

# GGM

## GENÓMICA Y GENÉTICA MOLECULAR



## SÍNDROME DE MICRODELECIÓN 15q11.2 BP1-BP2 (BURNSIDE- BUTLER): DESCRIPCIÓN DE UN CASO DETECTADO POR MS-MLPA

Furfuro S.B.<sup>1</sup>, M.J. Guillamondegui<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Hospital Pediátrico A. Fleming, Mendoza, Argentina. sfurfuro@hotmail.com

El síndrome de microdelección 15q11.2 OMIM#615656 es una nueva entidad identificada a partir de *microarrays*, caracterizada por penetrancia incompleta y expresividad variable. La delección abarca 300-500 kb entre los puntos de ruptura BP1-BP2 que incluye 4 genes (*NIPA1*, *NIPA2*, *CYFIP1*, y *TUBGCP5*). Se asocia a alteraciones cognitivas, retardo del lenguaje/desarrollo motor, trastornos del espectro autista, déficit atencional, trastornos psiquiátricos, ataxia, convulsiones y dismorfias o anomalías congénitas menores. Caso: niña derivada a Genética a los 8 meses por hipotonía, hiperlaxitud articular y microrretrognatia. Hija única de pareja sana no consanguínea con estudios universitarios. Madre, 37 años y padre 38 años al momento del nacimiento. Sin antecedentes personales ni familiares relevantes. Embarazo sin complicaciones. Nació a término por cesárea. Peso: 2500 gr (p3) Talla: 45 cm (<p3) P. Cefálico: 34 cm (p50). Logró el sostén cefálico con leve retraso, entre el 3<sup>o</sup>-4<sup>o</sup> mes. Sedestación a los 8 meses. Derivada a Neurología y a Estimulación temprana a los 7 meses por hipotonía. Examen oftalmológico y Eco cerebral normales. Se solicitó estudio MS-MLPA para Síndrome de Prader-Willi, detectando delección en región BP1-BP2 con perfil de metilación normal. El análisis de los progenitores mostró igual resultado alterado en el padre, madre sin alteraciones. Actualmente la niña tiene 3 años y su evolución es favorable en crecimiento y desarrollo psicomotor. Será necesario continuar el seguimiento de la paciente para monitorear la aparición de alteraciones asociadas a este síndrome.

## ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE PUNTOS DE RUPTURA DE UNA VARIANTE ESTRUCTURAL DEL F8 ORIGINADA POR RECOMBINACIÓN NO-HOMÓLOGA CAUSAL DE HEMOFILIA A SEVERA

Waisman K.<sup>1</sup>, B.M. Ziegler<sup>1</sup>, V.D. Marchione<sup>1</sup>, P. Radic<sup>1</sup>, L. Rossetti<sup>1</sup>, M. Abelleyro<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Medicina Experimental (IMEX), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)-Academia Nacional de Medicina (ANM), Buenos Aires, Argentina. karen\_kw@live.com

Aunque el 8-15% de las Hemofilias A severas (HAS) son causadas por grandes delecciones del F8, muy pocas son caracterizadas y menos aún investigadas para elucidar su mecanismo de origen. Aquí se abordan estos objetivos en un paciente con HAS usando métodos bioinformático-estadísticos originales, analizando motivos recombinogénicos en las rupturas para elucidar su mecanismo molecular. Las regiones de incerteza 5' y 3' del rearreglo fueron acotadas por *inverse shifting*-PCR y se diseñaron PCR directas para secuenciar el punto de recombinación. En intervalos de 50 pb con centro en los puntos de ruptura se estudiaron motivos del ADN asociados a inestabilidad genómica, evaluando su significancia estadística con hipótesis nulas estimadas por valores esperados en puntos de ruptura artificiales aleatorios en Xq28 (n=240) y en las frecuencias de bases. La delección NC\_000023.11:g.154981972\_154989056delinsG, mostró la inserción de una base sin microhomologías. En el extremo 3' se detectó la secuencia recombinogénica Jurka, una estructura secundaria de ADN estable y un elemento AluSx, y en 5', un motivo *Murine parvovirus recombination hotspot*. Estos hallazgos apoyan la participación de la maquinaria de retrotransposición, estructuras secundarias y secuencias recombinogénicas en la susceptibilidad a sufrir rupturas localizadas e indican al sistema de reparación de extremos no homólogos (NHEJ) como el mecanismo molecular más probable.

