Sagredo^{1,2}, D. Carrero¹, C. Cappelli¹, A.I. Sagredo², C.B. Lindsay¹, A. Miranda¹, C. Vargas¹, R. Coñuecar¹, R. Armisén², K. Marcelain¹. ¹Programa de Genética Humana, ICBM y Centro de Investigación y Tratamiento del Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Centro de Excelencia en Medicina de Precisión, Pfizer.
Email: vpola02@hotmail.com

Ski is a transcriptional co-repressor involved in TGF β and other signaling pathways. We recently found that Ski is located at the pericentromeric region in some mitotic chromosomes of mouse fibroblasts (MEFs and NIH3T3). In those regions, Ski is associated to Major Satellite (MaSat) and the absence of the protein in Ski -/- MEFs, resulted in a significant decrease of H3K9 trimethylation (H3K9me3), a critical modification for pericentromeric heterochromatin formation. In human cells, the localization and potential function of Ski protein on chromosomal structure have not been studied so far. In this work, we addressed the localization of Ski in human chromosomes by indirect immunofluorescence (IFI) on metaphase chromosome spreads and chromatin immunoprecipitation assays (ChIP-qPCR) in MCF-7 and MCF10A human cell lines. We found that Ski localizes at the pericentromeric region of several acrocentric chromosomes. To identify satellite DNA occupied by Ski, we designed chromosome-specific primers for Beta Satellite (BSR) and Human Satellite II (HSatII) using RepeatMasker tool (UCSC). ChIP-qPCR assays, showed a significant enrichment of Ski occupancy in BSR at chr 15, and HSatII at chr 22. Knocking-down Ski by specific shRNA, resulted in decreased levels of H3K9me3 in those regions. Altogether, this data suggests a potential function of Ski on pericentromeric heterochromatin maintenance in human chromosomes, which could have a significant impact on chromosome segregation and genome stability.

GGM 14

DIAGNÓSTICO PARA LA PRESENCIA DE CUERNOS EN OVINOS MERINO A TRAVÉS DEL USO DE HERRAMIENTAS GENÓMICAS

Goldberg V.¹, F. Macedo², F. Pieruccioni³, E.A. Navajas³, G. Ciappesoni¹. ¹Programa Nacional de Carne y Lana, INIA. ²Facultad de Veterinaria, UdelaR. ³Unidad de Biotecnología, INIA, Uruguay.
Email: vgoldberg@inia.org.uy

La presencia/ausencia de cuernos en carneros Merino estaría determinada por la acción de un gen simple denominado P (del inglés *polled*). Hay 3 combinaciones posibles: PP (mochos), Pp (mochos o con diversas formaciones óseas) y pp (cuernos comunes). El tener una majada con animales mochos conlleva a las siguientes ventajas: menor susceptibilidad a las miasis, menores pérdidas por accidentes, mayor facilidad de manejo, y mayor producción de lana y carne. A su vez, actualmente en países como Australia, se paga un sobreprecio por carneros con genotipo mocho con respecto a los astados. El testaje del gen P se basa en un marcador situado cerca del gen que provee la información sobre la combinación de alelos. En el presente estudio se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas para el SNP OAR10_29389966_X.1 a partir del genotipado de muestras de ADN de animales de diferentes razas. Las frecuencias genotípicas para Corriedale, Texel, Criollo uruguayo y Merino Australiano fueron las siguientes: AA (mocho) 0,76; 0,00; 0,00 y 0,08; AG 0,19; 0,42; 0,00 y 0,26; y GG (astado) 0,05; 0,58; 1,00 y 0,66, respectivamente para cada raza. Por lo tanto, la frecuencia del genotipo AA es muy baja en animales Merino en Uruguay, siendo la mayoría de los individuos astados. Se podría comenzar a implementar una estrategia a través del genotipado de este marcador en los padres y madres, con el fin de ir reduciendo la incidencia de la frecuencia alélica causante de la presencia de cuernos en nuestras majadas.

GGM 15

ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE LAS TORTUGAS MARINAS CABEZONA Y CAREY ANIDANTES DEL CARIBE COLOMBIANO

Hernández Fernández JA. Universidad Jorge Tadeo Lozano, Colombia.

Email: javier.hernandez@utadeo.edu.co

Se pre-procesaron y ensamblaron 8 librerías de RNA-seq obtenidas en plataforma Illumina 2000 de las especies de las tortugas *Caretta caretta* (Cc) (3 juveniles y 2 adultos) y *Eretmochelys imbricata* (Ei) (3 juveniles). Se utilizó FastQC v0.11.5 para ver la calidad de las librerías, FastXToolKit v0.0.6 para eliminar artefactos, lecturas repetitivas y secuencias palíndromes. Con RiboPicker v0.4.3 se eliminó rRNA comparando con las bases de datos SILVA, GreenGenes, RFAM y NCBI. Los transcriptomas se ensamblaron a partir de datos crudos de 8 librerías utilizando Trinity v2.1.1 de la siguiente manera: i) 5 de Cc; ii) 3 de Ei; iii) 6 juveniles de Cc y Ei; iv) 2 individuos adultos de Ei; v) 8 librerías de Cc y Ei y vi) rRNA para cada individuo. Se obtuvo un total de 861.314.556 lecturas de 100 pb para las 8 librerías con 54 millones de lecturas en promedio. El puntaje Phred fue de 25 con longitud mínima de 50, eliminando 133 más lecturas que el proceso de remoción de artefactos. Se eliminaron 789.000 lecturas de rRNA por librería, 3 veces más que el proceso de “trimming” con 286.000 lecturas eliminadas en promedio. El ensamblaje de juveniles de Ei produjo 278.859 *contings* con 849 pb de en promedio. Los juveniles de Cc generaron 346.234 *contings* con 876 pab de promedio y los adultos de Cc reconstruyeron 268.867 *contings* con 987 pb en promedio. El porcentaje de GC fue de 47, 46 y 46 % para Ei y ambos transcriptomas de Cc respectivamente, resultado que está de acuerdo con eucariotas. 1.300 genes diferencialmente expresados se identificaron entre individuos juveniles y adultos de Cc.

GGM 16

ESTUDIO MEDIANTE RNA-SEQ DEL TRANSCRIPTOMA DE DIFERENTES TEJIDOS DE OVINOS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES A PARÁSITOS GASTROINTESTINALES

Peraza P.¹, G. Rincón², J. Sotelo-Silveira³, G. Ciappesoni¹, A. Islas-Trejo⁴, J.F. Medrano⁴. ¹Unidad de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. ²VMRD Genetics R&D, Zoetis Inc., USA. ³Departamento de Genómica, Instituto de Investigación Biológica Clemente Estable, Uruguay. ⁴Department of Animal Science, University of California, USA. Email: pperaza@inia.org.uy

Los parásitos gastrointestinales (PGI) tienen un gran impacto sanitario y económico en la producción agropecuaria a nivel mundial. Una opción para el control de las PGI en los rodeos es la utilización de animales resistentes. Con el fin de identificar genéticamente a estos animales, procedemos a estudiar su expresión génica (EG) y su diferencia (DEG) entre animales resistentes y susceptibles a PGI. El objetivo del trabajo es determinar genes diferencialmente expresados entre ambas líneas, y estudiar su interacción en vías metabólicas responsables para esta condición sanitaria. El estudio se realizó en animales de líneas divergentes a PGI. Se extrajeron muestras de 5 tejidos (Abomaso, Duodeno, Yeyuno, Íleon y Nódulos Linfáticos) de 4 animales, 2 de la línea resistente y 2 de la línea susceptible. A dichos tejidos se les extrajo mRNA para generar librerías y posteriormente fueron secuenciadas en equipo Illumina HiSeq2000. Como resultado preliminar, se obtuvo en promedio 29,5 millones de lecturas 2x100 PE por muestra y la mayoría mapea sobre el genoma ovino Oar_v3.1 (release84) en más del 80 %. Por el momento se han detectado más de 30 genes por DEG en ambas condiciones (p-value<0,01 y Fold Change>2). Algunos de estos genes responden a funciones de daño y reparación de tejidos como también a la activación de mecanismos de respuesta a parasitosis. Los resultados de este trabajo permitirán profundizar el entendimiento de la generación de resistencia en ovinos a las PGI.

GGM 17

DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO Y TAMAÑO EFECTIVO EN LOS OVINOS CRIOLLOS URUGUAYOS DEL PARQUE NACIONAL DE SAN MIGUEL

Pieruccioni F.¹, M. Saura², B. Villanueva², F. Macedo¹, G.C. Ciappesoni¹, E.A. Navajas¹. ¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Canelones, Uruguay. ²Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid, España.

