

## GGM 1

**DELECIÓN 1P36 ATÍPICA EN UNA NIÑA CON CARDIOPATÍA CONGÉNITA Y DISMORFIAS CARACTERIZADA POR HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARADA MEDIANTE ARRAY (ACGH)**

Cruz C., V. Huckstadt<sup>2</sup>, G. Zelaya<sup>1,3</sup>, M.E. Foncuberta<sup>3,4</sup>, V. López<sup>1</sup>, A. Moresco<sup>2</sup>, C. Alonso<sup>2</sup>, M.G. Obregón<sup>2</sup>, E. Baialardo<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Servicio de Genética, Laboratorio de Citogenética, Hospital de Pediatría Garrahan; <sup>2</sup>Servicio de Genética, Área Clínica, Hospital de Pediatría Garrahan; <sup>3</sup>Laboratorio de array-CGH-Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan; <sup>4</sup>Servicio de Genética, Laboratorio de Biología Molecular, Hospital de Pediatría Garrahan, Argentina. carolinacruz2325@gmail.com

El síndrome de microdelección 1p36 afecta a 1 de cada 5000 nacidos vivos; el 29% de los casos presenta delecciones intersticiales. Se describen dos zonas críticas: una distal o clásica (chr1:6289764\_6289973) y otra proximal (chr1:8395179\_11362893). En estas regiones existen genes candidatos que pueden contribuir al desarrollo de malformaciones cardiovasculares como: *KCNAB2*, *RERE*, *PDPN*, *SPEN*, *CLCNKA*, *UBE4B*, *PRDM16*, entre otros. El fenotipo de los pacientes varía según la región afectada. El objetivo de este trabajo es presentar una paciente con una delección 1p36 que abarca parte de ambas zonas críticas. Al nacimiento, por presentar cardiopatía congénita compleja (CIVs múltiples, aorta bicúspide con estenosis leve, válvula pulmonar displásica, displasia tricuspídea) y dismorfias faciales, coincidente con lo reportado en otros pacientes, se solicitó un cariotipo que mostró un patrón de bandas G anómalo en el brazo corto del cromosoma 1, y la técnica de FISH evidenció una disminución en el tamaño de una de las dos señales de la sonda 1p36. Los cariotipos parentales fueron normales. Se realizó aCGH, sobre la plataforma SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60k, que evidenció una delección de 13,1 Mb: arr[GRCh37] 1p36.32p36.13(4658392\_17753699) x1 y que involucra parte de ambas zonas críticas. La sumatoria de las técnicas utilizadas permitió una correcta identificación de la región involucrada y confirmar la etiología del cuadro clínico de nuestra paciente.

## GGM 2

**CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL INFLAMATORIO EN HERIDAS DE PACIENTES CON EPIDERMOLISIS BULOSA**

Fuentes I.<sup>1,2</sup>, A. South<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile; <sup>2</sup>DEBRA Chile, Santiago, Chile; <sup>3</sup>Department of Dermatology and Cutaneous Biology, Thomas Jefferson University, Philadelphia, Pennsylvania, USA. ignacia.fuentesbustos@gmail.com

Epidermolisis bulosa (EB), también conocida como “piel de cristal”, denomina a un grupo de enfermedades hereditarias de la piel. Esta enfermedad se caracteriza por una fragilidad excesiva de la piel y mucosas, que provoca primero ampollas y luego heridas. Recientes estudios han demostrado que EB no es sólo una enfermedad dermatológica de causa hereditaria, sino que habría un componente inmunológico que estaría modificando la severidad de ésta. Sin embargo, la contribución de este componente aún no ha sido explorado en el cerrado de heridas. El objetivo de este estudio es caracterizar las células del sistema inmune que colonizan las heridas, con la intención de definir perfiles que pudieran dar cuenta de la variabilidad que existe entre heridas y pacientes. Para eso, aislamos células de los apósitos que recubren las heridas y estudiamos las diferentes poblaciones por citometría de flujo. Logramos aislar números significativos de células viables provenientes de apósitos de descarte (entre 5 y 120 millones), siendo una mezcla de células de la piel y del sistema inmune. Además, logramos identificar tanto células CD45+ como CD45-, y en menor representación linfocitos T CD3+ y otras, sugiriendo un infiltrado inmunológico diferencial en heridas. En resumen, el desarrollo de esta novedosa tecnología nos permite caracterizar cada herida de manera independiente, no invasiva ni dolorosa para los pacientes. Actualmente, estamos comparando las sub-poblaciones con el status de la herida, con el fin de poder comprender mejor el impacto del sistema inmune en el cerrado de heridas.

### GENE EXPRESSION PROFILES OF SEVEN miRNAs IN NORMAL BONE MARROW

Santos J.F.<sup>1,2,3</sup>, R.S. Almeida<sup>2</sup>, R.G. Gomes<sup>4</sup>, L.C. Alves<sup>1,2</sup>, E.A. Donadi<sup>5</sup>, N. Lucena Silva<sup>2,4</sup>. <sup>1</sup>Cellular and Applied Molecular Biology program, Institute of Biological Sciences, University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil; <sup>2</sup>Aggeu Magalhães Institute, Oswaldo Cruz Foundation-FIOCRUZ-PE, Recife, PE, Brazil; <sup>3</sup>Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil; <sup>4</sup>Pediatric Oncology, Professor Fernando Figueira Integral Medicine Institute (IMIP Hospital), Recife, PE, Brazil; <sup>5</sup>Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil.

jair.figueredo@outlook.com

MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs of 19 to 22 nucleotides, which are involved in the regulation of gene expression in normal and altered cell lines. The aim of this study was to examine the expression levels of 7 miRNAs in healthy bone marrow of pediatric individuals that were referred to the pediatric oncology (IMIP Hospital) for confirmation of leukemia, but the myelogram was normal, and they were discharged. RNA extracted from 4 normal bone marrow were submitted to miRNA reverse transcription using TaqMan advanced miRNA cDNA synthesis kit and posterior relative quantification using TaqMan advanced miRNA assay kit with TaqMan fast advanced master mix on a 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems). The target miRNAs were miR-9-5p, miR-10a-5p, miR-4516, miR-486-5p, miR-4488, miR-584-5p and miR-181a-5p, and the miR-191a-5p was used as endogenous control. Relative expression analysis was performed by  $\Delta C_t$  (Ct<sub>target</sub>-Ct<sub>miR-191-5p</sub>) method. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 5.0 software. The median relative expression of each miRNAs was: miR-9-5p (7.135), miR-10a-5p (6.823), miR-4516 (4.571), miR-486-5p (2.648), miR-4488 (9.215), miR-584-5p (5.720) and miR-181a-5p (-0.039). The expression of these miRNAs were reported to be different in bone marrow of children with different subtypes of acute myeloid leukemia, therefore, our results will contribute to better understanding of role of these miRNAs in healthy bone marrow, and for dimensioning the changing in hematological malignancies.

### ALTERATIONS IN GENE EXPRESSION PROFILES CORRELATED WITH CYTOTOXICITY OF RUTHENIUM(II)-LAPACHOL COMPLEX IN PROSTATE CANCER CELLS

De Grandis R.A.<sup>1</sup>, K.M. De Oliveira<sup>2</sup>, A. Azevedo Batista<sup>2</sup>, F.R. Pavan<sup>1</sup>. <sup>1</sup>São Paulo State University, Brazil; <sup>2</sup>Federal University of São Carlos, Brazil.

r.grandis@unesp.br

Prostate cancer is the second most common cause of cancer-related death in men and the fourth most commonly occurring cancer overall. There were 1.3 million new cases in 2018. Aiming to study the transcriptional profiles displayed by DU-145 prostate cells undergoing the treatment with the promising [Ru(lap)(dppm)(phen)]PF<sub>6</sub> complex (DP-LP), gene expression analysis was performed by a specific cancer drug target pathway by the RT2 Profiler PCR Array method. Cell survival and apoptosis induction following treatment were also evaluated by standard methods. The complex DP-LP at concentrations of 0.125 to 1.5  $\mu$ M caused a pronounced reduction in cell survival rates seven days after treatment, whereas concentrations higher than 1.0  $\mu$ M were effective in reducing the survival rates to ~1%. Moreover, the population of apoptotic cells treated with the complex had increased remarkably with dose-dependent relation. Gene expression analysis revealed changes in the expression of genes related to cell cycle control and apoptosis. Statistically significant up or down-regulation in gene expression was detected in 32 genes in treated prostate cancer cells compared with the non-treated cells. Antiapoptotic genes such as *BCL2* and *BIRC5* (survivin) and Aurora kinase A and B were down-regulated. The negative regulation of transcription of these genes suggests that the mechanism of action of DP-LP involves cell cycle arrest in G<sub>2</sub>/M and induction of cell death by apoptosis.

## GGM 5

## MICROARRAY CROMOSÓMICO EN PACIENTES CON DISCAPACIDAD INTELECTUAL, DISMORFIAS Y/O MALFORMACIONES CONGÉNITAS EN UN HOSPITAL PÚBLICO PEDIÁTRICO

Zelaya G.<sup>1,2</sup>, M.E. Foncuberta<sup>2,3</sup>, A. Moresco<sup>4</sup>, M. Bonetto<sup>3,5</sup>, E. Baialardo<sup>1</sup>, M.G. Obregon<sup>4</sup>, C. Alonso<sup>6</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Citogenética, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>2</sup>Laboratorio de array-CGH, Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>3</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>4</sup>Área Clínica, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>5</sup>Laboratorio de extracción centralizada de ácidos nucleicos, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>6</sup>Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina.  
gabyzelaya@gmail.com

El análisis de *microarray* cromosómico (a-CGH) permite identificar variaciones en el número de copias (CNVs) de material genómico con mayor resolución que el cariotipo convencional, incrementando la sensibilidad diagnóstica. En los pacientes con discapacidad intelectual, dismorfias y/o malformaciones congénitas es considerado estudio de primera línea diagnóstica. El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de a-CGH en una serie de 79 pacientes: 50 con cariotipo normal (CN) y 29 patológico (CP), utilizando las plataformas *SurePrintG3 ISCA v2* y *Baylor CGH 8x60K*. En el grupo de CN se detectaron 8 casos con CNVs patogénicas (16%) y 5 casos (10%) con variantes de significado incierto. Entre los pacientes con CP, se descartó pérdida de material genético en un caso con posible translocación no balanceada. En total, 36 pacientes presentaron a-CGH patológico identificándose 22 casos con deleciones, 8 con duplicaciones y 6 con deleción/duplicación. Los tamaños de las CNVs oscilaron entre 0,008 y 28,7 Mb. En 22 pacientes, las CNVs descritas estuvieron asociadas a síndromes de microdeleción y microduplicación ya descriptos. La implementación de la técnica de a-CGH en el hospital permitió una mejor caracterización de las anomalías cromosómicas previamente detectadas en el análisis citogenético convencional e incrementó la sensibilidad diagnóstica en pacientes con CN. En nuestra experiencia, el a-CGH permitió un diagnóstico más temprano, contribuyendo a una adecuada planificación de la atención del paciente y a un correcto asesoramiento genético de las familias.

## GGM 6

## REARREGLO CROMOSÓMICO COMPLEJO EN 5P CARACTERIZADO POR HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARADA MEDIANTE ARRAY (ACGH)

Daroqui J.M.<sup>1</sup>, A. Moresco<sup>2</sup>, G. Zelaya<sup>1,3</sup>, M.E. Foncuberta<sup>3,4</sup>, J.D. Scheifer<sup>1</sup>, S. Abbate<sup>2</sup>, C. Alonso<sup>3</sup>, M.G. Obregon<sup>2</sup>, E. Baialardo<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Citogenética, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>2</sup>Área Clínica, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>3</sup>Laboratorio de array-CGH, Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>4</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina.  
manuel.daroqui@gmail.com

La combinación de deleciones terminales con duplicaciones del brazo corto del cromosoma 5 son infrecuentes y sus consecuencias difieren dependiendo del tamaño y de la región involucrada en cada una de ellas, siendo en general las deleciones las que producen mayor impacto en el fenotipo. Los rearreglos cromosómicos que involucran el brazo corto del cromosoma 5 a menudo resultan en dos síndromes: el síndrome de Cri du Chat (5p-) y la trisomía 5p. El objetivo es presentar el caso de un paciente que posee una deleción 5p en combinación con una duplicación 5p, especificar la región involucrada y tratar de establecer un correlato con la clínica del paciente. Paciente de sexo femenino evaluada por primera vez a los 13 meses de edad por retraso global del desarrollo, hipotonía, laringomalacia y algunas dismorfias faciales como puente nasal ancho, filtrum largo y poco modelado. Antecedentes de RCIU, CIV, pie bot bilateral, llanto débil y estrabismo. En el estudio citogenético por bandeado GTW se observó la presencia de material adicional en el brazo corto del cromosoma 5. El aCGH mostró una deleción de 11,4 Mb en la región terminal del 5p en combinación con una duplicación intersticial de 15,8 Mb adyacente a la deleción. La paciente no presenta las características clínicas clásicas de los síndromes de deleción ni duplicación 5p; probablemente su fenotipo se debe a la influencia de ambas alteraciones cromosómicas. Para nuestro conocimiento, hasta el momento no hay descrito otro caso con exactamente las mismas alteraciones, por lo que consideramos importante reportar este caso.