## LAS VARIANTES *TP53* rs1042522 Y *NQO1* rs1800566 INFLUYEN EN LA SUSCEPTIBILIDAD A DESARROLLAR LEUCEMIAS CRÓNICAS

Fontecha M.B.<sup>1</sup>, M.d.R. Anadón<sup>1</sup>, V. Mercado Guzmán<sup>1</sup>, I. Slavutsky<sup>1</sup>, I. Larripa<sup>1</sup>, A.F. Fundia<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Medicina Experimental, IMEX-CONICET-Academia Nacional de Medicina (ANM), Buenos Aires, Argentina. mbfontecha@gmail.com

Las leucemias crónicas (LC) constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias hematopoyéticas que incluye la leucemia mieloide crónica (LMC) y la leucemia linfocítica crónica (LLC). El gen *TP53* tiene un rol central en el mantenimiento de la integridad genómica mediante el control de la respuesta al daño al ADN y apoptosis. El objetivo del trabajo fue estudiar variantes polimórficas en genes de la vía p53 para establecer su rol en la susceptibilidad a desarrollar LC. Se analizaron 158 pacientes con LMC, 113 con LLC y 182 controles sanos. Se estudiaron 6 variantes en los genes *TP53* (rs1042522, rs17878362 y rs1625895), *MDM2* (rs2279744 y rs3730485) y *NQO1* (rs1800566) por distintas PCR alelo específicas. En los controles se confirmó el equilibrio de Hardy-Weinberg para todas las variantes ( $p > 0,08$ ). El análisis de susceptibilidad con los modelos genéticos de penetrancia reveló que según el modelo recesivo *TP53* rs1042522 se asocia a bajo riesgo a desarrollar LC (OR=0,46; IC: 0,22-0,96;  $p=0,036$ ) en tanto que *NQO1* rs1800566 se relaciona con alto riesgo (OR=2,69; IC: 1,06-6,81;  $p=0,027$ ). Individualmente se demostró que *TP53* rs1042522 se asocia con bajo riesgo a LMC (OR=0,25; IC: 0,09-0,69;  $p=0,003$ ), mientras que *NQO1* rs1800566 a alto riesgo a LMC (OR=1,52; IC: 1,03-2,25;  $p=0,032$ ) y LLC (OR=4,49; IC: 1,02-19,66;  $p=0,035$ ). El análisis conjunto de todas las variantes llevó a identificar 6 genotipos combinados relacionados significativamente con el riesgo a LC. Estos resultados sugieren que la variabilidad genética en la vía p53 modula la susceptibilidad a desarrollar LC en forma diferencial.

## CARACTERIZACIÓN DE LÍNEAS CELULARES DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA SENSIBLE (K<sub>0</sub>562) Y RESISTENTE (K<sub>i</sub>562) AL IMATINIB

Anadón M.d.R.<sup>1</sup>, Y.B. Sarango Ortega<sup>2</sup>, M.F. Noriega<sup>3</sup>, S. Staporoli<sup>4</sup>, S. Lompardía<sup>2</sup>, A.F. Fundia<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Medicina Experimental (IMEX-CONICET). <sup>2</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina (ANM). <sup>4</sup>IMEX-CONICET-ANM, Buenos Aires, Argentina. rochianadon@gmail.com