Email: florpieruccioni@gmail.com

El tamaño efectivo (N_e) es un parámetro muy importante en diferentes campos de la genética, especialmente en genética de la conservación, ya que brinda información sobre el patrón de diversidad genética presente en la población y permite estimar la consanguinidad. En base al desequilibrio de ligamiento (DL) calculado con información genómica se infiere el N_e ancestral y reciente en poblaciones sin información genealógica. El objetivo de este estudio fue estimar el N_e a partir del DL en los ovinos Criollos basado en la información que brinda el panel de 606 k SNP. El DL se calculó usando el coeficiente de correlación al cuadrado (r^2) entre pares de SNP para todos los pares de SNP sinténicos utilizando tamaños de ventana de 20 Mb. Para la estimación del N_e para cualquier generación en el pasado, se consideraron los r^2 entre pares de SNP para una distancia genética específica. A distancias cortas (SNP separados hasta 10 kb), el r^2 promedio fue de 0,43. Asimismo, el valor de r^2 disminuyó a la mitad a 0,26 Mb. Estos valores son más elevados en comparación con otras razas ovinas, debido a que se trata de una población que se ha mantenido aislada y por tanto los individuos están muy emparentados. El N_e estimado en la raza Criolla en el año de formación del rebaño, año 1937, fue de 58 animales y decreció un 23% en el presente. Estos resultados son consistentes y reflejan la historia del rebaño, el cual ha permanecido cerrado desde su fundación.

GGM 18

TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF MOUSE SPERMATOGENESIS SHOWS UNDISCLOSED FEATURES OF MEIOTIC- AND POST-MEIOTIC-SPECIFIC GENE EXPRESSION

Rodríguez-Casuriaga R.¹, I. da Cruz², F.F. Santiñaque³, J. Farías⁴, G. Curti¹, C.A. Capoano¹, G.A. Folle^{3,5}, R. Benavente⁶, J.R. Sotelo-Silveira^{2,7}, A. Geisinger^{1,8}.

¹Department of Molecular Biology, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay.

²Department of Genomics, IIBCE. ³Flow Cytometry and Cell Sorting Core, IIBCE. ⁴Department of Proteins and Nucleic Acids, IIBCE. ⁵Department of Genetics, IIBCE. ⁶Department of Cell and Developmental Biology, Biocenter, University of Würzburg, Germany. ⁷Department of Cell and Molecular Biology, Facultad de Ciencias, Universidad de la República (UDELAR), Montevideo, Uruguay. ⁸Biochemistry-Molecular Biology, Facultad de Ciencias, UDELAR, Montevideo, Uruguay.

Email: r.rodriguezcasuriaga@gmail.com

adriana.geisinger@gmail.com

Spermatogenesis is a complex differentiation process that involves the execution of three different gene expression programs: mitotic proliferation of spermatogonia, meiosis, and spermiogenesis. Testicular cell heterogeneity has hampered its molecular analyses. Moreover, the characterization of the brief initial meiotic prophase stages (leptotene and zygotene, LZ) has remained elusive, despite their crucial importance. We have developed a flow cytometry-based approach to obtain highly pure spermatogenic cell populations, including LZ. Here we combined this methodology with RNAseq enabling the analysis of meiotic and postmeiotic gene expression signatures in mouse with unprecedented reliability. Interestingly, we found that a high number of genes involved in early as well as late meiotic processes are already on at early meiotic prophase, and many are expressed only during LZ. We observed a massive shift in gene expression patterns during mid meiotic prophase (pachytene, P) when mostly genes related to spermiogenesis and sperm function are already turned on. The transcriptional switch from meiosis to post-meiosis takes place at P, revealing a higher incidence of post-transcriptional regulation in spermatogenesis than previously reported. A good proportion of the differential gene expression in spermiogenesis corresponds to up-regulation of genes turned on at P, including transition protein- and protamine-coding genes. This work provides an overview of the time course for the massive onset and turning off of the meiotic and spermiogenic genetic programs.

GGM 19

HAPLOTIPOS MITOCONDRIALES EN LOS CABALLOS ÁRABE DE ARGENTINA

Sadaba S.A.^{1,2}, C.M. Corbi Botto^{1,2}, M.E. Zappa¹, P. Peral Garcia¹, S. Diaz¹. ¹Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout", (IGEVEV), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, CCT La Plata. ²Becarios del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.
Email: sasadaba@igevet.gob.ar

El ADN mitocondrial (ADNmt) es una herramienta altamente informativa para inferir relaciones filogenéticas, caracterizar la variación intrarracial, el origen y los linajes maternos de razas equinas. El objetivo es identificar los haplotipos ADNmt presentes en 61 caballos de raza Árabe de diferentes Haras de Buenos Aires, con registros de pedigree del Stud Book Argentino, para comprender el origen y la diversificación de los caballos Árabes de Argentina. El ADN se obtuvo de pelos y se utilizó como molde para amplificar por PCR y secuenciar un fragmento de 247 pb de la región hipervariable 1 (HVR1). El análisis comparativo se realizó entre las secuencias obtenidas, la secuencia de referencia del ADNmt equino y 26 haplotipos identificados en caballos Árabes de otras regiones geográficas. El análisis de todas las secuencias permitió estimar un total de 37 haplotipos, definidos por 35 sitios informativos, y la diversidad haplotípica de $Hd=0,953$. Del total de haplotipos estimados, 14 sólo fueron encontrados en un animal (*singletons*), 14 mostraron 99-100 % de identidad con haplotipos definidos en Árabes. En el análisis filogenético todas las secuencias se agruparon en cinco haplogrupos: A-E. El 72 % de los caballos presentaron haplotipos de los grupos A y C, siendo los más frecuentes los haplotipos H01 y H21 en 36 % de los caballos. La raza Árabe es fundadora y antecesora de numerosas razas equinas, por lo que estos resultados proporcionarían información para realizar estudios de evolución, filogenia y filogeografía de razas equinas.

GGM 20

HEREDABILIDAD GENÓMICA EN CARACTERES DE CANAL PARA LA RAZA HEREFORD: RESULTADOS PRELIMINARES

Macedo F.L.¹, E.A. Navajas^{1,2}. ¹Unidad de Biotecnología, INIA, Uruguay. ²Programa de carne y lana, INIA, Uruguay.
Email: fermace@gmail.com

La inclusión de información genómica en caracteres como los de calidad de canal (CC), permite obtener valores de cría para reproductores jóvenes sin requerir pruebas de progenie lo que lleva a menores intervalos generacionales. La heredabilidad genómica (h_g^2) es un parámetro de interés que indica la proporción de la varianza observada que puede ser explicada por un panel de marcadores SNP. Para la evaluación de herramientas genómicas en la mejora de CC para la raza Hereford de Uruguay se analizaron los datos de CC de 750 novillos genotipados con 80 k y 700 k SNP. Previo a los análisis se realizó la imputación de 80 k a 700 k SNP para aquellos individuos genotipados con el 80 k. El modelo de análisis consideró como efectos: fecha de faena, tratamiento de recría y el valor de cría de los padres para área de ojo de bife, clasificados como de alto o bajo. Se estimaron h_g^2 para 6 CC mediante AI-REML. Como alternativa al error estándar, se calculó el desvío estándar (SD) a partir de muestreo repetido de los parámetros desde su distribución normal asintótica. Las h_g^2 fueron altas para pesos de hueso ($0,478 \pm 0,092$), corte pistola ($0,440 \pm 0,093$), carne en corte pistola ($0,403 \pm 0,094$) y medias para peso de "rump and loin" ($0,355 \pm 0,088$), canal caliente ($0,340 \pm 0,088$) y grasa ($0,251 \pm 0,092$). Estos resultados preliminares indican que los marcadores explican en buena medida la varianza observada y aportan información para profundizar en el estudio de la estructura genómica de las características en la población así como para estudios de asociación.

GGM 21

TRANSPOSONES *MARINER-LIKE* EN EL GENOMA DE AVES PAMPEANAS

Barcellos S.A.¹, N.A. Bertocchi², T.D. De Oliveira², V.L.C. De Lima², M.S. De Souza², R. Kretschmer³, A.D.V. Garnero⁴, R.J. Gunski⁴, F.P. Torres⁴. ¹Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa, RS, Brasil. ²Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa, RS, Brasil. ³Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil. ⁴Professor da Universidade Federal do Pampa, RS, Brasil.

Email: suzianebarcellos@gmail.com

La Clase Aves es uno de los taxones con mayor diversidad de especies en el Bioma Pampa con aproximadamente 500 especies. Dentro de éstas el orden más abundante y conocido son los passeriformes, sin embargo poco estudiado y caracterizado, principalmente desde el punto de vista genético. Elementos transponibles (ETs) son vastamente estudiados en diversos grupos, sin embargo en aves estos estudios todavía son incipientes. Los transposones *mariner* son ampliamente distribuidos en el reino animal, en las aves están descritos solamente en *Gallus gallus*. Este trabajo propone una investigación sobre la existencia de transposones *mariner-like* en aves del orden Passeriformes muestreadas en el Bioma Pampa (Rio Grande do Sul, Brasil). Fueron mapeados DNA genómico de 27 aves de 15 especies para la hibridización por *dot blot* con sonda inespecífica de un elemento *mariner* obtenida de *Drosophila simulans*. Hubo señal de hibridización en 5 especies: *Saltator similis*, *Poospiza nigrorufa*, *Lathrotricus euleri*, *Saltator aurantiirostri* y *Thraupis bonariensis*. Con estos datos se concluye que la técnica de *dot blot* se muestra sensible también en la identificación de ETs en aves aún con el uso de sonda inespecífica. Las señales positivas indican la presencia de ETs *mariner* en los genomas de estas especies, ampliando, de esta forma, la distribución de esta familia de elementos en el grupo de las aves y relatando pioneramente la presencia de estos en passeriformes del Bioma Pampa.