## DELECIÓN 3Q27.1-3Q28 CARACTERIZADA POR HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARADA MEDIANTE ARRAY (ACGH)

Rodríguez F.G.I.<sup>1</sup>, J.M. Daroqui<sup>1</sup>, G. Zelaya<sup>1,2</sup>, M.E. Foncuberta<sup>2,3</sup>, C. Sargiotto<sup>4</sup>, A. Moresco<sup>4</sup>, M.V. López<sup>1</sup>, M.G. Obregón<sup>4</sup>, C. Alonso<sup>2</sup>, E.M. Baialardo<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Citogenética, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>2</sup>Laboratorio de array-CGH, Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>3</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; <sup>4</sup>Área Clínica, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina.  
rodfgi@gmail.com

El síndrome de microdelección 3q26.33-3q27.2 se caracteriza por presentar retraso de crecimiento pre y postnatal, hipotonía, discapacidad intelectual (DI) y dismorfias. La haploinsuficiencia de los genes *PARL*, *LAMP3* y *THPO* sería responsable del fenotipo clínico. Contigua a dicha región se describe el síndrome de microdelección 3q27.3 que asocia hábito marfanoide, DI y dismorfias. Se postula que los genes *AHSG* y *ADIPOQ* serían los responsables del cuadro clínico correspondiente. El objetivo es presentar el caso de un paciente con una delección en el brazo largo del cromosoma 3, establecer los puntos de ruptura, identificar la región involucrada y correlacionar los resultados con el fenotipo del paciente. Paciente de sexo femenino de 1 año y 9 meses que consultó por retraso de crecimiento pre y postnatal, hipotonía, retraso global del desarrollo y dismorfias faciales. Se realizó estudio citogenético por bandeado GTW que evidenció un cariotipo: 46,XX,del(3)(q27q29)[20]. La técnica aCGH confirmó una delección en heterocigosis de 6,6 Mb, localizada en el cromosoma 3, regiones 3q27.1-3q28 (chr3: 182837703-189439869) [GRCh37/hg19]. El cariotipo materno fue normal, el paterno no fue remitido. La delección que presenta la paciente se superpone con los dos síndromes de microdelección previamente descritos; pero con más similitudes clínicas al 3q26.33-3q27.2, estando ausentes el hábito marfanoide y las dismorfias faciales características del 3q27.3.

## SECUENCIACIÓN Y ANÁLISIS DE EXOMAS DE PACIENTES CON CÁNCER GÁSTRICO EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO, COLOMBIA

Mejía Ortiz L.G.<sup>1</sup>, C.Y. Rosero Galindo<sup>1</sup>, G. Barreto Rodríguez<sup>2</sup>, M. Corredor Rodríguez<sup>3,4</sup>. <sup>1</sup>Grupo Interdisciplinario de Investigación en Salud-Enfermedad, Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, sede San Juan de Pasto, Nariño, Colombia; <sup>2</sup>Grupo de investigación en Genética Molecular Humana, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de Biología, Universidad del Valle, Cali, Colombia; <sup>3</sup>Grupo Genética y Bioquímica de Microorganismos, GEBIOMIC, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; <sup>4</sup>Grupo Genética, Regeneración y Cáncer, CRC, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.  
lizethmejia3@gmail.com

El cáncer gástrico (CG) es una enfermedad multifactorial en la que intervienen factores tanto ambientales como genéticos. En Nariño, región con una alta incidencia de la patología, existen escasos reportes sobre mutaciones oncogénicas, lo que sugiere la necesidad de estudios NGS para la identificación masiva de variantes que impulsan la enfermedad. Con el objetivo de caracterizar el exoma de pacientes con CG de tipo esporádico en Nariño, se llevó a cabo la secuenciación de exoma en muestras tumorales (FFPE y tejido fresco) de tres pacientes, dos con histotipo intestinal y uno con difuso. Se identificaron un total de 90 SNPs patogénicos en 61 genes previamente conocidos en CG, de los cuales aquellos que se reportaron en los tres pacientes se albergaron en los genes, *XRCC1*, *IL4R*, *TP53*, *HNF1A*, *FLT3*, *APOB*, *BRCA2*, *CDH11*, *COL5A3*, *PKHD1* y *MUC6*. Igualmente, *MUC6* y *MEOX2*, presentaron indels patogénicos en los tres tumores. *MUC6*, *PKHD1* y *COL5A3* se encontraron frecuentemente mutados. Entre las principales vías alteradas se identificaron la vía del ciclo celular y adhesión focal. Los individuos con CG de tipo intestinal presentaron variantes patogénicas en genes como *ATP4A*, *GSTP1* y *CYP2E1* relacionados con la respuesta a la exposición de factores ambientales. Mientras que en el paciente con el histotipo difuso, se identificaron variantes en los genes *FAT4* y *MTHFR* que pueden estar relacionadas con un peor pronóstico, característica de este tipo de cáncer. Estos resultados representan la base de la búsqueda y validación de biomarcadores para guiar el tratamiento de la patología.

## GGM 9

**IDENTIFICATION OF PROFILES OF MUTATIONAL AND CNA PREDICTIVE OF SURVIVAL IN PATIENTS WITH LUNG ADENOCARCINOMA**Orostica K.<sup>1</sup>, Á. Olivera Nappa<sup>1</sup>, G. Navarro<sup>1</sup>, R. Armisen<sup>2</sup>, J. Asenjo<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Universidad de Chile; <sup>2</sup>CEMP Pfizer Chile.

korostica09@gmail.com

Lung adenocarcinoma (LUAD) is one of the most frequent subtypes of Non-Small-Cell Lung Carcinoma (NSCLC), reaching up to 40% of all NSCLC. In addition, LUAD is one of the most aggressive subtypes, where the five-year survival is the lowest compared to other cancers. With the arrival of Next Generation Sequencing (NGS) new therapeutic strategies have been developed, based on the study of the genomic alterations present in tumor cells, which could have an important predictive value of the clinical response. Thanks to this approach, targeted therapeutic strategies have been implemented, based on specific driver mutations present in oncogenes, with lower levels of toxicity and more effective than traditional chemotherapy. However, cancer continues to progress due to the resistance acquired by the targeted treatment. Although the molecular classification of LUAD is a great advance for the development of new therapies, more systematic studies are needed for determining how genomic and clinical characteristics are related to the clinical response of patients with cancer. In this work, we propose to identify specific profiles of co-occurrence and mutual exclusion that alter the clinical response to treatment based on Mutational information and Copy Number Alteration (CNA) in patients with LUAD.

## GGM 10

**EFICÁCIA DO ACÚMULO DE CÉLULAS-TRONCO TUMORAIS INDUZIDAS POR HIPÓXIA E ANÁLISE DAS EXPRESSÕES DOS GENES *CD44*, *ALDH1* E *ZEB1***Bezerra M.A.S.<sup>1</sup>, R.S. Kawasaki Oyama<sup>1</sup>, M.C.A. Nascimento<sup>1</sup>, L.A.M.Ferreira<sup>1</sup>, L.P. Caires<sup>1</sup>, É.C. Pavarino<sup>1</sup>, E.M. Goloni Bertollo<sup>1</sup>, J.V. Maniglia<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Brazil.

maria.santos.quimica@gmail.com

Célula-tronco tumoral (CTT) é uma subpopulação de células malignas que corresponde a 0,01-0,1% das células do tumor, associada à origem, progressão, recidiva tumoral e resistência à radioquimioterapia. Sua identificação só é possível com uso de marcadores específicos. O objetivo é induzir o acúmulo de CTT de câncer de cabeça e pescoço (CCP) em cultura primária utilizando câmara de hipóxia e avaliar a expressão dos genes *CD44*, *ALDH1* e *ZEB1*. Amostras de CCP foram cultivadas e submetidas à hipóxia (2% O<sub>2</sub>) por 12 horas, a 37 °C. As células foram fenotipadas por citometria de fluxo (marcadores *CD44/CD133/ALDH*). Foram cultivadas por 45 dias e fenotipadas novamente. A presença de CTTs foi confirmada pelos ensaios de invasão e migração. Quantificação da expressão gênica foi realizada por RT-qPCR. Análise estatística realizada no programa GraphPadPrism 6, os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes. Como controle foi utilizado células não submetidas à hipóxia. A fenotipagem após 12 horas de hipóxia e 45 dias de cultivo pós-hipóxia mostrou acúmulo de CTTs, confirmado pelos ensaios de invasão e migração ( $p < 0,0001$  e  $p < 0,0001$ ). Houve super expressão dos genes *CD44*, *ALDH1*, *ZEB1* (RQ=24,23 e 12,7) e os genes *CD44*, *ALDH1* apresentaram diferença estatística significativa ( $p = 0,0313$  e  $p = 0,0313$ ). A hipoxia foi eficiente para acúmulo de CTTs evidenciada pela expressão diferencial dos genes quando comparada ao controle no CCP.

## PERIODONTAL PATHOGENS IN BLOOD OF PATIENTS WITH AND WITHOUT CARDIOVASCULAR DISEASE

Fong C.<sup>1</sup>, L. Cifuentes<sup>1</sup>, S. Guauque Olarte<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Universidad Cooperativa de Colombia, Colombia.  
sandra.guauque@campusucc.edu.co

It has been hypothesized that oral pathogen microorganisms can migrate from the mouth to the artery plaques, through the blood, exacerbating atherosclerosis. To compare the oral pathogen microorganisms present in peripheral blood of individuals with and without coronary artery disease. RNA sequences were downloaded from the GEO database (accession number: GSE58150) and were obtained from blood of 8 individuals with (cases=8) and without (controls=8) arterial calcification. The controls had a coronary artery calcium (CAC) score of zero and cases had a CAC>514. After quality controls, the sequences were aligned to the hg38 reference genome using Hisat2. The unmapped sequences were fed into Kraken to determinate bacterial *taxa*. The ecological indices were calculated using Vegan. The Shannon diversity index range from 3.8 to 4.8 in cases and from 3.3 to 4.7 in controls. The species richness was between 817.8 to 1414.7 in cases and between 313.9 to 826.0 in controls. The mean number of species in cases and controls was 1437 and 1297, respectively. The periodonto pathogens *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* were identified in cases and controls in similar quantity. Some microorganisms were found exclusively in cases or controls. This study identified oral microorganisms in blood of patients with and without coronary artery disease using RNA sequencing data from a public database instead of the traditional methods. This study has generated new knowledge to deep in the relationship between this cardiovascular disease and periodontitis.

## ANALYSIS OF GENE PATHWAYS REGULATED BY HOXB2 GENE IN GLIOBLASTOMA

Volgarine Scaraboto N.<sup>1</sup>, C. Cardoso<sup>1</sup>, R. Bortolozo Serafim<sup>1</sup>, V. Valente<sup>2</sup>, W. Araújo Da Silva Júnior<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Ribeirão Preto Medical School, USP, Brazil; <sup>2</sup>School of Pharmaceutical Sciences, UNESP, Brazil.  
natalia.scaraboto@usp.br

HOX genes are a subgroup of the Homeobox family characterized by a high degree of conservation among eukaryotes. In mammals, there are 39 HOX genes distributed in four clusters: HOXA, HOXB, HOXC, and HOXD, located on chromosomes 2, 7, 17 and 12, respectively. HOX genes are transcription factors that act during embryonic development, regulating fundamental biological processes such as proliferation, differentiation, migration and angiogenesis. Recent studies have indicated a tissue-specific expression profile of HOX genes in different tumor types, suggesting an important role in tumorigenesis. Previous results carried out by our group demonstrated that 85% of the HOX genes are over expressed in glioblastoma (GBM), and that the high expression of *HOXB2* is correlated with low GBM survival. In this sense, our main objective is to evaluate the functional role of the *HOXB2* gene in GBM, and for this, the following techniques have been used: Cell culture, Short-hairpin RNA gene silencing, RNA extraction, RT-qPCR gene expression analysis, *in vitro* functional assays (clonogenic, cell proliferation, apoptosis, senescence and cell cycle), analysis of *HOXB2* gene targets by Chromatin Immuno precipitation Sequencing and transcriptome analysis by RNA-Seq. Up to now, our results have demonstrated that *HOXB2* regulates proliferation, apoptosis, senescence and cell cycle, in two GBM cell lines. With the completion of next steps, our study will provide a robust characterization of the functional role of the *HOXB2* gene in glioblastoma, through the identification of its targets.