La leucemia mieloide crónica (LMC) se caracteriza por el gen de fusión *BCR-ABL1* generado por la traslocación t(9;22) (q34;q11) y es eficientemente tratada con Imatinib (IM). La línea celular K562 deriva de una paciente con LMC en crisis blástica. El objetivo del trabajo es caracterizar las líneas celulares K<sub>0</sub>562 (sensible a IM) y K<sub>i</sub>562 (resistente a IM) para identificar la base de la resistencia. Se estableció el cariotipo por citogenética convencional y FISH con la sonda *BCR-ABL1* (LIVE de LEXEL). Se cuantificó la expresión del transcrito *BCR-ABL1* por qRT-PCR y se estudiaron las mutaciones en el dominio quinasa por PCR y secuenciación. Por Western Blot se estudió la expresión de la proteína *BCR-ABL1* (p210) y por citometría de flujo se midió la funcionalidad de la glicoproteína Pgp ligada a la multiresistencia a drogas. El número modal de las 2 líneas fue de 69 cromosomas. El cariotipo de K<sub>0</sub>562: 56-69, XX, +1, +2, +3, +5, +del(5)(q?), +add(6)(p?), +del(7)(q?), +del(9)(p?), +10, +12, +16, +18, +19, +add(20)(p?), der(1,21)(q?q?), +dup(22)(q?) [cp10]. No se pudo establecer el cariotipo de K<sub>i</sub>562 por falta de metafases. Mediante FISH se confirmó la amplificación del gen *BCR-ABL1* en ambas líneas. A su vez, estas presentaron mayor expresión del transcrito *BCR-ABL1* respecto del control de reacción y la mutación F359I en diferente proporción. No hubo diferencias en la actividad de Pgp, pero K<sub>i</sub>562 mostró mayores niveles de expresión proteica de p210 ( $p < 0,01$ ). Estos resultados sugieren que la alta traducción de la proteína p210 en las células K<sub>i</sub>562 se asocia a la resistencia al IM.

## ESTUDIO GENÉTICO PREIMPLANTATORIO PARA ANEUPLOIDÍAS (PGT-A): RESULTADOS DE MÁS DE 2000 EMBRIONES

Galain M.<sup>1</sup>, M. Fabbro<sup>1</sup>, S. Menazzi<sup>1</sup>, S. Papier<sup>1</sup>, F. Nodar<sup>1</sup>, C. Fernández<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CEGYR, CABA, Argentina.  
mgalain@fertimed.com.ar

El PGT-A utiliza diferentes técnicas moleculares para estudiar el ADN de embriones generados en tratamientos de fertilización *in vitro* (FIV). Este estudio permite seleccionar embriones sin alteraciones cromosómicas numéricas para transferir y así mejorar la probabilidad de un embarazo. El objetivo de este trabajo fue describir nuestra experiencia con más de 2000 embriones analizados íntegramente en nuestro laboratorio. Entre 2013 y enero de 2020 se amplificó el ADN de células obtenidas de 2015 biopsias de trofoectodermo de blastocistos, y se realizó aCGH (392) o NGS (1623). Se determinó la dotación cromosómica de cada embrión y la tasa de aneuploidía según el cromosoma alterado, la edad materna y la indicación del estudio. No se obtuvo resultado en un 4,7% de las biopsias. Un 54,3% y 42,5% resultaron ser embriones aneuploides por aCGH y NGS, respectivamente. Considerando solo NGS, los cromosomas que presentaron mayor tasa de aneuploidía fueron: 13, 15, 16, 18, 19, 20, 21 y 22. La tasa de aneuploidía según la edad materna fue del 42% en <35, 58,9% entre 35-37, 72,2% entre 38-40 y 79,4% en >40 años. Según la indicación fue del 74,6% para edad reproductiva avanzada, 65,2% para fallas de FIV, 62% para abortos recurrentes y 43,8% por decisión de los pacientes. Nuestros resultados refuerzan que el PGT-A estaría principalmente indicado en casos de edad reproductiva avanzada. Nuestro estudio fue útil para identificar y transferir embriones sin aneuploidía y así mejorar los resultados reproductivos, disminuir los riesgos de aborto y de anomalías congénitas.

## DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTATORIO PARA DOS PATOLOGÍAS MONOGENICAS RECESIVAS: A PROPÓSITO DE UN CASO

Menazzi S.<sup>1</sup>, A. Nabel<sup>1</sup>, M. Fabbro<sup>1</sup>, M. Galain<sup>1</sup>, F. Nodar<sup>1</sup>, C. Fernández<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CEGYR, CABA, Argentina.  
smenazzi@fertimed.com.ar; smenazzi@gmail.com