GGM 22

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA REGIÓN REGULATIVA DEL GEN *SHAVENBABY* EN *Drosophila*

Sabaris Di Lorenzo G.J.¹, D.M. Ortiz¹, E. Preger-Ben Noon², D.L. Stern², N. Frankel¹. ¹Departamento de Ecología, Genética y Evolución, IEGEBA-CONICET, FCEyN, UBA, Argentina. ²Janelia Research Campus, Howard Hughes Medical Institute, Ashburn, VA, EEUU.

Email: gsabaris@ege.fcen.uba.ar

Los genes que gobiernan el desarrollo embrionario de organismos multicelulares poseen regiones regulatorias complejas que contienen la información necesaria para controlar dónde, cuándo y cuánto se expresa un gen. Nuestro trabajo tiene como objetivo general entender de manera integral las regiones regulatorias de la transcripción en eucariotas. Nos enfocamos en el análisis de la arquitectura y función de la región regulatoria de la transcripción del gen *shavenbaby (svb)* en *Drosophila melanogaster*. SVB es un factor de transcripción que controla la producción de pelos no sensoriales (tricomas) en la epidermis. En la actualidad se sabe que 7 *enhancers* generan el patrón de expresión embrionario de *svb*. La expresión de *svb* en larva y pupa no ha sido caracterizada hasta el momento. Mediante ensayos con genes reporteros en moscas transgénicas verificamos que los *enhancers* embrionarios tienen también actividad en larva y pupa. Estos *enhancers* muestran dos características relevantes: i) la pleiotropía, ya que los mismos dirigen la expresión en distintos tejidos y estadios del desarrollo y ii) la redundancia, ya que distintos *enhancers* presentan actividad en el mismo tejido y estadio. Por último, estamos evaluando si existen más elementos con actividad regulatoria en el locus *svb*. Hemos generado delecciones en la región regulatoria de *svb* para luego analizar si las mismas producen cambios en la expresión del gen.

GGM 23

OPTIMIZACIÓN DE UN MODELO DE PÉRDIDA DE FUNCIÓN PARA EL ESTUDIO DEL GEN *HIGD1A* DURANTE EL DESARROLLO DEL PEZ CEBRA

Sosa Redaelli I.^{1,2}, C. Davison Rotunno^{2,3}, F. Zolessi Elizalde^{2,3}, G. Bedó Mizrahi¹. ¹Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, UdelaR. ²Laboratorio de Biología Celular del Desarrollo Neural, Instituto Pasteur Montevideo. ³Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay.
Email: isosa@fcien.edu.uy

El gen *higd1a* (*Hypoxia induced gene 1a*) codifica para una proteína pequeña de la membrana mitocondrial interna. Existen referencias de su participación en procesos de diferenciación, y en procesos patológicos principalmente asociados a hipoxia y estrés metabólico severo. Si bien la función de la proteína aún no ha sido completamente elucidada, se ha demostrado un rol anti-apoptótico y de incremento de la viabilidad celular. En nuestro laboratorio hemos abordado la caracterización de *higd1a* en el desarrollo del pez cebra. A tal efecto, nos propusimos la optimización de un modelo de pérdida de función ensayando distintas metodologías: el *knock-down* transitorio con oligómeros morfolino y la generación de una línea *knock-out* mediante el sistema CRISPR/Cas9. Los resultados de *knock-down* obtenidos hasta el momento, si bien preliminares, muestran un incremento de muerte celular y retraso en la eclosión de los embriones, así como alteración en cartílagos cráneo-faciales de las larvas. Respecto a los avances en la aplicación del sistema CRISPR/Cas9, se ha logrado diseñar y sintetizar dos moléculas de sgRNA (*single guide RNA*) dirigidas a distintas regiones del gen, ambas con una predicción de eficiencia alta y sin efectos *off target*. A su vez, se ha preparado una construcción para la expresión del ARNm de *higd1a*, con la cual realizar ensayos de rescate fenotípico y confirmar la especificidad de ambos enfoques metodológicos.

GGM 24

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA EN MÚSCULO ESQUELÉTICO DE CERDOS PAMPA ROCHA SOMETIDOS A DIETAS CONTRASTANTES EN CONTENIDO LIPÍDICO

Montenegro M.¹, N. Balemian¹, C. Carballo², N. Barlocco², S. Llambi¹. ¹Área Genética, Facultad de Veterinaria, UdelaR. ²Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR, Montevideo, Uruguay.
Email: mariadc.montenegro@gmail.com

El objetivo de este estudio es analizar la expresión génica en músculo esquelético (tejido de importancia económica) en cerdos de la raza local Pampa Rocha (Uruguay) sometidos a dietas con diferente contenido lipídico. Se utilizaron 12 cerdos machos de dicha raza en etapa de posdestete los cuales se distribuyeron al azar entre los dos tratamientos. El tratamiento T0 consistió en una dieta con 0 % de afrechillo de arroz (control) y el tratamiento T15 una dieta con 15% de afrechillo de arroz (mayor contenido lipídico). Posterior a la faena se procedió a la remoción del músculo Longissimus dorsi (LD) para posteriormente realizar la toma y almacenamiento de muestras. Las muestras obtenidas se procesaron utilizando diferentes métodos de homogenización y extracción con Trizol®, obteniéndose concentraciones de ARN en el rango de 231,5 a 1729,3 ng/μL y relaciones de absorbancia 260/280 entre 1,83 a 2,01. La integridad del ARN extraído se llevó a cabo en geles de agarosa al 1%. A partir de la secuenciación del transcriptoma de estas muestras mediante ARNseq se espera determinar si existen diferencias en el perfil de expresión génica frente a los tratamientos realizados, identificando genes que se expresen diferencialmente y las vías metabólicas y/o procesos biológicos en los cuales intervienen. También se busca identificar posibles genes candidatos asociados a calidad de carne, nuevos transcritos, isoformas y otras variantes como ser variaciones de nucleótido simple.

GGM 25

**IDENTIFICACIÓN DE VACAS POLLED
HEREFORD PORTADORAS DE MSUD
C248>T MEDIANTE PCR-HRM Y
CONFIRMACIÓN POR SECUENCIACIÓN**

Branda Sica A.¹, A. Romero², M.T. Federici¹, C. Briano², M. Dalla Rizza¹, F. Dutra². ¹Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas, Uruguay. ²DILAVE Treinta y Tres, Uruguay.
Email: abranda@inia.org.uy

La enfermedad de la orina con olor a jarabe de Maple (MSUD, OMIA 000627-9913) es autosómica recesiva y causada por una mutación sin sentido (C248>T) en la región líder del gen de la subunidad E1 alfa (BCKDHA, cadena ramificada alfa ceto-ácido deshidrogenasa). Para identificar esta mutación en una población de 86 vacas Polled Hereford de un predio de la región Este de Uruguay se realizó el análisis HRM (*High Resolution Melting*) utilizando PCR en tiempo real (*Rotor-Gene Q*, Corbett) con el intercalante fluorescente *EvaGreen* (kit Type-it® HRM-PCR, QIAGEN, Hilden, Alemania), utilizando un par de *primers* específicos. El programa de ciclado consistió en una desnaturalización inicial de 10 min de 95 °C, 40 ciclos de 10s a 95 °C, 30s a 59 °C y 10s a 72 °C, en un rango entre 65-95 °C con incrementos de 0,1 °C durante 2s. Luego de la amplificación del fragmento 94 pb se normalizaron las lecturas de fluorescencia utilizando el *software Rotor Gene* versión 1.7.28 que permitió identificar las curvas de *melting* en la zona estable de fluorescencia. Luego, se normalizó con respecto a un control homocigota normal y el *software* identificó el genotipo de cada muestra analizada con un porcentaje de confianza >90%. La confirmación del genotipado fue evaluada mediante secuenciación de los productos amplificados por PCR. Se detectó la presencia del alelo mutante recesivo para MSUD C248>T en 3 vacas de la población analizada.