## GGM 13

**IMPLEMENTACIÓN, DESARROLLO Y EXPERIENCIAS EN GENÓMICA APLICADA AL ESTUDIO DE ENFERMEDADES COMPLEJAS, RARAS Y CÁNCER EN EL ECUADOR**

Paz y Miño C.<sup>1</sup>, A. Zambrano<sup>1</sup>, P. Guevara Ramírez<sup>1</sup>, I. Armendáriz<sup>1</sup>, A. López Cortés<sup>1</sup>, J. García Cárdenas<sup>1</sup>, A. Pérez Villa<sup>1</sup>, V. Yumiceba<sup>1</sup>, S. Guerrero<sup>1</sup>, P. Leone<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Centro de Investigación Genética y Genómica, Universidad UTE, Ecuador.  
genetica\_medica@cesarpazymino.com

Presentamos la experiencia adquirida en 2 años de diagnósticos y análisis con Secuenciación Masiva y Arrays numéricos, aplicados a poblaciones, casos de polimalformaciones y síndromes complejos. Utilizando las plataformas comerciales genómicas (NGS, Illuminay SNPsArrays, Affymetrix), evaluamos 96 personas y en cada una 4813 genes, en 112 muestras de cánceres diversos: 94 genes en cada una, y 20 casos de polimalformados, apoyados por bioinformática. Fortalecimos el programa VARIOMA de los genes ecuatorianos y el programa PROCER de predisposición al cáncer. Tenemos los primeros resultados de variaciones genómicas en pacientes con diagnósticos de enfermedades raras: Cromosopatías raras (5), Von Hippel Lindau (2), Insensibilidad Congénita al Dolor con Anhidrosis (1), canalopatías (3), hiperostosis (1), Síndrome de Kabuki (3), Displasia Geleofísica (1), Cáncer de mama (30), Mieloma Múltiple (30), todos contrastados con población sana (96). Los resultados muestran variantes nuevas no descritas y frecuencias diferentes de variantes relacionadas a los problemas analizados, lo cual estaría asociado al origen étnico mestizo de los ecuatorianos y principalmente su componente nativo americano. Estas variantes las clasificamos como probablemente patogénicas y patogénicas, y otros hallazgos inciertos e inesperados. Los costos genómicos son altos para nuestro medio, lo que restringe los análisis. Concluimos que es más eficiente centrarse en plataformas más reducidas y específicas, con diagnósticos clínicos más precisos o aproximaciones sindrómicas más concretas.

## GGM 14

**COMPARACIÓN DE DOS PANELES COMERCIALES NGS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES SOMÁTICAS EN GENES DE RELEVANCIA EN CÁNCER**

Toro J.<sup>1</sup>, R. Verdugo<sup>2</sup>, C. Villaman<sup>1</sup>, X. Cerda<sup>1</sup>, E. González<sup>2</sup>, R. Armisen<sup>1</sup>, L. Oliveira<sup>1</sup>, E. Bustamante<sup>3</sup>, O. Barajas<sup>4</sup>, M. Ahumada<sup>4</sup>, I. Gallegos<sup>5</sup>, K. Marcelain<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Oncología Básico Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; <sup>2</sup>Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; <sup>3</sup>Fundación Arturo López Pérez (FALP); <sup>4</sup>Departamento de Medicina Interna, Hospital Clínico Universidad de Chile; <sup>5</sup>Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.  
jessica.toro@gmail.com

La secuenciación de última generación (NGS), permite detectar mutaciones en genes específicos, responsables de impulsar o modular la progresión del cáncer. Las plataformas de secuenciación NGS son múltiples y variadas, así como también el diseño de los paneles que permiten el análisis de genes de relevancia en distintos tipos de tumores. Por esto, resulta necesario el determinar parámetros de comparación que permitan realizar una selección adecuada de estos genes. En este trabajo se compararon secuenciaciones realizadas a partir de los kits Oncomine Focus Assay (OFA, 52 genes) en equipo PGM (Ion Torrent), y Truseq Amplicon Cancer Panel (TSACP, 48 genes) en equipo Miseq (Illumina). Para ello se secuenciaron 55 muestras de cáncer de mama con cada uno de los paneles, y se compararon los resultados de secuenciación en los genes que se encuentran cubiertos en ambos paneles. Se compararon las métricas de secuenciación y precisión. Los genes cubiertos por ambos paneles son 25. La concordancia relativa entre ambos paneles se determinó analizando la mutación p.H1047R en el gen PIK3CA, presentando un valor de 87,5%. Ambos paneles presentan ventajas y desventajas que se discuten en este trabajo. La elección del panel debe radicar en el objetivo de uso. El panel OFA tiene una menor cobertura exónica, con secuenciación dirigida principalmente a *hotspots* relacionados con la respuesta a terapias dirigidas. Mientras que el panel TSCAP incluye genes relacionados con el proceso de oncogénesis, pero carece de varios genes importantes para predecir la respuesta a terapias dirigidas.

## CARACTERIZACIÓN CITOGÉNOMICA DE UN REARREGLO INTRACROMOSÓMICO COMPLEJO QUE INVOLUCRA 9P Y 9Q EN UNA PACIENTE CON REVERSIÓN DE SEXO

Warszatska B.<sup>1</sup>, M.V. Castellanos<sup>2</sup>, L. Saitta<sup>2</sup>, S. Pavón<sup>3</sup>, M.J. Guillamondegui<sup>3</sup>, S. Buchiniz<sup>1</sup>, M. Pérez<sup>1</sup>, L. Furforo<sup>1</sup>, S. Rozental<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Centro Nacional de Genética Médica, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos G. Malbrán" Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Unidad de Citogenética, Hospital Central, Mendoza, Argentina; <sup>3</sup>Sección de Genética, Hospital Pediátrico Humberto Notti, Mendoza, Argentina.  
 warszatska.belen@gmail.com

Los reordenamientos en 9p constituyen las anomalías estructurales más frecuentes. Sin embargo se han comunicado pocos casos con rearrreglos cromosómicos complejos (RCC) que involucran a 9p y 9q. Se presentan los hallazgos citogenómicos y clínicos de una paciente que posee un RCC en el cromosoma 9. Se trata de una niña de un mes, única hija de pareja joven no consanguínea. Concorre a la consulta genética por dismorfias faciales y múltiples anomalías congénitas; genitales externos femeninos e imagen ecográfica sugestiva de útero. Evolucionó con severo retraso global de pautas madurativas. El análisis con técnicas GTW, CBG y FISH con sondas asatélite DXZ1 y DYZ3 revelaron un cariotipo 46,XY,add(9)(p?)dn[30]. La técnica de PCR fue positiva para SRY. Las técnicas de MLPA y FISH para regiones subtelerómicas demostraron una deleción 9p y una duplicación 9q con posición en ambos brazos del derivado. La técnica de arrayCGH detectó ganancia de los segmentos 9q34.11q34.3 y 9p24.2p13.1 y deleción de 9p24.3p24.2, variantes de carácter patogénico. Cariotipo propuesto: 46,XY,der(9)(qter→q34.11::p13.1→p24.2::p24.2→qter)dn[30]. El RCC podría interpretarse como un recombinante atípico producto de regiones de homología en 9p y 9q. El fenotipo se asocia a las trisomías y monosomías parciales, debido a genes sensibles a dosis afectados en 9p y 9q. La reversión de sexo estaría relacionada a la deleción del cluster de genes DMRT en 9p.

## PN\_TGS1-LIKE DOWNREGULATION INDUCES THE FORMATION OF MULTIPLE NON-REDUCED EMBRYO SACS IN OVULES OF SEXUAL *Paspalum notatum*

Colono C.<sup>1</sup>, L. Siena<sup>1</sup>, J.P. Ortiz<sup>1</sup>, O. Lebranc<sup>2</sup>, D. Souza Canada<sup>3</sup>, H. Permingeat<sup>3</sup>, S. Pessino<sup>1</sup>. <sup>1</sup>IICAR-CONICET, Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental Villarino, Zavalla, Santa Fe, Argentina; <sup>2</sup>Institut de Recherche pour le Développement, UMR 232 IRD-Universidad de Montpellier, Francia; <sup>3</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental Villarino, Zavalla, Santa Fe, Argentina.  
 colono@iicar-conicet.gob.ar

*Paspalum notatum* is a perennial grass including sexual diploid and apomictic tetraploid cytotypes. The last ones produce maternal seeds by forming non-reduced (aposporous) embryo sacs in ovule nucella, followed by parthenogenetic embryo and pseudogamous endosperm generation. In *P. notatum*, the TRIMETHYLGUANOSINE SYNTHASE 1-LIKE gene (*PN\_TGS1-LIKE*) is up-regulated in ovules of sexual biotypes with respect to apomictic ones. Our objective was to study the role of this particular candidate in the sexuality-apomixis transition. Undifferentiated calli originated from sexual plants were transformed with a *PN\_TGS1*-like antisense construction. Three of the antisense lines (2.9, 2.13 and 2.14) showed a 2-3 fold reduction of *PN\_TGS1*-like expression at both leaves and flowers. *PN\_TGS1*-like down-regulation caused delayed flowering, the emergence of apospory initials around megaspore mother cells and the formation of multiple aposporous-like embryo sacs in 22-24% of all ovules. Moreover, antisense lines developed numerous trichomes on the adaxial surface of leaves. In contrast, the amount of viable pollen in transgenic and control plants was equivalent. Flow cytometry analysis of the scarce seed set (full seeds: 9-13%) revealed embryo:endosperm ploidy ratios corresponding to sexual reproductive events in all cases (100 total seeds). We concluded that *PN\_TGS1*-like is an apospory repressor which must be down-regulated to allow the emergence of unreduced embryo sacs, yet it is not related with parthenogenesis or endosperm development.



GGM 17

### IDENTIFICATION OF THE APOMIXIS-CONTROLLING REGION (ACR) IN THE GENOME OF THE DIPLOID SEXUAL CYTOTYPE OF *Paspalum notatum*

Spoto N.<sup>1</sup>, M. Podio<sup>1</sup>, M. Grisolia<sup>2</sup>, C. Rohr<sup>2</sup>, S. Pessino<sup>1</sup>, J.P. Ortiz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR), CONICET-UNR/Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental Villarino, Zavalla, Santa Fe, Argentina; <sup>2</sup>Instituto de Agrobiotecnología de Rosario (INDEAR), Rosario, Argentina. nico.spoto@gmail.com

Apomixis is an asexual mode of reproduction by seeds associated with polyploidy. It is an advantageous trait for agriculture because it guarantees the maintenance of heterosis. *P. notatum* forms a multiploid species with diploid sexual self-sterile and polyploidaposporous apomictic self-fertile cytotypes. Apomixis in the tetraploid race is controlled by a single chromosomal region (ACR) that showed segregation distortion, lack of recombination and synteny with segments of rice chromosomes 2 and 12. Apospory (one of the apomixis components) was observed in diploid genotypes, although with low expressivity. The objectives of this work were to localize the homologous region/s of the ACR in the diploid genome and identify putative candidates. A draft assembly of the diploid genome, generated by a combination of Illumina<sup>®</sup> and Oxford Nanopore<sup>®</sup> reads, was used as a reference. Twenty ACR-specific sequences from the tetraploid genotype Q4117 were blasted (BLASTN, score > 250, E value  $e < 10^{-50}$ ) over the reference. Out of the 64,166 scaffolds available (average length 5,674 bp), 84 carried ACR-specific sequences. Scaffolds mapping against rice confirmed the syntenic relationships. ORFs searching within scaffolds detected coding sequences associated with development and reproduction. Plotting the selected scaffolds against the ACR-specific sequences showed that the structure of the ACR is partially conserved in the diploid genome. These results suggested that the ACR could be originated during speciation and that apomixis determinant/s can be present at the diploid level.

GGM 18

### TEMPORAL AND SPATIAL EXPRESSION PATTERNS OF THE AUXIN-RESPONSIVE GENE PnIAA30 IN SEXUAL AND APOMICTIC *Paspalum notatum*

Azzaro C.A.<sup>1</sup>, L.A. Siena<sup>1</sup>, M. Podio<sup>1</sup>, J. Stein<sup>1</sup>, S.C. Pessino<sup>1</sup>, J.P.A. Ortiz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR), CONICET-UNR/Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental Villarino, Zavalla, Santa Fe, Argentina. azzaro@iicar-conicet.gob.ar

Apomixis is an asexual mode of reproduction by seeds described in more than 400 angiosperm species. This trait seems to derive from a deregulation of the sexual developmental program occurring in ovules. In *Paspalum notatum*, apomixis is controlled by a heterochromatic non-recombinant genomic region (ACR, after Apospory Controlling Region). Comparative mapping revealed that the ACR is syntenic to a short segment of rice chromosome 12. The locus LOC\_Os12g40890 maps in this region and encodes for the auxin responsive (*Aux/IAA*) gene *OsIAA30*. *Aux/IAA* family members play several roles in plant development by interacting with auxin response factors. Here, we analyzed the expression patterns of the *P. notatum* *IAA30* ortholog/s in reproductive organs of sexual and apomictic genotypes. BLASTn/x searches in *P. notatum* floral transcriptomes identified 5 *Aux/IAA* transcripts. One of them, *PnIAA30*, showed a slight but significant differential expression in apomictic and sexual libraries. qRT-PCR at meiosis and anthesis confirmed the expression differences. *In situ* hybridization showed that the coding strand was expressed in ovaries and microspores of both genotypes, but no hybridization was detected in the MMCs of the sexual genotype. At anthesis strong signals were detected in nucellar cells, polar nuclei and egg apparatus of sexual ovaries. Results indicate that *Aux/IAA* genes are expressed during the *P. notatum* reproductive development and one ortholog of *OsIAA30* showed expression differences between sexual and apomictic ovaries.

