

COMUNICACIONES LIBRES

**GENÉTICA
MOLECULAR,
BIOINFORMÁTICA
Y GENÓMICA**



GMBioG 1

GENÉTICA MOLECULAR, GENÓMICA Y BIOINFORMÁTICA

Pratta G.R. IICAR, UNR-CONICET, Cátedra de Genética. Facultad de Ciencias Agrarias UNR. Campo Experimental Villarino, Zavalla (Santa Fe), Argentina.
E-mail: gpratta@unr.edu.ar

Aún estamos viviendo la era de la Genética Molecular, cuya aplicación a estudios con enfoques integrados ha dado origen a la Genómica. Esta última, tanto en sus aspectos estructurales (organización del genoma) como funcionales (expresión del genoma, disciplina también conocida como Postgenómica) se ha aplicado al mejoramiento genético animal y vegetal. En ellos, el uso de estas técnicas facilita el proceso de prospección, evaluación, selección y usufructo de la variabilidad genética disponible en una especie de interés para la Humanidad. De esta manera, se reducen significativamente los costos, tiempos y espacios requeridos por los programas de mejoramiento, y se minimiza la incertidumbre inherente a las técnicas convencionales. En esta era, en la que la generación de datos de variados tipos constituye una actividad rutinaria y lleva a la construcción de bases de alta dimensionalidad, la aplicación de herramientas bioinformáticas se torna indispensable para el abordaje preciso de cualquier proceso biológico. La Bioinformática es una disciplina científica emergente que utiliza tecnología de la información para distribuir, organizar y analizar información biológica. Involucra la solución de problemas biológicos complejos usando herramientas de sistemas y computación. En este espacio se presentarán ejemplos de aplicaciones bioinformáticas en programas de mejoramiento genético vegetal y animal, así como la carrera de postgrado Especialización en Bioinformática, única en esta área de vacancia que cuenta con egresados en el presente.

GMBioG 2

GENÓMICA DE ANIMALES DOMÉSTICOS

Giovambattista G. Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET, UNLP-CONICET), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
E-mail: ggiovam@fcv.unlp.edu.ar

El uso de marcadores genéticos animales se remonta a la década del 60, con los grupos sanguíneos y los polimorfismos bioquímicos. A lo largo de más de 50 años, el desarrollo de los métodos de genética molecular y de análisis informático, así como la publicación de los genomas de estas especies, ha tenido como consecuencia la migración de un enfoque génico a uno genómico. Esto se debió en una primera instancia al uso de las tecnologías de microarrays y actualmente, a las denominadas técnicas de secuenciación masiva. Además, ha permitido la diversificación de las aplicaciones, sobrepasando el ámbito científico hacia la aplicación masiva en el mejoramiento animal. Inicialmente, los marcadores genéticos se utilizaron para estudios de caracterización genética de razas domésticas, la construcción de mapas de ligamiento, el mapeo de QTLs, siendo uno de sus primeros usos prácticos la determinación de paternidades para la inscripción en los libros genealógicos de las razas. A estos usos se le fue sumando la detección de enfermedades genéticas y caracteres cuantitativos (color de capa, presencia de cuernos), la determinación de origen y grado de pureza de animales y sus productos, entre otras. En el campo del mejoramiento animal el uso de la selección asistida por marcadores fue superado y reemplazado por la selección genómica que está potenciando el progreso genético de muchas razas. Finalmente, no puede dejar de mencionarse la aplicación de estas tecnologías en el campo forense, en estudios de transcriptómica y epigenómica, en la producción de transgénicos y en la edición génica.

GMBioG 3

LOCALIZACIÓN DE QTLs PARA CARACTERES DE INTERÉS AGRONÓMICO EN UN MAPA GENÉTICO DE UNA POBLACIÓN F₂ DERIVADA DE UN HÍBRIDO DE SEGUNDO CICLO DE TOMATE

Cabodevila V.G.¹, L.A. Picardi², C. Capel³, J. Capel³, R. Lozano³, G.R. Pratta¹. ¹Cátedra de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario IICAR-UNR/ CONICET, Rosario, Argentina; ²CIUNR, Rosario, Argentina; ³Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Universidad de Almería, Almería, España.
E-mail: victoria.cabodevila@unr.edu.ar