GGM 26

**GENES RELACIONADOS CON LA
RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN EL
VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS
*Triatoma infestans***

Grosso C.G.¹, M.M. Stroppa¹, B.A. García¹. ¹INICSA, CONICET y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
Email: bgarcia@biomed.uncor.edu

Con el propósito de investigar la participación de los citocromos P450 en la resistencia a insecticidas piretroides en *Triatoma infestans* se aisló ADN copia (ADNc) de 3 genes citocromo P450 y del gen NADPH citocromo P450 reductasa (CPR) que codifica para una enzima que actúa en la transferencia de electrones desde la forma reducida de NADPH a los citocromos P450. A partir de las secuencias de 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. Las determinaciones de expresión se llevaron a cabo a partir de ARN total extraído de *pooles* de cuerpo graso de los insectos en distintos intervalos de tiempo después de la aplicación tópica de la dosis letal 50% del principio activo deltametrina. La expresión a nivel de transcripción de los tres genes P450, revelaron que esa expresión fue inducida por deltametrina en poblaciones resistentes y susceptibles. Los niveles de ARNm del gen CPR analizados en una colonia de laboratorio susceptible a deltametrina también se incrementaron después de la aplicación del insecticida. Por otra parte, el análisis comparativo de la expresión de los genes P450 y del gen CPR en insectos provenientes de diferentes poblaciones, reveló sobre-expresión de uno de los genes P450 y del gen CPR en la población que presentó el mayor grado de resistencia al insecticida. Los resultados obtenidos apoyarían la hipótesis que postula la participación de los citocromo P450 en el desarrollo de la resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans*.

GGM 27

IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS POLIMORFISMOS Y DE VARIANTES ALÉLICAS EN EL GEN *TNFRSF14* EQUINO

Corbi-Botto C.^{1,2}, S.A. Sadaba^{1,2}, M.E. Zappa¹, P. Peral Garcia¹, S. Diaz¹. ¹Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout", (IGEVEV), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, CCT La Plata. ²Becario Doctoral Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.
Email: cmcorbi@igevet.gob.ar

El receptor equino de lentivirus-1 (ELR-1) o *TNFRSF14* media la entrada específica del Virus de la Anemia Infecciosa Equina (VAIE) a los macrófagos de los caballos. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) en diferentes poblaciones de caballos, para investigar la existencia de variantes alélicas del gen *TNFRSF14* equino. Se utilizaron muestras de ADN de 47 caballos seropositivos y seronegativos a VAIE, procedentes de diferentes regiones de Argentina y/o brotes de la enfermedad. Se amplificaron y secuenciaron dos fragmentos correspondientes a los exones 3 y 5 del gen *TNFRSF14*. Las secuencias obtenidas permitieron identificar 21 SNPs: 10 en las secuencias intrónicas flanqueantes y 11 en las secuencias exónicas (7 SNPs no reportados previamente). Las frecuencias de los SNPs exónicos variaron entre 0,01 y 0,41. El análisis de desequilibrio de ligamiento (LD) permitió identificar 7 variantes alélicas del exón 3, y 9 del exón 5 de *TNFRSF14* que fueron validadas por su presencia en individuos homocigotas y heterocigotas, y en productos de PCR independientes. El análisis de las secuencias predichas de aminoácidos mostró que los SNPs del exón 3 son sustituciones sinónimas, en tanto que en el exón 5, cuatro de los nuevos SNPs causan sustituciones no sinónimas. La variabilidad descrita en las secuencias codificantes del receptor del VAIE motivan a continuar la investigación en describir su posible rol en la interacción con la partícula viral.

GGM 28

UTILIZACIÓN DE HERRAMIENTAS MOLECULARES DE SECUENCIACIÓN MASIVA PARA EL ANÁLISIS DE MUESTRAS ARQUEOLÓGICAS DE CÉRVIDOS NEOTROPICALES

Moreno F.¹, G. Figueiro², M. Mannise³, A. Iriarte⁴, S. González^{3,5}, J.M. Barbanti Duarte⁶, M. Cosse³. ¹Programa de Investigación Antropo-Arqueológica-DICYT-MEC, Uruguay. ²Departamento de Antropología Biológica, FHCE-UdelaR, Uruguay. ³Departamento de Biodiversidad y Genética, IIBCE-MEC, Uruguay. ⁴Departamento de Genómica, IIBCE-MEC, Uruguay. ⁵Sección Genética Evolutiva Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay. ⁶Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Jaboticabal, SP, Brasil.
Email: marianacosse@gmail.com

Los estudios zooarqueológicos de los Cerritos de Indios, en el este Uruguayo, evidencian la explotación prehistórica de diversos mamíferos incluyendo los cérvidos. La complejidad social propuesta para estos grupos humanos permite formular hipótesis que incluirían el manejo de rebaños de venado de campo (*O. bezoarticus*). Nuestro objetivo fue analizar el poder de la Secuenciación Masiva para estudios genéticos en restos arqueológicos de ciervos. Utilizamos tres ejemplares caracterizados morfológicamente como venado de campo recuperados del sitio Ch2D01 (Rocha), y datados en ~1300 años AP. Para cada muestra amplificamos por PCR en Tiempo Real una región de 158 pb del D-loop mit. Los productos obtenidos se secuenciaron en forma conjunta en el equipo Ion PGM™ (*Thermo Scientific*). A partir de las lecturas obtenidas se realizó una red de haplotipos que permitió seleccionar los dos más probables. El análisis de similitud de las secuencias arqueológicas con modernas determinó que las muestras consideradas correspondían a guazubirá (*M. gouazoubira*). Estos resultados sugieren que la presencia de guazubirá en el registro zooarqueológico uruguayo ha sido subestimado. Esta re-asignación taxonómica es muy importante para la comprensión de la economía prehistórica animal ya que involucra distintas estrategias de explotación según el taxón. Nuestros resultados muestran el poder de la secuenciación masiva para verificar la identidad taxonómica así como para evaluar la diversidad haplotípica en muestras complejas.

GGM 29

METABARCODING DE ADN PARA ANÁLISIS DE DIETA DE ZORRO DE MONTE (*Cerdocyon thous*)

Mannise N.¹, A. Iriarte³, S. González^{1,2}, M. Cosse¹. ¹Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. ²Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, UdelaR. ³Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay.
Email: natymanni@gmail.com

El zorro de monte es un cánido omnívoro, ampliamente distribuido en Uruguay. Estudios macroscópicos de dieta revelaron una baja resolución en la determinación taxonómica. En este sentido recientemente se ha empleado el *metabarcoding* de ADN para evaluar la composición dietaria en omnívoros. El objetivo de este trabajo fue analizar los componentes de la dieta del zorro de monte a partir de fecas depositadas en nuestro banco de ADN. Para determinar especies vegetales y de vertebrados presentes en la feca se amplificaron por PCR una región del intrón trnL del cloroplasto y una del gen 12S del ADN mitocondrial, respectivamente. Los productos de PCR se agruparon y secuenciaron en el *Ion Torrent PGM*. Se seleccionaron lecturas con *phred score* ≥ 30 y largo ≥ 90 pb. Se construyó una base de más de 150×10^3 secuencias de referencia a partir de las disponibles en GenBank. Se generó una base no redundante de lecturas, una búsqueda de similitud por blastn y se identificaron aquellas con máximo score presentes en la referencia. Los resultados permitieron identificar la presencia exclusivamente de *Cavia aperea* entre los vertebrados; mientras que para ítems vegetales se constató la presencia de Arecaceae (palmas) con mayor frecuencia. Para una mayor resolución proponemos para la determinación de ítems vegetales emplear otro juego de cebadores e incorporar especies nativas a la base de referencia; en el fragmento mitocondrial diseñar un oligonucleótido que bloquee la unión del cebador al ADN de zorro para inhibir su amplificación y sobrerepresentación en las lecturas.

GGM 30

PÉRDIDA Y GANANCIA DE GENES EN PLATELMINTOS: ADAPTACIÓN DE LOS PARÁSITOS A LOS MEDIOS DE VIDA

Fontenla S.¹, P. Smircich¹, S. McNulty², G. Rinaldi³, M.F. Domínguez¹, P.J. Brindley³, M. Mitreva^{2,4}, J.F. Tort¹. ¹Dpto. de Genética, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay. ²McDonnell Genome Institute at Washington University, USA. ³Departments of Microbiology, Immunology and Tropical Medicine, George Washington University, USA. ⁴Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Washington University School of Medicine, USA.
Email: sfontenla@fmed.edu.uy

La reciente popularización del uso de tecnologías de secuenciación de próxima generación ha permitido la publicación de varios genomas de organismos no modelo, entre ellos organismos parásitos. Esto permite el planteo de nuevas preguntas sobre la organización genómica, aparición de familias génicas, genes vinculados al desarrollo y adaptación al parasitismo que hasta el momento eran difíciles de contestar. Los platelmintos parásitos en general implican una enorme carga al desarrollo humano, por su enorme impacto en la salud humana y en la producción. Con el fin de profundizar en la biología y en los mecanismos adaptativos de estos organismos a su medio de vida hemos realizado una minería en datos genómicos de varias especies de platelmintos parásitos y lo hemos comparado con otros platelmintos de vida libre, y otras especies de la escala evolutiva. Hallamos que las proteasas están amplificadas en aquellos linajes que deben atravesar el parénquima del hospedero. Detectamos la amplificación de genes transportadores de colesterol en los platelmintos que parasitan el hígado y la aparición duplicaciones y variantes estructurales en genes vinculados a la regulación de la expresión génica. Como mecanismo de adaptación al medio hipóxico detectamos genes que permiten aumentar la eficiencia de la respiración celular anaeróbica. En contraposición, en los platelmintos parásitos detectamos la reducción de varias vías metabólicas respecto a los de vida libre. Esta varía según los distintos linajes y es mayor en parásitos intestinales y de la sangre en comparación a los hepáticos.