## PROGRESS TOWARDS THE GENERATION OF A REFERENCE GENOME OF *Paspalum notatum*

Ortiz J.P.A.<sup>1</sup>, L. Siena<sup>1</sup>, M. Grisolia<sup>2</sup>, C. Rorh<sup>2</sup>, M. Vásquez<sup>2</sup>, M. Podio<sup>1</sup>, S. Pessino<sup>1</sup>, C. Mariac<sup>3</sup>, O. Leblanc<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR)/Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina; <sup>2</sup>Instituto de Agrobiotecnología de Rosario (INDEAR), Rosario, Argentina; <sup>3</sup>DIADE, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Université de Montpellier, Montpellier, France.  
jortiz@unr.edu.ar

*Paspalum notatum* is a multiploid grass species found in natural pastures of South America. The diploid cytotype is sexual and self-sterile, while polyploid ones (3x, 4x and 5x) are pseudogamous aposporous apomicts. Some diploids can form aposporous sacs at low frequencies. Apomixis in the species is controlled by a single non-recombinant region (ACR) that remains poorly characterized. Our objective is to produce a genome draft of the species to be used as reference for mining genes governing apomixis and other agronomically important traits. DNA from the diploid genotype R1 was sequenced using HiSeq-Illumina and Oxford Nanopore technologies. Sequencing outputs reach up to 100x (HiSeq Illumina) and 48x (Nanopore) coverage. Assembly with MINIASM produced 3,843 scaffolds of N50=299,668 bases. The genome completeness estimated by BUSCO was 99%. Scaffolds carrying apomixis-related sequences were identified by BLASTn analyses using genes and markers linked to the trait as query. Scaffolds carrying homologous sequences for 122 rice genes, coding for proteins involved in hormone signaling, development and cell proliferation were identified. Several of them were associated with reproduction. Results presented here will contribute to determine the structure and evolution of the *P. notatum* genome and the functional role of the ACR in apomixis.

## THE ROLE OF *miR160* AND *ARF10* IN THE AUXIN-MEDIATED PLANT REPRODUCTION CONTROL

Pessino S.<sup>1</sup>, C. Colono<sup>1</sup>, C. Azzaro<sup>1</sup>, E. Costantini<sup>2</sup>, L. Colombo<sup>2</sup>, M. Mendes<sup>2</sup>. <sup>1</sup>IICAR CONICET, Rosario, Argentina; <sup>2</sup>Università degli Studi di Milano, Milano, Italia.  
pessino@arnet.com.ar

Apomixis (asexual reproduction via seeds) is considered an evolutionary deviation from sexuality, caused by genetic/epigenetic variations involving one or several developmental genes. However, recent evidence suggested that both reproductive modes are anciently polyphenic and the transition from one to the other can be triggered by environmental signals. In previous comparative transcriptome analyses, we determined that the auxin-controlled genes *miR160* and *ARF10* (one of the *miR160* targets) display up- and down-regulation, respectively, in apomictic plants with respect to sexual ones. The objective of this work was to explore a hypothetical *miRNA160/ARF10* reproductive function in the *Arabidopsis thaliana* sexual model. Analysis of *pARF10:ARF10-GFP* lines revealed expression in a single cell layer surrounding the megaspore mother cell (MMC). An *ARF10* defective line carrying a 5'UTR-located T insertion showed a 3-fold gene expression reduction, ovule abortion and MMC delayed entrance into meiosis. *ARF10* x *pKNU-GFP* crosses displayed a significant reduction of *KNU* expression within MMCs, suggesting differentiation alterations. *miRNA160*-insensitive *pARF10::ARF10-GFP* lines showed *ARF10* expression across the entire ovule, pointing to a *miRNA160*-directed *ARF10* silencing in MMCs, nucella and integuments. The same lines showed multiple MMCs, reduced megaspores, and mature embryo sacs per ovule. We concluded that the *ARF10* spatial pattern of expression in the ovule is determined by the activity *miRNA160* and essential to the onset of meiosis.

GGM 21

## IDENTIFICACIÓN *IN SÍLICO* DE NUEVAS REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS AL CARÁCTER TIPO DE CARPELO EN FRUTOS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum*)

Vazquez D.V.<sup>1,2</sup>, V. Cambiaso<sup>1,2</sup>, J.H. Pereira Da Costa<sup>1,2</sup>, G.R. Rodríguez<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Investigación en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR-CONICET-UNR), Campo Experimental Villarino, Zavalla, Santa Fe, Argentina; <sup>2</sup>Cátedra de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina. vazquez@iicar-conicet.gob.ar

Existe una gran diversidad para la forma de fruto en el tomate cultivado y es un carácter de gran importancia económica. Nuevas versiones del genoma de referencia en tomate y metodologías de análisis *in silico*, proveen herramientas para re-analizar la información existente y obtener resultados inéditos. A partir de un cruzamiento intravarietal, se realizó un análisis de grupos discrepantes y secuenciación de genoma completo, para detectar regiones genómicas asociadas al carácter tipo de carpelo (TC, fusionado o no fusionado). Se identificó una región en la base del cromosoma 6 asociada al carácter. Un análisis posterior de TC en la generación F<sub>2</sub> y las retrocruzas de la F<sub>1</sub> hacia ambos parentales mostró que las frecuencias observadas se ajustan a la segregación esperada para una epistasis doble recesiva. El objetivo fue identificar regiones genómicas asociadas a la segregación de TC mediante nuevas aproximaciones metodológicas bioinformáticas para explicar su herencia. Las secuencias genómicas de los grupos discrepantes se alinearon a la versión SL3.0 del genoma de referencia de tomate y se compararon. Se identificaron los polimorfismos genómicos asociados al carácter mediante la metodología G' utilizando el paquete QTLseqr de R. Se logró identificar un nuevo QTL putativo de 59 Mb de longitud en la región centromérica del cromosoma 10 (p<0,01), además del ya conocido en el cromosoma 6 (p<0,01). El análisis *in silico* determinó que dos *loci* controlan el carácter tipo de carpelo y con marcadores moleculares se confirmará la epistasis doble recesiva.

GGM 22

## COMPARATIVE GENOMICS OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.) AND THE DIPLOID WILD RELATIVES *Solanum commersonii* AND *S. chacoense*

Gaiero P.<sup>1,2</sup>, P.A. Sandro<sup>1,3</sup>, L. Gutiérrez<sup>1,3</sup>, C. Zheng<sup>4</sup>, X. Zhang<sup>5</sup>, H. Tang<sup>5</sup>, H. Van De Geest<sup>6</sup>, G. Sánchez Pérez<sup>6</sup>, S.A. Peters<sup>7</sup>, F. Vilaró<sup>8</sup>, M.E. Schranz<sup>9</sup>, H. De Jong<sup>2</sup>, P. Speranza<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Faculty of Agronomy, University of the Republic, Montevideo, Uruguay; <sup>2</sup>Laboratory of Genetics, Wageningen University & Research, Wageningen, The Netherlands; <sup>3</sup>Department of Agronomy, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA; <sup>4</sup>Biometris, Wageningen University & Research, Wageningen, The Netherlands; <sup>5</sup>J. Craig Venter Institute, Rockville, Maryland, USA; <sup>6</sup>Genetwister B.V., Wageningen, The Netherlands; <sup>7</sup>Applied Bioinformatics, Department of Bioscience, Wageningen University & Research, Wageningen, The Netherlands; <sup>8</sup>National Institute for Agricultural Research, Las Brujas, Canelones, Uruguay; <sup>9</sup>Biosystematics Group, Wageningen University & Research, Wageningen, The Netherlands. pgaiero@fagro.edu.uy

Comparative genomics can provide important information about syteny between the genomes of crop and related species and so assist in introgressive hybridization breeding. The genomes to be compared need to be highly contiguous and complete. To improve the genome assembly of wild potato relative *Solanum commersonii*, we produced a hybrid assembly combining short Illumina reads and long PacBio reads from a haploid clone. We used the 3,645 scaffolds obtained to anchor on the 12 linkage groups that we produced through mapping of 1,728 SNPs from a diploid biparental population. We anchored 601 scaffolds into 12 pseudomolecules, at an anchor rate of 38.65%. Their order was well defined but the orientation of most scaffolds was arbitrary. We used this assembly to make structural comparisons against the published assemblies of DM potato and M6 *S. chacoense*. Genomes were overall highly collinear but there were discontinuities around the pericentromere heterochromatin and some inverted fragments. Although some were confirmed rearrangement, most were assembly artifacts, which will be solved through Bionano Optical mapping. The structural variants and copy number variants that we identified were mostly small and generally located in the pericentromeres, and so are expected not hinder introgressions. However, it is necessary to identify the coding sequences present in the rearranged segments and evaluate their phenotypic results. The high genome homology and collinearity found between *S. commersonii*, *S. chacoense* and cultivated potato encourages its use in introgressive breeding.

## INDUCCIÓN DIFERENCIAL DE HSPS EVALUADA POR ARN-SEQ EN DOS ESPECIES DE TOMATE (*Solanum* spp.) DURANTE LA MADUREZ DEL FRUTO

Arce D.P.<sup>1</sup>, P. Cacchiarelli<sup>2</sup>, M. Giménez<sup>2</sup>, G.R. Rodríguez<sup>2</sup>, G.R. Pratta<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>CIT San Nicolás, Argentina; <sup>2</sup>ICAR, Argentina.  
 debora.arce@gmail.com

La expresión de los 33 miembros de la sub-familia génica de las *small heat shock proteins* (sHSPs) durante la madurez de tomate está bien caracterizada en el cultivar Heinz 1706 (H). Los genotipos Caimanta (C, *S. lycopersicum*) y LA0722 (P, *S. pimpinellifolium*) discrepan para caracteres del fruto tales como peso, vida pos-cosecha, acidez y dureza. El objetivo fue analizar la expresión a nivel de ARNm de sHSPs en C y P. Se secuenciaron los transcriptomas de C y P (NovaSeq, Illumina) en los estados verde maduro (V), pintón (Pi) y rojo (R). Los *reads* obtenidos se alinearon contra la región codificante de las 33 sHSPs de H utilizando el programa bowtie v.1.2.0. Para el análisis de expresión diferencial se utilizó edgeR. Se consideraron inducidos aquellos genes con un  $\log_{2}FC > 1,5$  ( $p < 0,05$ ). Para C, se observaron 4 (Soly03g082420, Soly05g014280, Soly06g076540 y Soly03g113930) y 5 (las anteriores más Soly11g020330) sHSPs inducidas durante el estado P y R comparado con V, respectivamente. En el estado Pi de P, se observaron 5 sHSPs inducidas (Soly05g014280, Soly11g020330, Soly08g078700, Soly03g012340 y Soly09g015020), mientras que sólo una sHSP inducida (Soly05g014280) en estado R. Si bien el número de sHSPs inducidas es similar y son mayormente citosólicas, en P se observó la presencia de una sHSP mitocondrial (Soly08g078700) en estado Pi, mientras que en C aparece inducida sólo una sHSP cloroplástica (Soly03g082420) en Pi y R. Finalmente, Soly05g014280 siempre aparece inducida en ambos genotipos para ambos estados de madurez.

## MULTICHROMOSOMAL STRUCTURE AND FOREIGN MITOCHONDRIAL GENES IN *Ombrophytum subterraneum*

Roulet M.E.<sup>1,2</sup>, C.L. Gandini<sup>1,2</sup>, G. Ponce<sup>3</sup>, L.E. García<sup>1,2,3</sup>, M.V. Sánchez Puerta<sup>1,2,3</sup>.  
<sup>1</sup>Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM), Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.  
 meroulet@gmail.com

Vascular connections between parasitic plants and their hosts allow the passage of water, nutrients, and nucleic acids. Consequently, parasitic relationships facilitate the exchange of genetic information, a process known as horizontal gene transfer (HGT). Most cases of plant-to-plant HGT involve the mitochondrial and nuclear genomes. In this study, we sequenced and analyzed the mitochondrial genome (mtDNA) of the angiosperm holoparasite *Ombrophytum subterraneum* (Balanophoraceae). Total DNA extraction and massive sequencing with Illumina technology were performed. The mtDNA assembly was carried out based on information of the Illumina paired-end reads. The genome is composed of 54 independent circular chromosomes (4-27 kb) totaling 713,777 bp. This multipartite chromosomal architecture was recently described in a close relative, *Lophophytum mirabile*. Maximum Likelihood phylogenetic analyses were performed to assess the evolutionary history of each gene and BLAST searches to unveil the origin of intergenic regions. About 25% of the genes were associated with species of the Family Asteraceae, indicating that they were transferred from asterid hosts. Most foreign genes co-exist with native homologs in the mitochondrial genome of *O. subterraneum*. Additional studies are required to understand which copy is functional. The presence of introns and foreign intergenic regions flanking foreign genes support the mitochondrial fusion compatibility model via mitochondrion-to-mitochondrion horizontal transfer.