El estudio genético preimplantatorio (PGT, por sus siglas en inglés) identifica alteraciones genéticas en los embriones con el fin de reducir el riesgo reproductivo. Puede aplicarse para enfermedades monogénicas (PGT-M) en embriones de parejas portadoras de variantes patogénicas, o para identificar aneuploidías o determinar el sexo embrionario (PGT-A). El PGT requiere de fertilización *in vitro* y biopsia del trofoectodermo seguida por un estudio molecular y la selección y transferencia de embriones con al menos un alelo salvaje o de sexo femenino, para entidades recesivas autosómicas o ligadas al X, respectivamente. El objetivo fue describir una pareja portadora de dos trastornos recesivos, enfermedad de Pompe y deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, que realizaron PGT. La pareja constituida por una mujer de 28 años y un hombre de 29 años, sanos, no consanguíneos, sin antecedentes familiares de relevancia, de origen Ashkenazi y Sefaradí, consultó por el antecedente de un aborto espontáneo. Se solicitaron cariotipos, ambos normales, y un panel para variantes patogénicas recesivas. En él se identificó la variante c.-32-13T>G en GAA, y en ella, las variantes c.1309C>T en GAA y c.563C>T en G6PD. La pareja fue asesorada sobre su riesgo reproductivo y realizó PGT, tras lo cual dio a luz a una niña sana. Se destaca la relevancia de los estudios de portadores de patologías recesivas previo al embarazo para que las parejas puedan tomar una decisión reproductiva informada, y la utilidad del PGT como herramienta para reducir el riesgo en casos en los que este es alto.

## IDENTIFICACIÓN DE POBLACIONES BOLIVIANAS DE NEMATODOS FITÓFAGOS DEL GÉNERO *Globodera* (HETERODERIDAE)

Sosa M.C.<sup>1</sup>, J.C. Rondan Dueñas<sup>2</sup>, A.J. Andrade<sup>3</sup>, J.F. Ponce<sup>4</sup>, P. Lax<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Diversidad y Ecología Animal (CONICET-UNC), Centro de Zoología Aplicada, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>CEPROCOR, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Biología de la Altura, Universidad Nacional de Jujuy, Jujuy, Argentina. <sup>4</sup>CABI, Lima, Perú. ceeci.sosa@gmail.com

Los nematodos del quiste de la papa (NQP) comprenden tres especies del género *Globodera*; en el mundo, *G. pallida* y *G. rostochiensis* causan significativas pérdidas económicas en ese cultivo y están sujetas a estrictas regulaciones de cuarentena en muchos países. *G. ellingtonae* fue descrita en 2012 y, por el momento no es considerada una plaga cuarentenaria. La correcta identificación de los NQP es esencial para adoptar las medidas más efectivas para su control. El objetivo del presente trabajo fue identificar cuatro poblaciones asociadas con papa andina de las localidades Dami Rancho y Cochimita (Departamento Cochabamba, Bolivia) mediante el análisis de las regiones espaciadoras internas de transcripción (ITS1 e ITS2). El ADN se extrajo de quistes y la amplificación se realizó utilizando *primers* modificados para este estudio. Los productos de PCR fueron secuenciados por Macrogen. Las secuencias se compararon mediante BLAST (NCBI) con otras del género, y las relaciones filogenéticas se analizaron con Inferencia Bayesiana. Las poblaciones estudiadas mostraron un porcentaje de identidad del 99,9% con *G. rostochiensis*. Las secuencias obtenidas, junto a otras de la especie, conformaron un clado con un elevado valor de *bootstrap* (100%). Los resultados permiten inferir una amplia distribución de *G. rostochiensis* en campos de papa andina en el departamento de Cochabamba.

## USO DE CITOCROMO OXIDASA III PARA IDENTIFICACIÓN Y FILOGENIA DE NEMATODOS DEL QUISTE DE PAPA DEL GÉNERO *Globodera* (HETERODERIDAE)

Lax P.<sup>1</sup>, J.C. Rondan Dueñas<sup>2</sup>, A.J. Andrade<sup>3</sup>, M.C. Sosa<sup>1</sup>, I. Lima<sup>4</sup>, J.F. Ponce<sup>5</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Diversidad y Ecología Animal (CONICET-UNC) y Centro de Zoología Aplicada, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>CEPROCOR, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Biología de la Altura, Universidad Nacional de Jujuy, Jujuy, Argentina. <sup>4</sup>Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú. <sup>5</sup>CABI, Lima, Perú. laxpaola@gmail.com