GGM 31

ESTUDIO MOLECULAR DE UN POSIBLE CASO DE SÍNDROME DE MARFAN EN BOVINOS (GEN *FBN1*, FRAGMENTO EXÓN 29) (DATOS PRELIMINARES)

Artigas R.¹, V. Andino¹, A. Di Mateo¹, A. Benech², M.V. Arruga³, S. Llambí¹. ¹Área Genética, Facultad de Veterinaria, UdelaR.

²Hospital Veterinario, Facultad de Veterinaria, UdelaR. ³Prof. Emérito, Facultad de Veterinaria, UNIZAR, España.

Email: rodyartigas@gmail.com

El síndrome de Marfan en bovinos está descrito como un trastorno hereditario causado por mutaciones en el gen *FBN-1* que codifica para la proteína fibrilina-1 (OMIA 000628-9913). Dos mutaciones han sido asociadas a esta patología en los exones 29 y 65 de dicho gen. En este trabajo se realiza el análisis molecular de ADN a una ternera Holando con sintomatología compatible con síndrome de Marfan. Mediante estudios eco-doppler se observó insuficiencia severa de válvula aórtica sin alteración intrínseca del aparato valvular y flujo turbulento de eyección y de regurgitación, aneurisma de aorta y disección de la lámina media de la carótida externa derecha. Se extrajo ADN (a partir de sangre entera con EDTA) utilizando el kit ZR Genomic DNA. La amplificación por PCR de la región In-Ex 29 del gen *FBN-1* se realizó utilizando un programa convencional de 35 ciclos y 56 °C de hibridización. El amplicón obtenido (339 pb) se secuenció (ambas cadenas) en el Servicio de Secuenciación de la UNIZAR. Se analizó la información obtenida con la base de datos assembly Btau_4.6.1, mediante las herramientas Blast y ClustalW del *software* BioEdit disponibles *on line*. En la región secuenciada no se detecta la mutación previamente descrita aunque se identifica un cambio G/A en la región del intrón amplificado. Se discuten los resultados en el marco de la heterogeneidad alélica del gen *FBN-1* en otras especies. Se trata de la primera descripción de sintomatología compatible a síndrome de Marfan en bovinos en Uruguay y el tercero a nivel internacional.

GGM 32

GENES CON DOMINIO HIG (*HYPOXIA INDUCED GENE*): ANÁLISIS DEL PATRÓN TISULAR Y TEMPORAL DE EXPRESIÓN DE LAS DIFERENTES FORMAS

Blanco V.¹, G. Bedó¹. ¹Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Email: vblancoca@gmail.com

El gen *Higd1a* se expresa en muchos tejidos bajo diferentes condiciones fisiológicas y patológicas, y se lo ha implicado en procesos de diferenciación y en el balance muerte celular/sobrevida. En nuestro laboratorio hemos caracterizado el gen en rata y su patrón de expresión en el Sistema Nervioso. La proteína codificada, HIGD1A, se localiza en las crestas mitocondriales y posee un dominio transmembrana característico: el dominio HIG. La base de datos genómicos de rata más reciente reporta varios loci con homología para la secuencia correspondiente a este dominio, definiéndose así una familia con dominio HIG (HIGD1B, HIGD1C-like, HIGD2A, entre otras). No obstante, en ningún caso existe bibliografía con evidencias funcionales. Con el objetivo de profundizar en la expresión y el rol que cumplen estas variantes, se compararon las distintas formas de genes y proteínas HIG. Se diseñaron cebadores específicos para cada una y se analizaron los niveles de expresión en cerebro, hígado, pulmón y corazón de ratas de 10 días (p10) y adultas, mediante PCR en tiempo real. Los resultados muestran expresión de todas las formas en los tejidos estudiados, siendo Higd1c-like la menos abundante. Para cada gen se encontró un patrón particular de expresión, con variaciones según la edad y el tejido analizado. Así, por ejemplo, los niveles de Higd1b son altos en cerebro de rata adulta comparando con p10, mientras que en el hígado esta relación se invierte. El hallazgo de estos patrones característicos sugiere una función para estas proteínas, la cual deberá ser investigada más profundamente.

GGM 33

VARIABILITY AND GENETIC DIVERGENCE FOR QUANTITATIVE TRAITS AND NEUTRAL MARKERS OF *Eugenia dysenterica* POPULATIONS

Boaventura-Novaes C.R.D.¹, M.P.C. Telles², E. Novaes¹, E.E.S. Mota¹, A.S.G. Coelho¹, L.J. Chaves¹. ¹Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Go, Brasil. ²Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Go, Brasil.
Email: cboaventura@gmail.com

Genotypic variations knowledge is a tool important for both conservation and breeding purposes of genetic resources. To analyze and compare the phenotypic and genetic variation of wild populations of *Eugenia dysenterica* DC., a fruity tree, 25 subpopulations were sampled in five states of the Brazilian Cerrado. Twenty seeds of each one of the six families per population were established in a common garden experiment. Variance components estimation and genotyping using nine microsatellite loci were performed. Significant phenotypic and genotypic variations were found, and heritability estimates indicates potential for selective gain. Subpopulations are structured for root length, height and diameter growth rates (QST 0.34, 0.23 and 0.20), but weak structure was establish for biomass and seedling emergence (QST<0.04). It has high genetic diversity, with average expected heterozygosity of 0.642. The mating system was mainly outcrossing ($t_a = 0.73$), with high genetic differentiation between subpopulations ($\theta_P = 0.198$). QST - FST contrasts were not significant for sixteen out of eighteen traits, suggesting genetic drift as the main source of phenotypic differentiation. Even though seedling emergence average time and root system fresh mass genetic similarity is granted to uniform selection. Quantitative and genetic distances clustered two distinct groups spatially structured, with respect to river valley and Vão do Paranã region. An *in vivo* collection of *E. dysenterica* was established for *ex situ* conservation. The collection portrays the cagaiteira's wild population.

GGM 34

VALIDACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE GENES ASOCIADOS A LA SÍNTESIS DE POLIFENOLES EN YERBA MATE (*Ilex paraguariensis*)

Petersen C.M.I.¹, J.V. Fay¹, M.M. Miretti¹. ¹GIGA, Instituto de Biología Subtropical, Nodo Posadas (UNaM-CONICET), Posadas, Misiones, Argentina.
Email: mmiretti3@yahoo.co.uk

La Yerba Mate (YM), *Ilex paraguariensis*, A. St.-Hil 1999 (Aquifoliaceae) es una especie de gran importancia económica, social y cultural en Argentina, Brasil y Paraguay. Argentina es el principal productor de YM, encontrándose en Misiones el 90% de la superficie cultivada. Diversos estudios han demostrado sus propiedades beneficiosas que incluyen la actividad antioxidante, y esta se debe a la gran cantidad de compuestos polifenólicos presentes en sus hojas. Este trabajo presenta la validación de la transcripción de dos genes involucrados en la síntesis de polifenoles en YM. Se seleccionaron las secuencias de transcriptos identificados a partir de datos de secuenciación de transcriptoma de YM, correspondientes a CHS (Chalcon Sintasa) y 4CL (4-Cumarato CoA Ligasa). Se diseñaron cebadores para amplificar fragmentos de 150 pb por PCR. Se extrajo ARN total de hojas de YM y se sintetizó ADNc por retrotranscripción. Los productos de PCR de tamaño esperado se secuenciaron mediante secuenciación capilar y las secuencias obtenidas fueron analizadas utilizando BLAST contra la base de datos pública. Los resultados confirmaron la transcripción en hojas de genes implicados en biosíntesis de compuestos activos. La actividad de estos genes no había sido previamente descrita en YM.