## GGM 25

**GENETIC CODE CHANGE IN AT-RICH PLASTID GENOMES OF TWO HOLOPARASITIC PLANTS (BALANOPHORACEAE)**

Ceriotti L.F.<sup>1,2</sup>, M.E. Roulet<sup>1,3</sup>, L.E. García<sup>1,2,3</sup>, M.V. Sánchez Puerta<sup>1,2,3</sup>.  
<sup>1</sup>Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM), Argentina;  
<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.  
 ceriotti.fede@gmail.com

The family Balanophoraceae (order Santalales) encompasses 14 genera of obligate root holoparasites (i.e. completely nonphotosynthetic and host-dependent plants). As in other nonphotosynthetic angiosperms, plastid genomes (ptDNA) in *Balanophora* spp. are characterized by a high degree of reduction in size and gene content and low levels of GC content. In addition, a novel type of genetic-code change was discovered, in which the TAG codon codes for tryptophan instead of being a stop-codon. In this study, we sequenced and analyzed ptDNA regions of *Lophophytum mirabile* and *Ombrophytum subterraneum* (Balanophoraceae). Total DNA from both species was sequenced with Illumina technology. Also, RNAseq was performed for *L. mirabile*. The ptDNA assembly was carried out based on genomic and transcriptomic paired-end reads. Plastid contigs of *L. mirabile* and *O. subterraneum* had an average AT content of 79.55% and 81.75%, respectively. Ribosomal and protein coding genes showed high substitution rates, as in other members of the family. We identified a different change in the genetic code of both ptDNAs; in this case TGA (typically a stop codon) codes for tryptophan. It represents the second case of a genetic-code change in land-plant ptDNAs. RNA editing was not found in the sequenced plastid genes.

## GGM 26

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA EM GENÓTIPOS BRASILEIROS DE TRIGO EM RESPOSTA AO PULGÃO *Rhopalosiphum padi***

Corrêa L.D.J.<sup>1</sup>, A.M. Morozini<sup>1</sup>, L. Bucker Neto<sup>1</sup>, P.R. Da Silva<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO, Guarapuava, PR, Brasil.  
 leiacorra91@hotmail.com

O trigo é o terceiro cereal mais produzido no mundo e a principal fonte de calorias da humanidade. Dentre os afídeos que afetam a cultura do trigo, o *Rhopalosiphum padi* se destaca por ser vetor de importantes doenças virais que comprometem a produtividade. No âmbito da resistência genética, a compreensão das vias moleculares de respostas do trigo ao *R. padi* pode auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias de manejo da cultura. Dessa forma, este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil de expressão de genes envolvidos na resposta do trigo ao *R. padi*. Plantas das cultivares de trigo Embrapa 16 (suscetível) e BRS Timbaúva (resistente) foram inoculadas com pulgão em condições controladas. A expressão de oito genes previamente identificados como de resposta a pragas em trigo foi determinada por PCR quantitativo nos tempos de 24 e 48 horas após a inoculação (hpi). No tempo de 24 hpi quatro destes genes foram diferencialmente expressos na presença do pulgão. O gene codificante de um fator de transcrição (*wrky21*) foi induzido em ambas cultivares. Por outro lado, o gene codificante da enzima lipoxigenase foi suprimido na cultivar suscetível e manteve níveis normais na cultivar resistente. Já, os genes codificantes de proteínas patogênicas (thionin-like e jacalin-like) foram induzidos na cultivar resistente. Esses mecanismos moleculares se mantiveram 48 hpi evidenciando que a resistência ao *R. padia* apresentada pela cultivar BRS Timbaúva pode ser conferida pela não inibição do gene codificante da lipoxigenase resultando na síntese de proteínas de defesa na planta.

## MINING CANDIDATE GENES UNDERLYING BIOENERGY-ASSOCIATED QTL REGIONS IN SWEET SORGHUM FOR SUGARCANE BREEDING USING COMPARATIVE GENOMICS

Federico M.L.<sup>1,2,3</sup>, S. Chakrabarty<sup>4</sup>, L. Erazzú<sup>1</sup>, R. Snowdon<sup>4</sup>. <sup>1</sup>EEA Famaillá, INTA, Tucumán, Argentina; <sup>2</sup>CONICET, Argentina; <sup>3</sup>Univ. San Pablo-T, Tucumán, Argentina; <sup>4</sup>Justus Liebig University, Giessen, Germany.  
federico.marialaura@inta.gob.ar

Sugarcane (*Saccharum* spp.) is the world's primary sugar crop and the second most important bioethanol crop in Argentina. It has an extremely large (~10 Gbp) and complex polyploid genome, making it extremely difficult to apply genomics technologies for breeding. Fortunately, the comparatively small (655 Mbp) genome sequence of its close diploid relative sorghum (*Sorghum bicolor*) has been available for a decade. In addition, a large amount of genomic and functional information is available for other important grass relatives such as corn and rice. In this context, our goal was to compile specific sorghum bioenergy-associated QTL regions to use as baits in future sequence capture-SNP discovery efforts in sugarcane. In order to accomplish this, we first re-mapped QTL associated with 20 different bioenergy-related traits in a RIL population from a cross between grain sorghum (M71) and sweet sorghum (SS79), genotyped using an Affymetrix 90K sorghum SNP array. We identified 38 QTL for 16 traits across 8 of the 10 sorghum chromosomes using CIM. Flanking markers for each QTL were BLASTed against the sorghum reference genome v3.1.1 to determine their physical positions. Since several QTL were found to co-localize, a total of 18 genomic regions were compiled, representing 67 Mbp. For each region, we listed previously identified QTLs and predicted sorghum gene models with their syntenic counterparts in corn and rice. A prioritization pipeline is being used to uncover and dissect genes underlying phenotypes of interest to help characterize genetic diversity in sorghum and sugarcane.

## EXPLORING TRANSCRIPTOGRAMS: THE FLOODING TOLERANCE IN SOYBEAN BRAZILIAN CULTIVARS AND THE DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS

Abruzzi De Oliveira Busatto L., C. Giordano<sup>1</sup>, F. Guzman<sup>1</sup>, B. Wiebke Strohm<sup>1</sup>, C. Rechenmacher<sup>1</sup>, R. Almeida<sup>1</sup>, M. Ferreira<sup>1</sup>, C. Bredemeier<sup>1</sup>, M.H. Bodanese Zanettini<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.  
luisaabuzzi@gmail.com

Flooding is one of the most damaging plant stresses and it is caused by strong and/or continuous precipitation in areas with limited drainage capacity. Here, we have used the Transcriptogramer tool to analyze transcriptome data in a genome-wide scale, providing a wide biological scenario. It is a robust and powerful approach to identify temporal gene expression profiles which provide an important characterization of dynamic biological systems. Soybean plants from TECIRGA 6070 (flood-tolerant) and FUNDACEP 62 (flood-sensitive) genotypes were grown until V6 growth stage and then the stress was imposed. Total RNA was extracted from leaves 24 hours after the stress beginning. Libraries were constructed from the two genotypes and 2 experimental conditions. In total, both genotypes presented 421 induced genes and 291 repressed genes. TECIRGA presented 284 and 460 genes up- and down-regulated, respectively, under flood condition. From these, 100 and 148 genes were exclusively up and down-regulated, respectively, in the tolerant genotype. From the RNA sequencing data, SNPs in differentially expressed genes in response to flooding were identified. Finally, 38 SNPs, located in genes with functional annotation for response to abiotic stresses, were found in TECIRGA 6070 and absent in FUNDACEP 62. For validation, 23 SNPs were selected and KASP assays were performed in a panel of 11 contrasting genotypes and with phenotype known for flood tolerance. Two of these SNPs are potential molecular markers for use in marker-assisted selection.

GGM 29

## IMPLEMENTACIÓN DE UNA PLATAFORMA BASADA EN *ddRAD-seq* SOBRE UN AMPLIO SET DE MUESTRAS DE *Prunus pérsica* (L. BATCH)

Aballay M.M.<sup>1</sup>, G. Valentini<sup>1</sup>, M.E. Daorden<sup>1</sup>, G. Sánchez<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Estación Experimental Agropecuaria San Pedro, Argentina. sanchez.gerardo@inta.gob.ar

Los avances en las tecnologías de NGS (*Next Generation Sequencing*) han logrado que el costo de secuenciación sea más accesible. A pesar de ello su utilización en algunas especies, como el duraznero [*Prunus pérsica* (L. batch)], es limitada. Previamente, se puso a punto una plataforma de genotipado por secuenciación basada en doble restricción (*ddRAD-seq*) para la reducción de la complejidad del genoma utilizando dos genotipos de duraznero. Posteriormente, se aplicó esta tecnología para el estudio de 189 accesiones que fueron analizadas en 8 *pools* experimentales. En este trabajo, se aprovechó el gran volumen de datos generados (191 accesiones estudiadas, 200.759.000 secuencias de 250 pares de base logradas) para estudiar como las condiciones experimentales afectan la tecnología. La uniformidad en la cobertura del genoma lograda entre experimentos y entre *pools* de un experimento fue comprobada a nivel de posición del genoma mediante análisis de Componentes Principales y de Clúster Jerárquico. Nuestros resultados indican que el método de extracción de ADN genómico no influye en los resultados de secuenciación mientras que el uso de reactivos de diferente proveedor en la construcción de las bibliotecas tiene un efecto, aunque mínimo. Bajo nuestras condiciones experimentales y con un rendimiento promedio de 1 M de *reads*/genotipo se logró una cobertura total de 25% del genoma. Como resultado se identificaron un total de 113.411 SNP, 13.461 InDel y 2.133 SSR en el set total de muestras de los cuales 6.028 SNP, 600 InDel y 191 SRR se encuentran en cada uno de las 191 accesiones.

GGM 30

## EXPRESIONES DIFERENCIALES DE LOS GENOMAS DE INDIVIDUOS NATIVOS Y RECÍPROCAMENTE TRASPLANTADOS DE DOS POBLACIONES NATURALES DE *Mytilus chilensis* (MOLLUSCA: BIVALVIA)

Yévenes M.<sup>1,2,3</sup>, C. Gallardo<sup>3</sup>, G. Gajardo<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Programa de Doctorado en Conservación y Manejo de recursos naturales, Universidad de Los Lagos, Osorno, Chile; <sup>2</sup>Laboratorio de Genética, Acuicultura y Biodiversidad, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de Los Lagos, Osorno, Chile; <sup>3</sup>Laboratorio de Biotecnología y Genómica Acuícola, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. marco.yevenes@ulagos.cl

Las respuestas adaptativas de los genomas de poblaciones naturales son de interés evolutivo y conocerlas tiene aplicación acuícola, actividad en la que con frecuencia se trasplantan individuos. Los trasplantes, oscilaciones climáticas y otras perturbaciones generadas por la acuicultura alteran los hábitats naturales, afectando también la estructura genética poblacional y funcionamiento de los genomas. El chorito chileno, *Mytilus chilensis*, es nuestro caso de estudio como especie altamente explotada, en la que se evaluaron las respuestas transcripcionales en un experimento de trasplante recíproco de individuos entre Cochamó (localidad al norte del mar interior de Chiloé) y Yaldad (al sur de la isla). Después de 91 días de experimento se extrajeron RNAs totales puros y de alta calidad desde branquias y mantos de individuos locales y trasplantados, con los que se construyeron y secuenciaron 24 librerías RNA-Seq. A partir de 189.743 contigs ensamblados *de novo* y expresión diferencial de 7.756 de ellos se infiere que: i) tanto individuos locales como trasplantados tienen perfiles transcripcionales diferentes; ii) las respuestas de individuos trasplantados son más similares a sus respectivos locales que a los de otros grupos; y iii) si bien las respuestas al trasplante se mostraron complejas y multisistémicas, se pueden reconocer y diferenciar expresiones génicas con perfiles de pleiotropía antagónica. Junto a contribuir al estudio de la adaptación local, este estudio muestra que los choritos tienen mecanismos moleculares de respuesta rápida a trasplantes que habrá que dilucidar.