Se obtuvieron líneas endocriadas recombinantes (RIL) a partir de un cruzamiento entre un cultivar argentino (*Solanum lycopersicum* cv. Caimanta, C) y una especie silvestre (*S. pimpinellifolium* accesión LA722, P), y se obtuvieron Híbridos de Segundo Ciclo (HSC) cruzando estas RIL. El objetivo del trabajo fue localizar QTLs (*loci* de caracteres cuantitativos) en un mapa genético previamente obtenido con marcadores SNP (polimorfismo de nucleótido simple) desarrollados a partir de la secuenciación de los genomas de C y P. Las regiones candidatas de QTLs fueron identificadas utilizando el *software* QGene y se utilizó la técnica de mapeo por intervalo simple. Para determinar el LOD (logaritmo de probabilidades) umbral por carácter se utilizó un test de permutaciones (iteraciones: 1000; nivel de significancia: 0,05). Ochenta y seis individuos F₂ fueron caracterizados para fenotipos relacionados con la calidad de los frutos. Para el carácter diámetro del fruto se localizaron tres QTLs: uno en el grupo de ligamiento (GL) 1a (cromosoma (Cr) 1), otro en el GL 2b (Cr2) y otro en el GL 7a (Cr7). Para el carácter peso del fruto se localizó un QTL en el GL 2b (Cr2). Por último, para índice de forma del fruto se localizaron tres QTLs: uno en el GL 2b (Cr2), otro en el GL 6d (Cr6) y otro en el GL9b (Cr9). Los QTLs detectados no habían sido previamente descritos, por lo que se concluye que la aproximación utilizada ha sido efectiva en la medida en que se pudieron identificar nuevos QTLs que participan en la herencia de caracteres que confieren calidad al fruto.

GMBioG 4

DETECCIÓN DE HSES EN PROMOTORES SHSPS EN DOS GENOTIPOS PARENTALES DE UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE TOMATE ARGENTINO

Arce D.P.^{1,3}, P. Cacchiarelli¹, E. Tapia², G.R. Pratta¹. ¹IICAR-CONICET, Zavalla, Argentina; ²CIFASIS-CONICET, Rosario, Argentina; ³Universidad Tecnológica Nacional-FRSN, San Nicolás, Argentina.
E-mail: arce@iicar-conicet.gob.ar

Una gran diversidad de poblaciones que presentan variancia genética para caracteres relacionados a la madurez de los frutos ha sido derivada del cruzamiento de tomate cv. Caimanta (C, *Solanum lycopersicum*) x LA0722 (P, *S. pimpinellifolium*), parentales cuyas secuencias genómicas se encuentran disponibles. Las *smallheat shock proteins* (sHSPs) constituyen una sub-familia génica cuya estructura y expresión durante la madurez están bien caracterizadas por estudios previos de este y otros grupos en el cv. Heinz (H, de origen extranjero). El objetivo fue analizar *in silico* en C y P, la arquitectura de las regiones regulatorias (promotores que se encuentran a 1000 pbupstream del sitio de inicio de la transcripción) de 9 genes de sHSPs duplicadas en tandem que se inducen durante la madurez en H. La metodología se basó en la utilización de matrices de probabilidades para detectar *Heat Shock Elements* (HSEs), sitios de unión para los factores de transcripción del tipo HSFs (*Heat Stress transcription Factors*) frecuentemente presentes en los promotores de HSPs. Se identificaron HSEs en la totalidad de los genes analizados excepto para dos sHSPs mitocondriales consideradas como pseudogenes en H. En C y P se detectó la presencia de HSEs diferenciales en el promotor de Solyc09g015000, ausente en H. Las diferencias encontradas indicarían una regulación diferencial de este miembro de la familia de las sHSPs. Estas diferencias podrían ser empleadas para desarrollar cebadores específicos que permitan detectar polimorfismos moleculares potencialmente asociadas a la madurez del tomate.