GGM 35

CHROMOSOME-LEVEL ASSEMBLY REVEALS THE EXTENT OF TRANSLOCATION AND INVERSION POLYMORPHISMS

Zapata L.^{1,2}, J. Ding³, M. Koornneef^{2,4}, S. Ossowski^{1,2}, K. Schneeberger³. ¹CRG, Barcelona, España. ²Universitat Pompeu Fabra, España. ³Max Planck Institute for Plant Breeding Research, Germany. ⁴Laboratory of Genetics, Wageningen University, The Netherlands.
Email: luis.zapata@crg.es

Resequencing or reference-based assemblies reveal large parts of the small-scale sequence variation. However, they typically miss to separate such local variation into co-linear and re-arranged variation, as they usually do not recover the complement of large-scale rearrangements including transpositions and inversions. Besides the availability of hundreds of genomes of diverse *Arabidopsis thaliana* accessions, there is so far only one full-length assembled genome, the reference sequence. We have assembled 117 Mb of the *A. thaliana* Ler genome into five chromosome-equivalent sequences using a combination of short Illumina reads, long PacBio reads, and linkage information. Whole-genome comparison against the reference sequence revealed 564 transpositions and 47 inversions comprising around 3.6 Mb, in addition to 4.1 Mb of non-reference sequence mostly originating from duplications. Though rearranged regions are not different in local divergence from co-linear regions, they are drastically depleted for meiotic recombination in heterozygotes. Using a 1.2 Mb inversion as an example, we show that such rearrangement-mediated reduction of meiotic recombination can lead to genetically isolated haplotypes in the world-wide population of *A. thaliana*. This work gives first insights into the degree and type of variation, which will be revealed once full-length assemblies will replace resequencing or other reference dependent methods.

GGM 36

DEVELOPMENT OF A MICROFLUIDIC-MULTIPLEX PCR-BASED TARGETED NEXT GENERATION SEQUENCING METHOD FOR GENETIC VARIANT SCREENING

Fass M.^{1,2}, A. Puebla¹, J. Zubrzycki¹, C. Filippi¹, V. Nishinakamasu¹, D. Alvarez³, D. Cordes³, E. Hopp^{1,2,4}, R. Heinz^{1,2,4}, V. Lia^{1,2,4}, N. Paniego^{1,2}. ¹Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA Castelar, Provincia de Buenos Aires, Argentina. ²Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ³EEA INTA Manfredi, Córdoba, Argentina. ⁴Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
Email: monifass@gmail.com

Advances in high-throughput sequencing resulted in the development and optimization of a variety of methods allowing the generation of large amounts of genomic information. Targeted sequencing focuses on specific regions of interest reducing datasets to more manageable sizes, increasing the coverage levels, improving resolution and allowing the discovery and/or validation of rare genetic variants. The goal of this work was to develop and apply a technique which can generate multilocus datasets in any population of interest based on the microfluidic-multiplex PCR sequencing assay (mmPCR-seq) using the Fluidigm Access Array System®. This approach simultaneously undertakes the enrichment of targeted sequences and library preparation. To test the performance of the method, we carried out a mmPCR-seq assay for 48 stress resistance candidate genes and a set of 48 individuals from a mutagenized sunflower population. Therefore, we designed 48 tagged target-specific primer pairs and used them for amplification in combination with Illumina-specific primer pairs containing a barcode and an adaptor sequence. Amplicons were subjected to paired end sequencing with the Illumina MiSeq platform. Our targeted approach generated a large dataset for the selected loci across the amplified samples, allowing the detection and description of mutants. This strategy proved to be cost- and time-effective for the collection of large numbers of target enriched sequences. Moreover, the system can be used for any sample of interest, expanding the potential of detecting genomic variants to many species.

GGM 37

HERRAMIENTAS PARA LA EXPRESIÓN DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

Maidana M.^{1,2,4}, S. Murchio², C. Schwartzman², C. Leoni³, M. Señorale⁴, M. Marín⁴, M. Reguera⁵, E. Blumwald⁵, M. Dalla Rizza².
¹Maestría en Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. ²Laboratorio de Proteínas, Unidad Técnica de Biotecnología, INIA Las Brujas, Uruguay. ³Sección Protección Vegetal, INIA Las Brujas, Uruguay. ⁴Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. ⁵Plant Science Department, University of California, Davis, USA.
 Email: matiasmaidanda@gmail.com

La producción heteróloga de proteínas hoy día pasa a ser una técnica esencial en muchos laboratorios de investigación y desarrollo. Es un arte que seguirá en crecimiento conforme avance la comprensión de los intrincados procesos celulares que regulan la síntesis proteica en tiempo y forma necesaria. En particular, aquellos aspectos estructurales definitivos para la funcionalidad, esenciales al momento de definir la estrategia de producción, ya que de este dependen el rendimiento del proceso y el éxito del producto final. Aq-AMP2 es un péptido antimicrobiano de 3KDa que adopta una conformación estabilizada por tres puentes disulfuro. Se resumen los resultados de diferentes estrategias empleadas para la producción de péptidos antimicrobianos con un abordaje que explorará plataformas procariotas como *Escherichia coli*, hasta eucariotas como *Pichia pastoris* y *Brachypodium distachyon*. Cada plataforma ofrece diferentes recursos génicos fundamentales para la el correcto plegamiento del producto de interés. Para *E. coli* se buscó una acumulación del péptido en los cuerpos de inclusión evitando usar proteínas de fusión. En el caso de *P. pastoris* se buscó la secreción al medio extracelular mediante la fusión con la señal de secreción Factor α de *Sacharomyces cerevisiae*. Por último se planteó la expresión tejido específica en plantas de *B. distachyon* mediante la utilización de distintos promotores, buscando la acumulación del producto en el endospermo de semilla. Se plantea exponer un análisis comparativo de los resultados obtenidos con las diferentes estrategias.

GGM 38

THE REPETITIVE FRACTION IN THE GENOMES OF WILD POTATO RELATIVES FROM *Solanum* SECTION PETOTA

Vaio M.¹, P. Gaiero^{1,3}, F. Vilaró², P. Speranza¹, H. de Jong³.
¹Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay. ²Unidad de Horticultura, INIA Las Brujas, Uruguay. ³Plant Sciences Group, Wageningen University and Research Centre, The Netherlands.
 Email: pgaiero@fagro.edu.uy

There are diverse genetic resources in the potato (*Solanum tuberosum*) gene pool of tuber-bearing species in *Solanum* section Petota, of which *S. commersonii* and *S. chacoense* are important representatives that have been used in potato breeding. Here we aim to investigate genome differentiation in the repetitive fraction of these species and cultivated potato. Illumina low-pass sequencing of *S. commersonii* and *S. chacoense* was performed while for *Solanum tuberosum* Group Tuberosum (RH) and *S. tuberosum* Group Phureja (DM) sequences publicly available from PGSC were used. Major repeat families were quantified using graph-based clustering in the RepeatExplorer pipeline. All repeat families and lineages were common across species, with the exception of one species-specific satellite for *S. chacoense*. However, there were quantitative differences in abundance and in the genomic proportion of repetitive DNA. In total, between 37 and 47% of the genomes was represented by repetitive sequences. Most of the repeats were long terminal repeat (LTR) retrotransposons accounting for 25 to 31% of the genomes, mostly *Gypsy* elements. Differences in abundance between the cultivated and wild species were detected for some types of repetitive sequences, especially DNA transposons, satellites, some families of LTR elements and members of the *Caulimoviridae* pararetrovirus family. Our results suggest differences in the dynamics of amplification/elimination of repeats between these wild species and the cultivated species in section Petota.

GGM 39

EFECTO XENIA AL INICIO DE LA FORMACIÓN DE LA SEMILLA EN *Paspalum notatum*

Pozzi F.I.¹, G.R. Pratta¹, C.A. Acuña², S.A. Felitti¹. ¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario-CONICET (IICAR-CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Santa Fe, Argentina. ²Instituto de Botánica del Nordeste-CONICET (IBONE-CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE, Corrientes, Argentina.
Email: felitti@iicar-conicet.gob.ar

Xenia es el efecto del genotipo del polen en el desarrollo de la semilla o fruto. Tiene gran importancia agronómica, utilizándose en el mejoramiento genético vegetal, por ejemplo, en la búsqueda del incremento del rendimiento de granos. Aunque se reportan numerosos estudios sobre xenia, su efecto a nivel molecular ha sido poco estudiado. Por ello, se realizó un estudio molecular utilizando la especie *Paspalum notatum* Flügge, gramínea con razas diploides (2x) de reproducción sexual y razas tetraploides (4x) apomícticas y pseudógamas. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) demostrar el efecto xenia sobre el transcriptoma de cruzamientos que involucran genotipos paternos con diferente nivel de ploidía y modo de reproducción; 2) demostrar que el efecto comienza tempranamente en el desarrollo de la semilla. Para ello, luego de tres horas de ocurrida la polinización, momento en el que ya ha ocurrido la fecundación de los núcleos polares, se realizó la comparación del cDNA-AFLP de una planta madre testigo sin polinizar, genotipo Q4117 (4x, apomíctico y pseudógamo), con respecto a dos cruzamientos con distinto dador de polen: Q4117xH398 (2x, sexual) y Q4117xQ3775 (4x, apomíctico y pseudógamo). Del análisis de la expresión génica diferencial se obtuvo un total 106 bandas, de las cuales 26,41% fueron únicas para el cruzamiento Q4117xH398 y 4,72% únicas para el cruzamiento Q4117xQ3775. Estos resultados muestran evidencias del efecto xenia a nivel molecular y que dicho efecto comienza en etapas muy tempranas del desarrollo de la semilla.