## COMPOSITIONAL ANALYSIS OF FLATWORM GENOMES SHOWS STRONG CODON USAGE BIASES ACROSS ALL CLASSES

Lamolle G.<sup>1</sup>, S. Fontenla<sup>1</sup>, G. Rijo<sup>1</sup>, P. Smircich<sup>2</sup>, J. Tort<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Genética, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay; <sup>2</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay. sfontenla@fmed.edu.uy

The phylum Platyhelminthes contain an enormous diversity from free-living species in seas and fresh water to symbiotic or parasite of invertebrates to obligate parasites of vertebrates. This diversity is also noticeable in the length and GC% of the reduced set of published genomes. In the present work, we performed a comparative genomic analysis of 22 species representative of the main clades of the phylum. We picked a set of 700 orthologous genes conserved in all species, and measured changes in GC content, codon and amino acid usage in orthologous positions. Our results showed that GC at position 1 and 2 of codons had little variation and mainly variability at GC3 was the best discriminator between species. Based on variability at GC3 we found two distinctive clusters within the groups of turbellarians, cestodes and trematodes. Additionally, we detected a RSCU bias that was more dramatic in extreme GC poor or rich genomes, *i.e.* GC poor species preferred to use AT rich terminated codons, while GC rich ones showed the opposite behavior. Moreover, we found that in some species, like *Schistosoma mansoni*, high expressed genes preferred GC ended codons while less expressed genes preferred AT rich ones. Remarkably, these biases extended to the amino acidic level where GC rich species preferred to use amino acids coded by GC rich codons and vice versa. Finally, we tested the possibility that the expansion of a reduced set of GC biased repeated elements could be influencing the overall genomic GC. However, no important differences in the GC content of the repetitive elements were detected.

## COMPARATIVE GENOMICS WITHIN THE FAMILY FASCIOLIDAE PROVIDES INSIGHTS INTO PARASITE ADAPTATIONS

Fontenla S.<sup>1</sup>, Y. Choi<sup>2</sup>, A. Costabile<sup>1</sup>, M. Mitreva<sup>2</sup>, J.F. Tort Almeida<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Dpto. Genética, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay; <sup>2</sup>McDonnell Genome Institute at Washington University in ST. Louis, USA. jtort@fmed.edu.uy

Understanding at the molecular level the diverse adaptations to the parasitic lifestyle is one of the major quests of parasite biology. We approached this problem from the comparative genomics perspective, analyzing the genomes of the intestinal fluke *Fasciolopsis buski*, and the liver flukes *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. The *Fasciola* spp. genomes are the largest within trematodes (1135 Mb), followed by *F. buski* (748 Mb), the second largest. The Fasciolidae genome expansion is associated with the amplification of families of transposable elements (TE), leading to a significant increment in gene sizes caused by the accumulation of TEs at intronic regions, without affecting CDS lengths. A more detailed comparison of the gene complement of the three Fasciolidae (and other trematodes) highlighted several interesting gene family amplifications, particularly in proteases and transporters. A marked increment in the number and diversity of cathepsins in the *Fasciola* spp. is consistent with their involvement in the migration from the gut lumen to the liver. Interestingly distinct cathepsin gene subfamilies were amplified in the *Fasciolinae*, *Opisthorchiidae* and *Schistosomas*, paralleling diverse invasion mechanisms. Notably the endopeptidases (legumains) that participate in the maturation of the cathepsin proenzyme are also amplified. Lipid transporters like the NPC2 and FABPs are also amplified in *Fasciolinae* in relation to *F. buski*, a feature shared with the *Opisthorchiidae* liver flukes, suggestive of parallel common adaptations to the rich lipidic environment of the liver.



GGM 33

### IDENTIFICATION OF GENE NETWORKS UNDERLYING SLEEP VARIATION IN A *Drosophila* MODEL OF PARKINSON'S DISEASE

Núñez F.<sup>1,2</sup>, N. Candia<sup>1,2</sup>, R. Neira<sup>1,2</sup>, V. Martínez<sup>1,2</sup>, G.H. Olivares<sup>1,2</sup>, A.D. Klein<sup>3</sup>, P. Olguín<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Programa de Genética Humana, ICBM; <sup>2</sup>Departamento de Neurociencia, Instituto de Neurociencia Biomédica (BNI), Facultad de Medicina, Universidad de Chile; <sup>3</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Chile. patricioolguin@med.uchile.cl

Parkinson's disease (PD) is one of the neurodegenerative illness with highest prevalence in the world, affecting 1% of the population above 60 years. Only 15% of PD cases are familiar and most of the cases are sporadic. PD is characterized by several motor as well as non-motor symptoms, such as sleep disorders. The sleep disturbances are a recognized prodrome of PD, so months or even years before the onset of motor disorders; patients suffer from sleep fragmentation, insomnia and daytime sleepiness. Therefore, the identification of genes and genetic pathways that account for the severity of sleep disorders in PD may have a predictive value. For this purpose, we used *Drosophila melanogaster* treated with Rotenone, a validated model for idiopathic PD. We adapted this model in the *Drosophila* Genetic Reference Panel (DGRP), a collection of 205 sequenced isogenic lines that represent the genetic variation of a natural population, allowing the association between genetic variants and sleep traits. We found that DGRP lines under Rotenone treatment show significant variation. By using genome-wide association studies (GWAS) we identified 408 single nucleotide polymorphism (SNP) mapping to 219 candidate genes that are potentially associated with sleep variation. Those genes are mainly associated by GO to nervous system development, regulation of signaling, cell communication, among others. The validation of candidate genes in human PD patients could help to predict the onset and severity of the disease and design personalized therapies that can be delivered at early stages of it.

GGM 34

### IDENTIFICATION OF GENE NETWORKS THAT UNDERLIE THE SUSCEPTIBILITY TO DEVELOP PARKINSONIAN-LIKE PHENOTYPES IN A *Drosophila* MODEL OF PARKINSON'S DISEASE

Candia N.<sup>1</sup>, R. Neira<sup>1</sup>, V. Martínez<sup>1</sup>, F. Núñez<sup>1</sup>, G.H. Olivares<sup>1</sup>, A. Klein<sup>2</sup>, P. Olguín<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Programa de Genética Humana, Departamento de Neurociencia, ICBM, BNI, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; <sup>2</sup>Centro de Genética y Genómica, Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo, Chile. laboratorigeneticaudechile@gmail.com

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder of heterogeneous genetic etiology, with a global incidence rate of 8 to 18 per 100,000 people per year. Of all the cases, 85% are sporadic which is probably due to genotype by environment interaction. Patients with PD show a wide range of symptoms of heterogeneous severity. To date, there are few studies with the aim of discovering the genetic bases responsible for the phenotypic variation present in PD patients. In this study, we took advantage of the natural variation of the *Drosophila* Genetic Reference Panel (DGRP) and an idiopathic PD model of *Drosophila* to identify the genes and gene networks underlying phenotypic heterogeneity of locomotion. As the DGRP flies were fully sequenced, the SNPs found in the DGRP can be associated with phenotypic variation through GWA studies. The parkinsonian-like phenotypes were induced by feeding adult flies with rotenone for 7 days. Our results show that DGRP lines present a varying locomotor behavior in response to rotenone indicating genetic by environment interaction. Broad sense heritability ( $H^2$ ) indicates a significant contribution of genetic variation to phenotypic variation. Finally, GWAS revealed new candidate genes that underlie phenotypic variation. Among them, *sky* that code for a protein that activates the GTPase activity of Rab35 (RabGAP) whose increment has been associated with an early onset PD. This result supports our strategy as valid mean to identify genes underlying phenotypic heterogeneity of PD.

## ASOCIACIÓN ENTRE HAPLOTIPO MITOCONDRIAL Y EL COMPORTAMIENTO DEFENSIVO Y CARACTERES MORFOMÉTRICOS EN COLONIAS DE *Apis mellifera* DE TUCUMÁN, ARGENTINA

Bianchi E.M.<sup>1</sup>, M. Agra<sup>2</sup>, C. García<sup>2</sup>, M. Maldonado<sup>3</sup>, G. Rodríguez<sup>4</sup>, M.A. Palacios<sup>2</sup>, S. Lanzavecchia<sup>5</sup>. <sup>1</sup>IACS-INTA, Argentina; <sup>2</sup>Unidad Integrada INTA-FCA-UNMdP, Argentina; <sup>3</sup>EEA Famaillá, INTA, Argentina; <sup>4</sup>EEA Hilario Ascasubi, INTA, Argentina; <sup>5</sup>Instituto de Genética "E. Favret", INTA, Argentina.  
bianchi.eliana@inta.gob.ar

*Apis mellifera*, es un insecto social de importancia en la polinización de cultivos y producción de miel. Las poblaciones de abejas del norte argentino presentan gran variabilidad genética debido al proceso de hibridación denominado "africanización". El presente trabajo propone analizar la variabilidad de colonias de abejas de Tucumán considerando caracteres genéticos, variables morfológicas y del comportamiento defensivo. Se realizaron evaluaciones en 11 colmenas de origen silvestre, procedentes de dos apiarios (Leales y Famaillá) ubicados en ambientes eco-climáticos diferentes. De cada colmena se registró: estado general, haplotipo mitocondrial, variables referidas al comportamiento defensivo (agrupamiento, vuelo, piquete, corrida) y medidas de morfometría tradicional (12) y geométrica (13). El 90% de las abejas mostraron haplotipos africanos (A4 y A1) y 10% C1. Se detectaron diferencias significativas entre haplotipos para variables "corrida" (ANOVA,  $F=35,6$ ;  $Gl=2$ ;  $p<0,0001$ ),  $pxw_{10}$  (coordenada alar) (ANOVA,  $F=4,19$ ;  $Gl=2$ ;  $p<0,0177$ ),  $L_9$  (longitud alar) ( $F=3,08$ ;  $Gl=2$ ;  $p<0,0499$ ) y  $G_8$  (ángulo alar) ( $F=5,02$ ;  $Gl=2$ ;  $p<0,0083$ ). Los análisis de EMD (CP1=66,4%; CP2=33,6%) y PCA (CP1=78,1%; CP2=21,9%) explican el total de la variabilidad entre haplotipos. Se concluye que los análisis realizados permitieron caracterizar las abejas y estudiar las relaciones entre las variables, útiles para desarrollar protocolo de clasificación rápida de abejas previo al análisis molecular, apoyando la selección de materiales con características deseables para la apicultura argentina.

## DINÁMICA DE LOS EXTREMOS CROMOSÓMICOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO DE DOS ORGANISMOS ACUÁTICOS CON DIFERENTE CICLO DE VIDA

Gutierrez Coppetti V.A.<sup>1,2,3,4</sup>, L. Rodríguez Graña<sup>1,2</sup>, G. García<sup>3,4</sup>. <sup>1</sup>Rocha, Uruguay; <sup>2</sup>Ecología Funcional de Sistemas Acuáticos, Centro Universitario Regional del Este, Udelar, Uruguay; <sup>3</sup>Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República (Udelar), Uruguay; <sup>4</sup>Montevideo, Uruguay.  
vgutierrez@fcien.edu.uy

Este trabajo se enfoca en el estudio de uno de los marcadores moleculares del envejecimiento en el marco de la hipótesis del acortamiento de los extremos cromosómicos, en dos organismos acuáticos con ciclos de vida contrastantes: el microcrustáceo *Acartia tonsa* y el pez anual *Austrolebias charrua*. Actualmente, los cambios celulares y moleculares que se producen durante el envejecimiento están categorizados en nueve marcadores ("hallmarks") que son denominadores comunes en diferentes organismos, los cuales están funcionalmente interconectados y en conjunto determinan el fenotipo senescente. Mediante la implementación de PCR en tiempo real (qPCR), se analizó cuantitativamente la longitud relativa de los extremos cromosómicos en diferentes etapas del ciclo de vida de las dos especies. Se diseñaron oligonucleótidos específicos para amplificar los repetidos teloméricos en *A. tonsa* y en *A. charrua* se utilizaron los disponibles para vertebrados. Para la cuantificación relativa, los genes de copia única empleados como control fueron el de la b-actina en *A. tonsa* y la somatostatina en el pez anual. Los resultados preliminares obtenidos por primera vez para estas especies mediante qPCR, revelaron variaciones en la longitud de los extremos cromosómicos en ambos organismos con la edad. Se discute la implicancia de estos resultados en el marco de dicha teoría a lo largo del ciclo de vida animal, otros aspectos moleculares implicados en la dinámica de los extremos (e.g. actividad de la telomerasa), y el aporte de estos nuevos organismos modelo en estudios de senescencia.