GMBioG 5

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE UNA CEPA BACTERIANA ENDÓFITA AISLADA DE *Ilex paraguariensis* ST. HILL. CON PROPIEDADES DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Cortese I.J.^{1,2}, M.L. Castrillo^{1,2}, A.L. Onetto^{1,2}, F. Gortari^{1,2}, G.Y. Mallozzi¹, P.D. Zapata^{1,2}, M.E. Laczeski^{1,2}. ¹Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" - InBioMis, UNaM, Posadas, Misiones, Argentina; ²CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).
E-mail: cortesejulietta@gmail.com

Una alternativa prometedora para disminuir el uso de productos químicos y generar una agricultura sustentable es el empleo de productos biológicos que potencien el crecimiento de los cultivos y que actúen como recuperadores del suelo. Nuestro grupo de trabajo aisló una bacteria endófito de *Ilex paraguariensis* St. Hill. (yerba mate) con propiedades de promoción del crecimiento vegetal y con muy buenos resultados como biofertilizante en ensayos en vivero sobre yerba mate. El objetivo del presente trabajo fue identificar molecularmente esta cepa bacteriana. A partir de un cultivo en medio líquido incubado a 30 °C por 24 h, se extrajo ADN genómico. Para la identificación molecular se amplificó y secuenció la región 16S ADN mediante la utilización de los cebadores universales EUB9_27 y EUB1542. Una vez obtenida la región de interés, se generó una secuencia contígua consenso por medio del programa *Geneious* 3.6.1, y se procedió a contrastar la información obtenida con la existente en la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* utilizando la herramienta Blast (*Basic Local Alignment Search Tool*). Se seleccionaron aquellas secuencias con mayor porcentaje de similitud y se analizaron por el método de *Neighbor Joining* utilizando el test de *Bootstrap* con 1000 réplicas mediante el *software* Mega 6.06. El análisis de identidad y similitud y la construcción de clados monofiléticos permitieron identificar a la cepa bacteriana endófito de *I. paraguariensis* St. Hill. con propiedades de promoción del crecimiento vegetal como *Bacillus circulans*.

GMBioG 6

REPORTE DE LA SECUENCIA CITOCROMO OXIDASA I PARA IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DEL INSECTO MODELO *Tenebrio molitor* EN EL LABORATORIO DE BIOCONTROL

Bich G.A.^{1,2}, M.L. Castrillo^{1,2}, E.L. Recalde¹, J.N. Soarez¹, C.N. Martínez¹, M.P. Barengo^{1,2}, N.S. Amerio^{1,2}, M.R.V. Silva^{1,2}, L.L. Villalba¹, P.D. Zapata^{1,2}. ¹Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" - InBioMis, UNaM, Posadas, Misiones, Argentina; ²CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).
E-mail: gustavobich@gmail.com

En la identificación de insectos adultos se utilizan claves morfológicas. Sin embargo, en la identificación de estadios inmaduros o larvarios es necesario recurrir a otras herramientas. La identificación molecular de insectos por secuencias de ácidos nucleicos surge como una herramienta complementaria, viable y precisa. La región sugerida como código de barras genético es la Citocromo Oxidasa I (COI). Sin embargo el número reportado de secuencias COI de insectos para Argentina es aún limitado. Se propuso extraer ADN del pie de cría del insecto modelo *Tenebrio molitor* y analizar su secuencia COI. Se extrajo, utilizando un protocolo estandarizado, ADN del pie de cría del insecto *T. Molitor* para analizar su secuencia COI. El ADN fue amplificado mediante los cebadores LCO y HCO. Estos amplicones fueron evaluados en geles de agarosa y enviados a secuenciar. Las secuencias obtenidas fueron analizadas bioinformáticamente y contrastadas en las bases de datos moleculares. Utilizando la metodología descrita se obtuvo una secuencia de buena calidad de 690 pb. La secuencia COI obtenida presentó un porcentaje de identidad mayor al 96% con secuencias depositadas de *T. molitor* de otros países. Además, presentó similaridad (<84%) con secuencias COI de otros insectos cercanos filogenéticamente. En consecuencia, las secuencias COI pueden ser utilizadas como código de barras genético para identificación de accesiones de *T. molitor*. La secuencia de este trabajo fue depositada en Genbank bajo en el número de acceso MH362800.