En la región andina, la papa representa un recurso alimenticio y económico vital para numerosas familias. En Sudamérica existen tres especies de nematodos formadores de quistes (NQP) que parasitan ese cultivo: *G. ellingtonae*, *G. pallida* y *G. rostochiensis*; las dos últimas tienen estatus cuarentenario y a nivel mundial, son responsables de ocasionar importantes pérdidas en ese vegetal. La identificación de los NQP, indispensable para definir las estrategias adecuadas de manejo, se realiza principalmente en base a la región ITS del ADNr. Se evaluó la utilidad del gen citocromo oxidasa III (*COIII*) para identificar y analizar las relaciones filogenéticas entre poblaciones de distinto origen geográfico de esas especies (*G. ellingtonae*: 1 de Argentina; *G. rostochiensis*: 2 de Argentina, 1 de Chile y 5 de Bolivia; *G. pallida*: 3 de Perú). Se extrajo ADN de quistes y se amplificó dicha región empleando un set de *primers* diseñados en el presente trabajo. Las secuencias se alinearon (608 pb) y se analizaron mediante Maximum Likelihood e Inferencia Bayesiana. Ambos métodos permitieron separar claramente los tres NQP, con altos valores de soporte estadístico. Las relaciones filogenéticas coincidieron con lo observado con la región de ITS. Por primera vez, se pone en evidencia el potencial del gen *COIII* para el diagnóstico de especies de *Globodera* asociadas con el cultivo de papa.

## IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS DE LAS PROVINCIAS DE CÓRDOBA, CATAMARCA Y JUJUY

Cuellar N.<sup>1</sup>, J.C. Rondan Dueñas<sup>2</sup>, E. Del Valle<sup>3</sup>, M.E. Doucet<sup>1</sup>, P. Lax<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Ecología y Diversidad Animal (IDEA-CONICET), Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>CEPROCOR, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.  
cuellar\_natalia07@hotmail.com

Los nematodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae) son parásitos obligados de insectos y potenciales agentes de control biológico de plagas. En ambientes naturales y cultivados se realizaron prospecciones, y a partir de muestras de suelo se obtuvieron tres aislados del género *Steinernema* (provincia de Córdoba) y dos de *Heterorhabditis* (Catamarca y Jujuy). El objetivo de este trabajo fue identificarlos a nivel específico mediante el análisis de marcadores moleculares de ADN ribosomal (ITS y segmentos de expansión D2-D3). El ADN se extrajo a partir de hembras de primera generación; se llevó a cabo la amplificación y secuenciación de los genes mencionados. Las secuencias obtenidas se alinearon con otras publicadas en el GenBank y se establecieron las relaciones filogenéticas mediante Maximum Likelihood. De los aislados de Córdoba, especímenes de las localidades Río Cuarto y Cavanagh se agruparon con secuencias de *S. rarum* (valores de *bootstrap* ITS y D2-D3: 100%), mientras que individuos de Pretot Freyre, lo hicieron con *S. diaprepesi* (valor de *bootstrap* ITS: 100%; D2-D3: 98%). Los aislados de Catamarca (Capayán) y Jujuy (Calilegua), se unieron con secuencias de *H. amazonensis* con valores de *bootstrap* del 99% (ITS) y 92% (D2-D3). Los resultados muestran la amplia distribución de *S. rarum* en el país, siendo una de las especies más frecuentes. Por primera vez, se pone en evidencia la presencia de *S. diaprepesi* en la provincia de Córdoba y de *H. amazonensis* en Argentina.

## DIFERENTES HAPLOTIPOS H2 EN RATONES ENDOCRIADOS CBI-IGE CON DISTINTA SUSCEPTIBILIDAD A LA INFECCIÓN CON *Trichinella spiralis*

Codina A.V.<sup>1</sup>, P.A. Indelman<sup>2</sup>, C.J. Perez<sup>3</sup>, F.J. Benavides<sup>3</sup>, M.D. Vasconi<sup>1,2</sup>, L.I. Hinrichsen<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Genética Experimental, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario (UNR), CIC-UNR. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Department of Epigenetics and Molecular Carcinogenesis, University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA.  
vikicodina@hotmail.com