GGM 37

## GENÓMICA COMPARATIVA DE LA RESISTENCIA A NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA EN SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*) Y TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

Simbaina Solano J.C.<sup>1,2</sup>, J.M. Yañez<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Universidad de Chile;<sup>2</sup>Santiago de Chile.

austrogenetica@gmail.com

La necrosis pancreática infecciosa IPN, es una enfermedad prevalente en los cultivos de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en Chile. Recientemente se han encontrado marcadores (QTL) asociados a la resistencia a IPNV, tanto en el salmón del Atlántico como también en la trucha arcoíris. En el salmón del Atlántico, se ha descrito variación genética aditiva y un QTL de efecto mayor ligado al cromosoma 21. Además, se ha sugerido que la proteína responsable de la resistencia es codificada por el gen de *cadherina epitelial (cdh1)*. Mientras tanto, en la trucha arcoíris, además de la variación genética aditiva, se ha descrito QTLs significativos ligados al cromosoma 5. En el estudio actual, se aplicó una estrategia de genómica comparativa entre las dos especies salmónidas (*S. salar* y *O. mykiss*) para identificar ortología y sintenia entre regiones genómicas asociados a resistencia a IPN, mediante las herramientas Blast2GO y OrthoFinder. Se utilizó el genotipado previamente extraídos para la trucha arcoíris, y, además, el material suplementario electrónico para el salmón del Atlántico. Las proteínas identificadas a partir de genes sinténicos y ortólogas encontradas a través de las asociaciones genómicas entre ambas especies estudiadas a nivel aminoacídica y nucleotídica, serán posibles candidatos a receptores específicos para el virus, los cuales, son los mecanismos de vinculación entre el hospedero y el patógeno para crear resistencia o susceptibilidad.

GGM 38

## SISTEMÁTICA INTEGRATIVA CONFIRMA A PRESENÇA DE DUAS NOVAS LINHAGENS DE *Hsunycteris* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE, LONCHOPHYLLINAE) RESTRITAS À AMAZÔNIA ORIENTAL

Benathar T.<sup>1</sup>, L. Trevelin<sup>1</sup>, D. Nascimento<sup>1</sup>, C. Nagamachi<sup>1</sup>, L.Rodrigues<sup>1</sup>, P. O'Brien<sup>1</sup>, M. Ferguson Smith<sup>1</sup>, F. Yang<sup>1</sup>, J. Pieczarka<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Brasil.

thaysebenathar@yahoo.com.br

O gênero *Hsunycteris* abriga quatro espécies descritas, *H. dashe*, *H. cadenai*, *H. pattonie*, *H. thomasi*. Estudos indicam que este gênero, além de abrigar varios citótipos diferentes, também possui elevados níveis de divergência genética entre táxons co-específicos, sugerindo que a diversidade do gênero pode estar subestimada. Baseado na possibilidade de que a taxón omiare conhecida atualmente não reflita a diversidade do gênero, este estudo investigou a história evolutiva de *Hsunycteris*, assim como avaliou o status taxonômico de *H. thomasi* por dados de sequências mitocondriais (COI e Cytb), Zoo-Fish e morfologia. A filogenia recuperada indica que *Hsunycteris* possui sete linhagens distintas, sendo quatro linhagens associadas ao táxon *H. thomasi* com divergência genética acima de 6%. Cada linhagem mostra-se relacionada a uma fórmula cariotípica, com a descrição de um novocitó tipo  $2n=34/NFa=48$ . Análise morfológica aponta não haver separação dos caracteres diagnósticos crânio-dentais ao longo da distribuição estudada para *H. thomasi*. A partir das análises dos mapeamentos genômicos comparativos constatamos que a diversidade cariotípica das linhagens de *H. thomasi* é mediada por múltiplos eventos de fusões e fissões, seguidas de inversões e também inversões em cromossomos acrocêntricos. Os resultados demonstram a existência de duas espécies novas com distribuição exclusiva para o Brasil. Indivíduos amostrados próximo a localidade tipo de *H. thomasi* apresentaram dois citótipos e haplótipos distintos, o que impossibilita ou definir qual a linhagem correspondente ao tipo.

## IDENTIFICATION OF PREY SPECIES IN THE BIOLOGICAL CORRIDOR PROPOSED FOR THE NORTH-CENTRAL ZONE OF MISIONES (ARGENTINA)

Ferreyra A.M.<sup>1</sup>, D. Sotorres<sup>1</sup>, K.E. Dematteo<sup>2,3</sup>, C.F. Argüelles<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Grupo de Investigación en Genética Aplicada (GIGA), Instituto de Biología Subtropical (IBS), CONICET-UNaM, Posadas, Misiones, Argentina; <sup>2</sup>Department of Biology & Environmental Studies, Washington University in St. Louis, St. Louis, Missouri, USA; <sup>3</sup>Wild Care Institute at the Saint Louis Zoo, St. Louis, Missouri, USA; <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Departamento de Genética, UNaM, Posadas, Misiones, Argentina.  
amferreyra@gigalab.com.ar

The province of Misiones holds the largest remaining tract of Upper Paraná Atlantic Forest Ecoregion, which is largely included in an area recognized as the Green Corridor. However, the province has a discontinuity in the landscape, where the protected areas are immersed in a matrix of altered habitats, which vary in size and connectivity. In order to analyze the impact of habitat fragmentation and increasing hunting pressure on the presence of prey mammals in the northern-central zones of Misiones, noninvasive techniques were used in the collection of scats from 4 prey species, *Tapirus terrestris*, *Tayassu pecari*, *Pecari tajacu* and *Cuniculus paca*, in areas of the proposed Biological Corridor using the extraordinary olfactory capacity of detection dogs. These samples were combined with genetic analyses to the species level with partial amplification of the mitochondrial *Cytochrome b* gene. A total of 63 scats of target species were collected, of which 77.8% (n=49) corresponded to one of the three prey species: 11 *T. terrestris*, 30 *T. pecari*, and 8 *P. tajacu*. No *C. paca* was genetically confirmed. Therefore, the presence of prey species is confirmed in the proposed Biological Corridor relative to the five species of carnivores, which makes it imperative that this corridor be solidified and put into action, as soon as possible.

## HEAT STRESS RESPONSE IN MALE MEIOSIS INVOLVES AN ACTIVE REMODELLING OF PERICENTRIC HETEROCHROMATIN AND CHROMOSOME ASSOCIATIONS

Gomez Cayupan J.<sup>1</sup>, K. Urbina<sup>1</sup>, K. Velasquez<sup>1</sup>, D.J. Wolgemuth<sup>2</sup>, B. Henriquez<sup>2</sup>, B. Van Zundert<sup>3</sup>, M. Manterola<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Human Genetics Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile; <sup>2</sup>Department of Genetics & Development, Columbia University Medical Center, New York, USA; <sup>3</sup>Faculty of Medicine and Science, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile; <sup>4</sup>Faculty of Biological Sciences and Faculty of Medicine, Center for Biomedical Research, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile.  
mmanterola@uchile.cl

Heat stress (HS) contributes to male infertility by decreasing sperm count and quality, and by inducing apoptosis in spermatogenic cells. Yet, little is known about the mechanisms associated to HS response in germ cells, which may be involved in the apoptosis and adaptation pathways of the cell. In somatic cells, HS induces a genomic reorganization mediated by a chromatin remodelling and transcriptional activation of the pericentric heterochromatin (PCH). Physiologically, the PCH maintains chromosome and genome organization by forming chromocenters, an aggregation of PCH from multiple chromosomes into dense nuclear foci. Here, by exposing male mice to a brief heat-shock, we studied the dynamic and organization of the PCH in meiosis, as part of an immediate response (3 hrs post-HS), and a post-apoptotic responses to heat stress in a short (48 hrs) and long period of time (120 hrs post-HS). By using immune fluorescence and qPCR analysis, we show that in meiosis, HS changes the PCH organization by increasing the number of chromosomes associated into chromocenters. This change occurs right after the HS and becomes distinctive at 48 hrs. By 120 hrs, the number of chromosomes associated decreases, resembling a non-heated cell. The PCH also undergo into a transcriptional activation and chromatin remodelling associated to a reorganization of the chromocenters. Thus, in male meiosis, HS changes the PCH and chromosome organization, suggesting an adaptive mechanism that preserves the genome integrity and organization against HS.

## GGM 41

**AGING IMPAIRS GENOME STABILITY IN MEIOTIC AND POST-MEIOTIC CELLS IN MALE MICE**

Velasquez Reyes K<sup>1</sup>, A. Fierro<sup>1</sup>, J. Gomez Cayupan<sup>1</sup>, K. Urbina<sup>1</sup>, M.L. Bustamante<sup>1</sup>, D.J. Wolgemuth<sup>2</sup>, B. Van Zunder<sup>3</sup>, B. Henriquez<sup>4</sup>, M. Manterola<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Human Genetics Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile; <sup>2</sup>Department of Genetics and Development, Columbia University Medical Center, New York, New York, USA; <sup>3</sup>Faculty of Biological Sciences and Faculty of Medicine, Center for Biomedical Research, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile; <sup>4</sup>Faculty of Medicine and Science, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile. mmanterola@uchile.cl

Aging is a significant risk factor in male fertility and is associated to decreased pregnancy outcome, increased abortion rates and offspring alterations. Overall, aging disturbs testicular function and decreases the number and quality of sperm, which show increased DNA fragmentation and DNA damage. Sperm also exhibit *de novo* mutations and abnormal DNA methylation patterns, suggesting that the genome and epigenome is severely affected by aging. Hormone production and post-spermatogenesis alterations have been shown to promote these defects. Despite this, little is known about the effects of aging in spermatogenesis, particularly in the genome of mitotic, meiotic and post-meiotic germ cells. Here, we report that late prophase-I spermatocytes and spermatids exhibit DNA damage in stages where genomic maintenance and stability is crucial to achieve all meiotic and differentiation events. By using elder male mice and immune fluorescence to detect DNA repair proteins on testicular spreads, we observed that DNA repair proteins, such as gH2AX, are abnormally present in chromosomes at pachytene and diplotene stages, as well as in round spermatids. Moreover, the presence of DSBs in late prophase-I is associated to activation of DNA repair pathways in older cells. These data reveal that age compromises spermatogenesis by impairing genome stability during meiosis and spermiogenesis. They also show that the genome of spermatocytes and spermatids is susceptible to the age-related defects in the testis and suggest a mechanism by which germ cells are altered in advanced paternal age.

## GGM 42

**EVALUATION OF CHROMATIN AND EPIGENETICAL ALTERATIONS IN MICE BRAINS DURING AGING AND WITH NUTRITION INTERVENTION**

Zana N.C.T.<sup>1</sup>, A.A. Oliveira<sup>1</sup>, V.C.D.S. Pereira<sup>1</sup>, L.N.D.C. Alves<sup>1</sup>, V.D.O. Geraldo<sup>1</sup>, C.A.A. Dzimabi<sup>1</sup>, D.K. Nascimento<sup>1</sup>, M.L.S. Mello<sup>2</sup>, A.D.S. Moraes<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Biologia Celular, Histologia e Embriologia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas (Unicamp), Brasil. nathi.zana@gmail.com

Aging is associated with a progressive accumulation of detrimental changes in memory and cognition, which can be a result of changes in epigenetic marks, chromatin structure, and gene expression. Such changes can be influenced, amongst several factors, by nutritional status. Souvenaid<sup>®</sup>, a nutrient mix used to treat early stages of Alzheimer's disease was able to improve cognitive functions in aged mice with no dementia, as seen earlier by our research group. Our hypothesis is that all the changes observed in cognitive functions along aging and after food supplementation, can be a consequence of epigenetic alterations. To test this hypothesis, we evaluated the epigenetic profile of brain tissue of mature and old adult female C57BL mice, supplemented or not with Souvenaid. Cell nuclei were isolated from frozen brain tissue obtained after food supplementation and cognitive tests, which were then resolved in SDS-PAGE 17%. Proteins were transferred to a nitrocellulose membrane and incubated with an antibody against H3K9me3, an epigenetic mark associated with heterochromatic domains. Our results evidence that changes in this epigenetic mark along aging are discrete, while can be strongly influenced by food supplementation with Souvenaid, thus bringing light on the epigenetic mechanisms associated with the maintenance of good cognitive functions.

### UTILIZACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE ADSORBIDAS EN TARJETAS FTA PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL RESERVORIO DEL VIRUS JUNÍN POR PCR-RFLP

Torchia J.<sup>1,2</sup>, J.D. Pinotti<sup>3</sup>, P. Muzulin<sup>2</sup>, M.L. Martín<sup>2</sup>, R. González Ittig<sup>3</sup>, G. Calderón<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Argentina; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I Maiztegui" (INEVH-ANLIS), Argentina; <sup>3</sup>Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA), CONICET-UNC y Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.  
julietatorchia@hotmail.com

El estudio de poblaciones de *Calomys musculinus*, el roedor reservorio del Virus Junín (JUNV), causante de la Fiebre Hemorrágica Argentina, permite reconocer y reducir el impacto de esta zoonosis. La utilización de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa-Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (PCR-RFLP) utilizando el gen mitocondrial Citocromo b (Cytb), permite la diferenciación de las especies capturadas para priorizar el análisis virológico, reduciendo el número de muestras a secuenciar. Las tarjetas FTA ©Whatman permiten la conservación a temperatura ambiente de ácidos nucleicos y constituye una herramienta útil para la conservación y el transporte de muestras. El objetivo de este trabajo fue identificar el reservorio de JUNV utilizando muestras de sangre adsorbidas a tarjetas FTA y su posterior análisis por PCR-RFLP. Se utilizó sangre entera adsorbida de roedores y se extrajo el ADN utilizando el kit DNeasyBlood and Tissue (Qiagen). Se amplificó por PCR el gen Cytb y los amplicones fueron digeridos con la enzima Alu I. Los resultados de las digestiones se visualizaron en geles de agarosa al 1%. La utilización de muestras adsorbidas en papel y su posterior análisis por PCR-RFLP permitió la diferenciación de la especie reservorio. La implementación de esta metodología resulta más sencilla y económica que la secuenciación y contribuirá a la realización de estudios colaborativos ya que simplifica la obtención, conservación y envío de las muestras.

### DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA OVEJA CRIOLLA DEL OESTE DE FORMOSA (ARGENTINA) UTILIZANDO MARCADORES MICROSATÉLITES

Revidatti M.A.<sup>1</sup>, J.S. Cappello Villada<sup>1</sup>, V. Landi<sup>2</sup>, A. Martínez Martínez<sup>2</sup>, S. De La Rosa<sup>1</sup>, J.V. Delgado Bermejo<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Fac. de Cs. Veterinarias, UNNE, Argentina; <sup>2</sup>Universidad de Córdoba, España.  
toninacereza@hotmail.com

Con el objetivo de caracterizar genéticamente los ovinos criollos del oeste de Formosa (OF), como contribución para su registro oficial y la creación de núcleos de conservación se colectaron y genotiparon muestras de 45 ovinos pertenecientes a 41 establecimientos de la zona, utilizando 41 marcadores microsatélites (FAO/ISAG), para estudios de diversidad genética ovina. Se calcularon: número de alelos (Na), riqueza alélica (RA), número efectivo de alelos (Ae), heterocigosis esperada (He) y observada (Ho), contenido de información polimórfica (PIC),  $F_{is}$  y la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) ( $p < 0,05$ ). Todos los microsatélites resultaron polimórficos, el Na medio fue de 7,76, la RA media fue de 1,72 y el Ae fue 4,09 alelos/locus. La  $H_e$  media fue de 0,72. El 90,3% por sobre 0,5 y 0,75. La  $H_o$  media fue de 0,63, y el 85,3% se halló por encima de 0,50, indicando un gran número de heterocigotos. El PIC medio fue de 0,67, resultando muy informativos. El 61% de los microsatélites presentaron  $F_{is}$  no significativo; 29% demostraron exceso de homocigosis con significancia diferente de 0, y valores entre 0,16 y 0,36; de los 4 restantes, negativos y significativos, 3 presentaron exceso de heterocigotos. El 61% de los marcadores no se desvían del HWE, resultando significativos 16 microsatélites. De acuerdo con el Na, la He y Ho y el estadístico F de Weir y Cockerham, el OF posee un elevado grado de diversidad genética, lo que amerita la formulación de estrategias de conservación efectivas.

GGM 45

### ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL CON KALLISTO Y SLEUTH vs. TOPHAT, CUFFLINKS Y EDGE-R EN COMPARATIVA ENTRE MÚSCULOS OVINOS

Armstrong E.<sup>1</sup>, N. Rego<sup>2</sup>, E. Jara<sup>1</sup>, H. Naya<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Uruguay; <sup>2</sup>Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay.  
eileen.armstrong@gmail.com

En un trabajo previo comparamos la expresión diferencial de músculos de cordero mediante RNA Seq utilizando el pipeline TopHat/Cufflinks/edgeR/goseq. Dados los grandes requerimientos computacionales y de tiempo insumidos, decidimos probar una nueva aproximación usando programas de pseudoalineamiento, mucho más rápidos y posibles de realizar en una PC convencional: Kallisto (alineamiento y cuantificación) y Sleuth (expresión diferencial). Se analizaron los transcriptomas completos de dos músculos ovinos con fenotipos extremos: Semitendinosus (rápido, glicolítico) y Supraspinatus (lento, oxidativo); 4 réplicas por músculo en HiSeq 2000, pairedends, promedio 13000000 reads p/muestra. Los resultados preliminares fueron similares: los 6 genes con mayor expresión diferencial según Sleuth (METTL21C, methyltransferase-like 21C; MYL2 myosin light chain 2; MYH7, myosin heavy chain 7; MYH6 myosin heavy chain 6; TMEM131L transmembrane 131-like; TNNC1 troponin C1) están dentro de los 30 más expresados detectados previamente, relacionándose con la actividad y metabolismo muscular. Próximamente se analizará la sensibilidad de ambos métodos para detectar genes en el umbral de significación, así como otros parámetros. El análisis preliminar sugiere que los programas de pseudoalineamiento son una buena opción con bajos requerimientos computacionales.

GGM 46

### AN OUT-OF TIERRA DEL FUEGO DISPERSAL EXPLAINS THE HIGH GENETIC DIVERSITY IN PATAGONIAN *Saccharomyces eubayanus*

Nespolo R.<sup>1</sup>, C. Villarroel<sup>2</sup>, F. Cubillos<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Universidad Austral de Chile; <sup>2</sup>Universidad de Santiago de Chile.  
francisco.cubillos.r@usach.cl

*Saccharomyces eubayanus* represents the missing ancestor of lager yeast and can be found in the South Hemisphere in association with *Nothofagus* forests. Despite the commercial relevance of lager beer, little information is available regarding the evolutionary history of the species. In this work, we will show how we sample the presence of the species in South America and demonstrate the isolation of 160 strains from ten sampling sites in a range of 2,000 km distance. We sequenced the entire genomes of 82 of these strains and, together with other 25 available genomes, obtained phylogenetic data. Our results revealed the presence of four main lineages, together with dozens of admixed strains. The PB-1 lineage isolated from Tierra del Fuego exhibited the highest genetic and phenotypic diversity, lowest LD blocks and highest Fis values compared to the other lineages, suggesting adaptation to cold environments. Furthermore, the greater genetic diversity of PB-1 from Tierra del Fuego supports the hypothesis of *S. eubayanus* colonization from peripheral glacial refugia from southern Patagonia and then moved towards northern and western regions, including North America and New Zealand. Interestingly, isolates from northern sites exhibited the greatest tolerance to high temperatures and the best fermentation performance compared to southern isolates, which were comparable to commercial lager strains. Our results highlight the high abundance and extensive genetic diversity of *S. eubayanus* in Chile and demonstrate the enormous utility of this yeast for wort fermentation.

## SECUENCIACIÓN DEL GENOMA DE UNA CEPA PATAGÓNICA DE *Aureobasidium pullulans* CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO Y UN RELOJ CIRCADIANO FUNCIONAL

Parra M.<sup>1</sup>, D. Libkind<sup>1</sup>, N. Bellora<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Aplicada, Biotecnología y Bioinformática de Levaduras, Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales (IPATEC, CONICET-UNCo), San Carlos de Bariloche, Argentina. mparra@comahue-conicet.gob.ar

Existe un creciente interés en el estudio de *Aureobasidium pullulans*, un hongo adaptado a un amplio rango de condiciones ecológicas con gran potencial biotecnológico. A partir del descubrimiento de un reloj molecular en la cepa patagónica CRUB 1823, esta especie se propone como modelo para el estudio de ritmos circadianos en relación a la producción de metabolitos secundarios. En este trabajo se presenta el ensamblado y análisis del genoma de la cepa CRUB 1823. Se construyeron librerías *paired-end* y la secuenciación se realizó con Illumina Genome Analyzer II. Los *reads* resultantes de 251 pb se procesaron por calidad usando BBDuk. Se realizó un ensamblado *de novo* utilizando SPAdes. Para la predicción y anotación génica se utilizó el *pipeline* incorporado en Funannotate. El ensamblado resultó en un genoma de 27,83 Mpb con una cobertura de 20X, un N50=564 Kb y un contenido de GC de 50,32%. Se predijeron 10.030 genes y se anotaron 9.636 proteínas y 261 ARNt. Se identificaron genes con el potencial codificante de proteínas del reloj molecular y de enzimas implicadas en la síntesis de pululano y moléculas fotoprotectoras. El análisis de distancias genómicas (Kr) reveló que la CRUB 1823 se diferencia del grupo de cepas de la misma especie, que incluye tanto aislamientos europeos como otros de origen patagónico, indicando que podría tratarse de una nueva especie. La caracterización de los componentes del reloj molecular será potencialmente útil para su aplicación en mejoramiento biotecnológico y proveerá información sobre la evolución de mecanismos circadianos en hongos.

## CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE LOS GENES *CPCE-1* Y *CYP9A61* EN ADULTOS DE *Cydia pomonella* EXPUESTOS A CLORPIRIFÓS Y ACETAMIPRID

Parra Morales L.B.<sup>1</sup>, L. Cichón<sup>2</sup>, S. Garrido<sup>2</sup>, C. Montagna<sup>1</sup>, N. Guiñazú<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC)-CONICET-UNCo, Argentina; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Alto Valle, Argentina. laurab.parra@gmail.com

*Cydia pomonella* es una plaga agrícola que afecta frutales de pepita y carozo. Para su control se aplican insecticidas como organofosforados y neonicotinoides. A campo el estadio adulto está expuesto a concentraciones subletales lo cual se asocia con el desarrollo de resistencia a insecticidas. El objetivo fue estudiar la expresión génica de las enzimas detoxificantes carboxilesterasa (Cp-CE1) y citocromo P450 (CYP9A61) en adultos de *C. pomonella* de laboratorio (CSL) y de campo (PC), expuestos *in vivo* a concentraciones subletales de clorpirifós y acetamiprid. *C. pomonella* CSL y PC se expusieron a clorpirifós (0,0625; 1; 15,62 mg/L) o acetamiprid (6,25; 25; 50; 100 mg/L) durante 24 hs a 25 °C y 16:8 h L:O. Los controles fueron expuestos a acetona. Por individuo se cuantificó Cp-CE1 y CYP9A61 por qPCR. Los niveles de expresión fueron calculados con  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , control interno beta-actina. Los resultados indicaron un aumento significativo en la expresión de Cp-CE1 en los individuos de PC, expuestos a 0,0625 mg/L de clorpirifós respecto al grupo control. Mientras que la CSL no mostró diferencias significativas, a todas las concentraciones ensayadas. Se observó un aumento significativo en la expresión de Cp-CE1 de la PC expuestos a 100 mg/L de acetamiprid. Por otro lado, la exposición tanto de CSL como de la PC a todas las concentraciones de clorpirifós o acetamiprid ensayadas no indujo cambios significativos en CYP9A61. Los resultados demuestran que la expresión génica de Cp-CE1 en adultos de *C. pomonella* es alterada por la exposición a insecticidas organofosforados y neonicotinoides.



GGM 49

## CREATION AND VALIDATION OF A GLOBAL MICROBIOME COLORECTAL CANCER RESEARCH NETWORK ACROSS THREE CONTINENTS

Piñero T.A.<sup>1</sup>, C. Young<sup>2</sup>, H. Wood<sup>2</sup>, S. Ramakrishnan<sup>3</sup>, M. Bose<sup>3</sup>, P. Van Nang<sup>4</sup>, M. Van Doi<sup>4</sup>, L. Contreras Melendez<sup>5</sup>, C. Tapia Valladares<sup>5</sup>, A. Fuentes Balaguer<sup>2</sup>, C.A. Vaccaro<sup>1</sup>, P. Quirke<sup>2</sup>. <sup>1</sup>IMTIB-IUHI-CONICET-Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>University of Leeds, Pathology and Tumor Biology, Level 4, Wellcome Trust Brenner, Building, St. James's University Hospital; <sup>3</sup>Dept. of Surgical Oncology, Cancer Institute (WIA), Dr. S. Krishnamurthy Campus; <sup>4</sup>Can Tho University of Medicine and Pharmacy, Vietnam; <sup>5</sup>Departamento de Anatomía Patológica, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.  
tamara.pinero@hospitalitaliano.org.ar

Research about the colorectal cancer (CRC)-associated microbiome has mainly been conducted in high CRC incidence “Western” countries. We have established a global research network to compare the CRC-associated microbiome of high (UK), intermediate (Chile/Argentina) and low (India/Vietnam) CRC incidence countries. Faecal samples from each country were collected using bowel cancer screening cards: 10 CRC patients/10 healthy volunteers (HV) and transported to the UK at room temperature. Replicate control samples from 5 HV were generated to assess for the effect of transportation and storage abroad. V4 16SrRNA sequencing was performed. No significant differences in bacterial community structure between any of the UK replicate controls were found, indicating that transport and local storage of screening card samples does not alter microbiome results. No significant difference was seen in  $\alpha$  diversity from the different countries. The  $\beta$  diversity differed among all countries for weighted and unweighted UniFrac distances, with Chile/Argentina and Vietnam/India more similar to one another.  $\beta$  diversity differed between the combined HV/CRC groups, with rare CRC-associated *taxa* (*Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Porphyromonas*, *Escherichia-Shigella*) accounting for this difference. We have demonstrated a robust method of conducting global CRC microbiome research. The faecal microbiome differs by country and differences in rare *taxa* exist between the combined microbiome of HV compared with CRC patients. Plans are underway to expand the network and to validate the results at a local level.