GMBioG 7

LA CEPA *Trichoderma koningiopsis* POS7 ES PORTADORA DE DIEZ GENES GLUCANOLÍTICOS IMPLICADOS EN EL BIOCONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Soarez J.N.¹, M.L. Castrillo^{1,3}, G.A. Bich^{1,3}, M.C.N. Saparrat^{2,3}, P.D. Zapata^{1,3}, L.L. Villalba¹. ¹Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María EbeReca" - InBioMis, UNaM, Posadas, Misiones, Argentina; ²Instituto de Fisiología Vegetal-INFIVE, Centro Científico Tecnológico Conicet, La Plata, Argentina; ³CONICET (Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).
E-mail: julisoarez@gmail.com

Las β -1,3-glucanasas son enzimas involucradas en la despolimerización de componentes claves de la pared celular de los hongos fitopatógenos. La caracterización de las secuencias génicas que codifican para estas enzimas son herramientas prometedoras para el diseño de un eficaz biocontrol. Por tanto, se propuso analizar las secuencias estructurales y reguladoras de los genes que codifican para las enzimas endo- β -1,3-glucanasas y exo- β -1,3-glucanasas de la cepa *T. koningiopsis* POS7. Se generaron secuencias consensos a partir de secuencias génicas disponibles que codifican para el complejo enzimático β -1,3-glucanolítico, y se mapearon con los 88 *scaffolds* codificantes del aislamiento *T. koningiopsis* POS7 utilizando el *software* Geneious 9.1.5. Los *software* Clustal Omega e IGV fueron utilizados para analizar la región reguladora y estructural de los genes. Todo este procedimiento permitió determinar que el genoma de *T. koningiopsis* POS7 es portador de 5 genes que codifican para las enzimas endo- β -1,3-glucanasas y 5 genes que codifican para las enzimas exo- β -1,3-glucanasas. Se identificaron todas las regiones exónicas e intrónicas en la región estructural de cada gen, y en la región reguladora se identificaron las cajas TATA, CAAT y ATTG, un sitio de unión para las proteínas MYC1, MYC2 y MYC3 y varios elementos de respuestas como ser: GATA, CreI, AceI, XyrI, AbaA, STRE, PacC. *T. koningiopsis* POS7 es portadora en su genoma de 10 genes que codifican para las enzimas endo- β -1,3-glucanasas y exo- β -1,3-glucanasas implicadas en el biocontrol de hongos fitopatógenos.

GMBioG 8

ANÁLISIS *IN SILICO* DE GENES QUE CODIFICAN QUITINASAS IMPLICADAS EN EL MICOPARASITISMO DE *Trichoderma koningiopsis* POS7

Amerio N.S.^{1,3}, M.L. Castrillo^{1,3}, G.A. Bich^{1,3}, M.C.N. Saparrat^{2,3}, P.D. Zapata^{1,3}, L.L. Villalba¹. ¹Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María EbeReca" - InBioMis, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina; ²Instituto de Fisiología Vegetal-INFIVE, Centro Científico Tecnológico Conicet, La Plata, Argentina; ³CONICET (Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).
E-mail: natymort@hotmail.com

Las enzimas quitinolíticas de *Trichoderma* son macromoléculas estables compatibles con el desarrollo de cocteles enzimáticos aplicables para el control de una amplia gama de hongos patógenos. Dependiendo del aislado de *Trichoderma* utilizado como fuente de producción enzimática, el sistema quitinolítico puede estar representado por 5 a 7 enzimas distintas. Para estudiar los mecanismos de inducción o represión de estas enzimas es necesario conocer las regiones estructurales y reguladoras de los genes que las codifican. Nuestro objetivo fue analizar *in silico* los genes que codifican las enzimas del sistema quitinolítico de la cepa *T. koningiopsis* POS7. A partir de su genoma secuenciado, se realizó el análisis utilizando el *software* bioinformático Geneious 9.1.5. Se logró anotar 7 genes quitinolíticos, 5 de ellos codifican para enzimas endoquitinasas (EC: 3.2.1.14) pertenecientes a la familia 18 de las glicosil hidrolasas (chit33, chit36, chit101, ech30 y ech42) y 2 codifican para exoquitinasas (EC 3.2.1.52) pertenecientes a la familia 20 de las glicosil hidrolasas (exc2 y nag1). En la región reguladora de cada uno de estos genes, se pudieron identificar secuencias reguladoras bien definidas, entre ellas: cajas TATA, CAAT, CAAT invertidas (ATTG), elementos de respuesta a la represión catabólica del carbono, a la represión de nitrógeno, al estrés fisiológico y sitios de unión putativos para proteínas con funciones reguladoras durante el parasitismo. El genoma de la cepa *T. koningiopsis* POS7 es portador de 7 genes que codifican enzimas involucradas en la degradación de quitina.