GGM 40

PRESENCIA DE LA MUTACIÓN *TRP-574* EN POBLACIONES DE *Raphanus sativus* RESISTENTES A HERBICIDAS INHIBIDORES DE AHAS EN EL SUDESTE BONAERENSE

Vercellino B.^{1,2}, F. Torres Carbonell¹, C. Pandolfo^{1,2}, M.S. Ureta^{1,2}, M. Cantamutto³, A. Presotto^{1,2}. ¹Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. ²CERZOS-CONICET. ³INTA, EEA H. Ascasubi, Argentina.
Email: rbvercellino@cerzos-conicet.gob.ar

El uso repetido de herbicidas para reducir las infestaciones de malezas ha llevado al incremento de biotipos resistentes. El nabón (*Raphanus sativus* L.) es una maleza anual frecuente en los sistemas agrícolas de la región pampeana. En el sudeste bonaerense se han detectado dificultades en el control de esta especie con herbicidas inhibidores de la enzima acetohidroxiácido sintasa (AHAS). Se colectaron semillas de biotipos de nabón de 10 sitios de esta región. Plántulas en el estado de dos hojas de estos biotipos fueron asperjadas con metsulfurón a una dosis de 16 g.i.a.ha⁻¹ (2X). Las plantas sobrevivientes fueron analizadas mediante un marcador CAPS que permite identificar la mutación *Trp-574* en el gen que codifica para AHAS. Esta mutación le confiere resistencia a las cinco familias químicas de herbicidas AHAS. Cuatro poblaciones (LOB0811, TUP1014, LDU0514 y PIE12) mostraron supervivencia de individuos a la aplicación de metsulfurón en frecuencia de 0,5, 65,3, 89,5 y 94,0%, respectivamente. Se confirmó la presencia de la mutación *Trp-574* en plantas sobrevivientes de las cuatro poblaciones mencionadas. PIE12 mostró individuos homocigotas para la mutación *Trp-574*, lo que indicaría un proceso de selección intenso. TUP1014 y LDU0514 presentaron individuos heterocigotas, atribuido a un proceso de selección más reciente. Por otro lado, LOB0811 sería un caso extremo en el comienzo del proceso de generación de resistencia.

GGM 41

GENOME-WIDE ASSOCIATION MAPPING FOR SCLEROTINIA HEAD ROT RESISTANCE IN SUNFLOWER

Filippi C.V.¹, N.C. Aguirre^{1,2}, J.E. Zubrzycki¹, J.A. Di Rienzo³, J.F. Montecchia^{1,2}, S. Gonzalez^{1,2}, M. Rivarola^{1,2}, F.J. Quiroz⁴, D. Alvarez⁵, H.E. Hopp^{1,6}, R.A. Heinz^{1,2,6}, V.V. Lia^{1,2,6}, N.B. Paniago^{1,2}.

¹Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA Castelar, Argentina.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

³Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

⁴EEA INTA Balcarce, Argentina.

⁵EEA INTA Manfredi.

⁶Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Email: filippi.carla@inta.gob.ar

Argentina has a long tradition in sunflower breeding, and its distinct germplasm is a valuable genetic resource for crop improvement. During the last five years we evaluated the response of 135 sunflower inbred lines from the INTA's breeding program to *Sclerotinia* Head Rot (SHR), one of the most devastating diseases in all sunflower growing areas. Disease incidence, severity and incubation period were registered after assisted inoculation with the pathogen in replicated field trials. Significant variability for resistance to SHR was found for all phenotypic variables. To identify and characterize new sources of disease resistance, we conducted a genome-wide association mapping study (GWAS). Plants were genotyped using the double digest RADseq (ddRADseq) approach combining SphI and EcoRI restriction enzymes. Illumina sequencing data were processed through a custom bioinformatics workflow, and single nucleotide polymorphisms (SNPs) were called using Stacks. Data was filtered for quality, and loci with >30% missing data and minor allele frequency lower than 5 % were discarded. A total of 5,270 genomic regions, totaling 19,444 SNPs were considered for GWAS. Mixed linear models accounting for population structure and kinship relatedness were used for the statistical analysis of phenotype-genotype associations. GWAS results are discussed and compared to previous candidate gene studies. The ddRADseq approach provided a powerful tool to gain new insights into the genetic basis of SHR resistance and emerged as a promising platform for crop molecular breeding.

GGM 42

CARACTERIZACIÓN GENÉTICO MOLECULAR DE ACCESIONES DE OLIVO (*O. europaea* L.) DE LA COLECCIÓN DE LA EEA-INTA, CATAMARCA, ARGENTINA

Costero B.¹, R.J. Taborda¹, A. Toro³, L. Franceschini¹, M.

Cisneros¹, S. Ceballos¹, W. Balcazar¹, F. De Blas², L. Torres¹.

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

²Becario CONICET, Argentina.

³EEA-INTA Catamarca, Argentina.

Email: bcostero@agro.unc.edu.ar

El olivo cultivado (*O. europaea* L.), es una especie rica en cultivares, con numerosos casos de sinonimias y homonimias que dificultan su distinción e identificación. La caracterización inequívoca de los mismos resulta ineludible para integrar colecciones y bancos de germoplasma. Los objetivos del trabajo fueron caracterizar mediante microsatélites, 11 accesiones de olivo de la colección de la EEA-INTA Catamarca, y determinar su similitud genética con cultivares de referencia del banco de germoplasma de la EEA-INTA Junín, Mendoza. A partir de hojas jóvenes se extrajo el ADN para su análisis con siete microsatélites. Los productos de la PCR se visualizaron bajo luz UV en geles de bis-acrilamida al 1 %. Con los datos moleculares se calcularon parámetros de variabilidad y distancia genética entre los cultivares/genotipos de Catamarca y los referentes de Junín, Mendoza, y se realizó un análisis de coordenadas y de componentes principales. Todos los loci resultaron polimórficos y la Ho fue mayor que la He excepto para los loci DCA3, Gapu71B y EMO90, siendo positiva la probabilidad de alelos nulos. Se confirmó la identidad genética de las accesiones registradas como "Criolla San Martín", "Maurino", "Frantoio" y "Canino" en la colección de Catamarca, respecto de los materiales de referencia. El gráfico de dispersión mostró que Arauco, Criolla San Martín y Sel 1:92C están genéticamente más relacionados entre sí que con los cultivares Maurino, Arbequina y la variedad I.77.042.C. Estos resultados contribuyen a la caracterización de variedades con caracteres de interés agronómico.

GGM 43

ADVANCES IN THE DEVELOPMENT OF COWPEA GENOME RESOURCES

Muñoz-Amatriain M.¹, S. Londardi¹, S. Wanamaker¹, M.C. Luo², P. Roberts¹, T.J. Close¹. ¹University of California Riverside, USA.

²University of California Davis, USA.

Email: maria.munoz-amatriain@ucr.edu

Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) is a primary source of protein for millions of people in sub-Saharan Africa and other parts of the developing world. In South America, Brazil is the major producer and consumer of this crop. Cowpea is a warm season legume along with soybean and common bean, although it is more drought and heat tolerant than most of its legume relatives. Despite its relevance to agriculture in the developing world and its stress resilience, genomic resources have lagged behind most other major crop plants. We have developed new genome resources from the African cultivar IT97K-499-35, which include a BAC-based physical map and assembled sequences from 4,355 of these BACs, as well as a whole-genome shotgun (WGS) assembly based on Illumina short reads. In addition, WGS sequences from 36 diverse cowpea accessions supported the development of a genotyping assay for over 50,000 SNPs, which has been used to produce a consensus genetic map. This high-density genetic map has enabled the anchoring of 100 Mb of WGS and 420 Mb of BAC sequences, and the exploration of synteny between cowpea and common bean. Further work involves the development of a complete and annotated reference sequence of IT97K-499-35 by including PacBio long reads, RNAseq data, and a BioNano optical map. The new genome resources will contribute to accelerate the breeding of cowpea varieties to address food security issues in the face of limited-input farming and climate stress.

GGM 44

DISEÑO DE MICROSATÉLITES PARA *Solanum commersonii* A PARTIR DE INFORMACIÓN GENÓMICA

Sandro P.¹, I. Rebollo¹, P. Gaiero¹, M. Vaio¹, F. Vilaró², P.

Speranza¹. ¹Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ²Unidad de Horticultura, INIA-Las Brujas, Montevideo, Uruguay.