GMBioG 9

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES DURANTE EL DESARROLLO DE SEMILLAS DE *Paspalum notatum* FLÜGGÉPozzi F.I.¹, C.A. Acuña², M.B. Depetris¹, C. Quarín², S.A. Felitti¹.¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR), CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, Santa Fe, Argentina; ²Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE), CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

E-mail: sfelitti@unr.edu.ar

La especie *P. notatum* es utilizada como modelo en genética reproductiva vegetal debido a que presenta citotipos diploides de reproducción sexual y citotipos poliploides apomícticos y pseudógamos. La teoría del número de balance endospermico (NBE) establece que la relación de las contribuciones genómicas debe ser 2 materna: 1 paterna, para el normal desarrollo del endospermo. Sin embargo, las plantas apomícticas de *P. notatum* son NBE insensibles. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Realizar cruzamientos entre diferentes genotipos a fin de generar semillas con distintos niveles de ploidía por las vías sexual y apomíctica; 2) Realizar un análisis de la expresión génica diferencial 48 hs luego de ocurrida la polinización (LOP). Para ello, a partir del ARNm de 20 ovarios de cada cruzamiento, 48 hs LOP, se llevó a cabo el análisis de la expresión génica diferencial mediante la técnica cDNA-AFLP. Se determinó que la mayoría de los fragmentos derivados de transcritos de expresión diferencial (en inglés DETDFs) obtenidos, se encontraron en la categoría funcional Metabolismo (25%), seguida por Señalización (14%). Estos resultados son semejantes a los encontrados a las 3 hs y 24 hs LOP. El hecho de que el mayor porcentaje de DETDFs identificados pertenezcan a las categorías funcionales Metabolismo y Señalización, es consistente con lo esperado para el desarrollo temprano de la semilla en pastos y cereales, ya que los requerimientos energéticos aumentan, además de que las señales extracelulares estarían desencadenando respuestas que llevan o no a la generación de semillas.

GMBioG 10

APLICACIÓN DE LA BIOINFORMÁTICA Y LA BIOLOGÍA MOLECULAR EN LA IDENTIFICACIÓN DE FITOPATÓGENOSFernandez L.N.^{1,2}, M.A. Favaro², S. Paviotti³, R.L. Maumary², M. Sillon². ¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina;²Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina; ³Alumna adscripta de la Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional del Litoral.

E-mail: laurafernandez1@gmail.com

La identificación de fitopatógenos mediante taxonomía clásica es de reconocida importancia pero requiere de tiempo, experiencia y no siempre permite definir de manera certera el agente causal de una enfermedad. En el año 2016, productores del albardón costero santafecino tuvieron serios problemas de podredumbre seca en zanahorias del cv. Bolero. El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar al agente causal de esta patología. Para ello, del tejido sintomático, se aislaron en Agar Papa Dextrosa (APD) 4 cepas de *Fusarium* spp. que se caracterizaron morfológicamente. Luego se extrajo el ADN para realizar identificación molecular mediante amplificación de las subregiones ITS y EF1- α . Los productos obtenidos se secuenciaron y compararon con los datos del NCBI. Las colonias logradas se diferenciaron por el aspecto del micelio y la tinción del APD. Así, lograron conformarse 2 grupos, siendo el primero de colonias color crema con micelio ralo y el segundo de colonias color púrpura y micelio sub-aéreo. Los conidios en ambos casos fueron alunados, hialinos y septados promediando 4,9 y 4,2 μ m de ancho y 28,4 y 25,6 μ m de largo, respectivamente. Estos datos no permitieron determinar especie, pero el análisis de las secuencias obtenidas para ITS y EF1- α arrojaron un 100% de identidad con *Fusarium solani* y *F. oxysporum*. Estos resultados demuestran que la bioinformática, las técnicas moleculares y las taxonómicas clásicas resultan complementarias para diagnosticar a nivel especie el agente causal de una patología, contribuyendo así al posterior desarrollo de estrategias de manejo especie-específicas.