Email: pasp@fagro.edu.uy

La papa cultivada (*Solanum tuberosum*) es el cultivo hortícola de mayor importancia a nivel mundial. Debido a su estrecha base genética, las especies silvestres emparentadas representan fuentes de resistencia a estrés biótico y abiótico muy importante. *S. commersonii* (cmm) es una especie nativa de Uruguay, estrechamente relacionada con la papa cultivada, que presenta resistencia a *Ralstonia solanacearum* y a bajas temperaturas. Con el objetivo de caracterizar la estructura genética y explorar eficientemente el germoplasma disponible nos propusimos desarrollar un conjunto de marcadores moleculares altamente informativos. Para ello se diseñaron microsátélites a partir de secuencias genómicas de cmm generadas a partir del ensamblado de lecturas cortas de Illumina. Se diseñaron 140 pares de cebadores en la plataforma Geneious R9. Los cebadores se amplificaron y probaron en un panel variable de individuos de poblaciones naturales de cmm. Los marcadores que resultaron polimórficos fueron amplificados en una progenie segregante biparental para comprobar su segregación mendeliana. El 5% de los cebadores amplificó y dentro del total amplificado 25% fue monomórfico, mientras que 1%, 35% y 26% mostraron 2, 3 y 4 alelos respectivamente en la población biparental y todos mostraron segregación mendeliana. En el futuro estos marcadores serán además mapeados y aplicados al monitoreo de la introgresión de germoplasma de cmm en la papa.

GGM 45

UTILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA EMA-2 RECOMBINANTE DE *Theileria equi* EN PRUEBAS DE INMUNODIAGNÓSTICO

Menegon Y.A.¹, A.M. Vianna¹, A.P.S. Stori de Lara², G.B. Weege², R.C. Cunha¹, F.P.L. Leite¹. ¹Núcleo de Biotecnología, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil. ²Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil. Email: yasminealves27@gmail.com

La theileriose equina, enfermedad endémica en Brasil, es una periplasmose causada por el protozooario intraeritrocitario, *Theileria equi*. Esta enfermedad provoca pérdidas asociadas a factores clínicos como restricción al tránsito de equinos seropositivos. El diagnóstico y la prevención de esa enfermedad se hacen necesarios en áreas endémicas y no endémicas debido a la diseminación de los vectores (garrapatas) del protozooario y de su alta prevalencia. Distintas plataformas de ELISAs han sido desarrolladas con el empleo de antígenos recombinantes. La proteína de superficie EMA-2 de merozoito es liberada en el citoplasma y en la membrana del eritrocito, sugiriendo ser uno de los primeros antígenos reconocidos por el sistema inmune. El objetivo de este estudio fue evaluar la proteína EMA-2 de *Theileria equi*, expresada en *Pichia pastoris*, como inmunobiológico. Una vez hecha la expresión de la glicoproteína EMA-2 (rEMA-2) se probó la inmunogenicidad de la misma en ratones previamente vacunados. Fueron utilizados 10 ratones, hembras de linaje BALB/c separadas en dos grupos. El grupo 1 recibió 150 µL de PBS 1x, el grupo 2 recibió 150 µL de vacuna conteniendo 50 µL de la proteína rEMA-2 por vía sub cutánea, en los días 0 y 14. Se hizo la colecta de sangre vía retro orbital en los días 0, 14, y 28. La proteína demostró inmunogenicidad en ELISA la cual fue sensibilizada con 200 ng de rEMA-2 por pocillo. Concluyese en este estudio que la proteína rEMA-2 es antigénica e inmunogénica, pudiendo ser usada en pruebas de inmunodiagnóstico.

GGM 46

ANALYSIS OF BACTERIAL DIVERSITY IN MAIZE RHIZOSPHERE AND BULK SOIL USING DGGE AND 454-PYROSEQUENCING OF THE 16S RRNA GENE

Federici M.T.¹, N. Bajsa², P. Lagurara², S. Revale³, C. Leoni¹, J. Marcondes⁴, M. Dalla Rizza¹. ¹Unidad de Biotecnología, Estación Experimental Wilson Ferreira Aldunate, Las Brujas, INIA, Canelones, Uruguay. ²Laboratorio de Ecología Microbiana, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay. ³Instituto de Agrobiotecnología Rosario (INDEAR), Plataforma de Genómica y Bioinformática, CCT Rosario, Argentina. ⁴Laboratório de Genética Aplicada, Departamento de Biología Aplicada à Agropecuária, Univ. Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Email: mfederici@inia.org.uy

Management practices used in maize production have an impact on soil agroecosystem where different microbial communities coexist. Bacteria inhabiting soil are numerous and diverse, but we know very little about their ecological distribution. Here we analyzed the bacterial community diversity in three environments: the rhizosphere of two transgenic maize cultivars grown in Uruguay, agricultural soil and non-cultivated bulk soil near the experimental site. We followed two metagenomic approaches: DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) and 454-pyrosequencing of 16S rRNA gene. Through pyrosequencing, the three environments analyzed differentiated in terms of bacterial composition. However, no differences were found in the relative abundance of the ten most represented phyla in the rhizosphere of the two cultivars at different phenological stages. We found significant differences of Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, Proteobacteria and Verrucomicrobia phyla, comparing agricultural and non-cultivated bulk soils. Also we found a significant enrichment of members of the phylum Gemmatimonadetes in all rhizosphere samples compared to bulk soil ones. Through DGGE analysis rhizosphere bacterial communities of maize changed at different phenological stages in both cultivars. Through this study, we provide baseline information about bacterial specific taxa within maize agroecosystem for further evaluation of possible rhizosphere bacterial community shifts of genetically modified maize cultivars under different management practices.

GGM 47

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS ASOCIADAS A LA DINÁMICA DEL P EN SUELOS DE URUGUAY

Garaycochea S.^{1,2}, N. Altier¹. ¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. ²Facultad de Agronomía, UdelaR, Montevideo, Uruguay
Email: sgaraycochea@inia.org.uy

Los microorganismos del suelo son parte integral del ciclo del fósforo (P), mediando la disponibilidad de este elemento para las plantas. Se prevé que en dos décadas, las fuentes de P de alta calidad sean un recurso restrictivo. Esto justifica el desarrollo de sistemas de producción más eficientes en el uso de P, siendo los microorganismos una estrategia atractiva. Este trabajo tiene como objetivo caracterizar la diversidad estructural de las comunidades microbianas asociadas a la dinámica del P en suelos de Uruguay utilizando tecnología de secuenciación masiva. Para ello se seleccionaron cinco sitios representativos, se caracterizaron por sus propiedades físicas y químicas y se determinaron los perfiles de diversidad a través de técnicas de secuenciación masiva del fragmento 16S rDNA. Para estos sitios se observó un amplio rango del contenido de P total (150–700 ppm). El porcentaje en el contenido de P orgánico varió entre 49–75% del P total del suelo, indicando la importancia de la fracción de origen orgánico en los suelos seleccionados. Los valores determinados de densidad aparente, uno de los parámetros que influyen en la estructura de las comunidades de microorganismos, oscilaron entre 1,5 g/cm³ (suelos sobre areniscas triásicas) y 0,07 g/cm³ (suelos superficiales sobre lavas basálticas). Para cada sitio se establecieron las relaciones existentes entre la diversidad y las propiedades físicas y químicas. Los perfiles obtenidos dan cuenta de una diversidad microbiana influenciada por las características de cada sitio.

GGM 48

DESARROLLO DE VACUNA UNIVERSAL CONTRA LEPTOSPIROSIS CON PROTEÍNA CONSERVADA EN EL GENOMA DE LAS ESPECIES PATOGENICAS

Montano A.M.¹, M.M. Silveira¹, A.J.A. McBride¹, D.J. Souza¹, L.N. Conrad¹. ¹Núcleo de Biotecnología, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.
Email: matheusmontano64@hotmail.com

Leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial que afecta ampliamente la pecuaria, provocando infertilidad, pérdida de peso, abortos y muertes. Las vacunas comerciales disponibles son bacterinas inactivadas, que fallan en conferir inmunidad de larga duración, además de no conferir protección cruzada. Debido a la gran diversidad genética entre las especies de *Leptospiras*, se produjo la necesidad de la búsqueda por antígenos conservados en especies patogénicas para el desarrollo de una vacuna universal contra leptospirosis. La proteína recombinante LigB juntamente con los adyuvantes AddaVax (Span, Escualeno y Tween 80) o Freund's (óleo mineral) fue utilizada en preparaciones vacúnales. Esas vacunas fueron evaluadas en el modelo letal de leptospirosis (*hamster Golden Syrian*). Los hamsters fueron inmunizados con dos dosis de 50 µg de rLigB, vía intramuscular (0 y 14 días), mientras que el grupo control recibió PBS. El desafío intraperitoneal fue realizado 28 días después de la primera inmunización, con 5×DL50 de *L. interrogans* serovar Copenhageni Fiocruz L1-130. Se tomaron muestras de sangre para, a través del ELISA, evaluar la respuesta inmune inducida por las vacunas. El grupo vacunado con rLigB/Freund's respondió con mayor título de anticuerpos que los demás. La eficacia de las vacunas rLigB/AddaVax y rLigB/Freund's fue 100 %. En el grupo control 62,5% de los animales sobrevivieron inviabilizando un análisis estadístico. La sobrevivencia del grupo control puede ser explicada por la falta de virulencia de la cepa, o porque la vía de infección no ha sido lo suficiente letal.