Los modelos murinos genéticamente definidos son valiosos para investigar la resistencia/susceptibilidad a las parasitosis. Las infecciones intestinales por gusanos suelen causar una fuerte respuesta inmune del huésped. Aunque se acepta que el control genético de la carga parasitaria (CP) es poligénico y que la respuesta inmune está regulada en parte por genes receptores de interleucina, estudios recientes han enfatizado que los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH; H2 en ratón) desempeñan también un papel fundamental. Su variación se ha implicado como determinante de la respuesta del hospedero a parásitos gastrointestinales. El objetivo de este trabajo fue comprobar si dos líneas endocriadas de ratones de la colonia CBI-IGE (CBI/L y CBI+) que discrepan en su respuesta al desafío con dosis crecientes del nematodo *T. spiralis* difieren en los haplotipos H2. El ADN genómico se preparó a partir de trozos de cola de ratón mediante el método SDS-proteinasa K. La tipificación de los haplotipos CMH murinos se realizó por amplificación con PCR de un corto tramo de ADN con un microsatélite altamente polimórfico del gen *Eb* de clase II. El genotipo CBI/L, resistente, caracterizado por tener una CP muy baja y respuesta inmune orientada hacia Th2, protectora para el hospedero, mostró un haplotipo heterocigota H2<sup>p/j</sup>. CBI+, susceptible, con CP más alta que CBI/L ( $p < 0,0001$ ) y tendencia a una respuesta tipo Th1 en todas las etapas del ciclo del parásito, tuvo un haplotipo H2<sup>b/j</sup>. Este resultado podría explicar, en parte, la distinta resistencia a la infección con el parásito.

## ANÁLISIS GENÉTICO DEL ÑANDUBAY COMO MEDIDA DE EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS QUE EJERCE LA DEFORESTACIÓN SOBRE EL BOSQUE NATIVO

Soldati M.C.<sup>1</sup>, G. Gavier Pizarro<sup>1</sup>, M. Morales<sup>1</sup>, L.M. Solari<sup>1</sup>, N. Zelener<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Recursos Biológicos, INTA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación de Recursos Naturales, INTA, Buenos Aires, Argentina. soldati.maria@inta.gob.ar

El ñandubay, *Prosopis affinis*, es una de las especies arbóreas dominantes del bosque en el espinal entrerriano, determinando sustancialmente su estructura y funcionamiento. En Argentina, el proceso de deforestación está vinculado a un aprovechamiento forestal selectivo e intensivo y a la creciente conversión de hábitats naturales para el desarrollo agropecuario. Estos procesos conllevan asociada una pérdida de biodiversidad y de los servicios ecosistémicos que estos bosques proveen. A fin de determinar los efectos ejercidos por la deforestación sobre la variabilidad genética de la especie a lo largo del tiempo, se evaluó un total de 88 individuos pertenecientes a generaciones diferentes en 10 parches de monte localizados en Entre Ríos. Se utilizaron 10 marcadores SSRs, identificando 125 alelos. En todos los parches se observó la misma tendencia en los valores de diversidad genética, evidenciando niveles más bajos en los renovales (0,50 a 0,78) que en los adultos (0,70 a 0,81). Se observaron 9 alelos exclusivos en los renovales y 19 en los adultos, acompañando la tendencia. Entre los individuos analizados, se identificaron dos grupos genéticos distribuidos en proporciones diferentes, conforme las generaciones evaluadas. Los resultados preliminares obtenidos evidencian una clara disminución de la variabilidad genética en los individuos más jóvenes, lo que posiblemente esté asociado al intenso aprovechamiento del bosque nativo de la provincia.

## HERRAMIENTAS GENÓMICAS PARA LA EVALUACIÓN DE *Cordia trichotoma*

Soldati M.C.<sup>1</sup>, M.F. Pomponio<sup>1</sup>, N. Zelener<sup>2</sup>, T. Ledesma<sup>3</sup>, J. Redes<sup>4</sup>, S.L. Torales<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Recursos Biológicos, INTA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación de Recursos Naturales, INTA, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>EEA Yuto, INTA, Salta, Argentina. <sup>4</sup>EEA Montecarlo, INTA, Misiones, Argentina. soldati.maria@inta.gob.ar

El petiribí o afata (*Cordia trichotoma*) es una especie forestal nativa de alto valor con excelentes atributos maderables (rápido crecimiento, buena forma y alta calidad). Está sujeta a un intenso aprovechamiento forestal de carácter extractivo y selectivo sin técnicas de manejo adecuadas, lo que ha generado un estado de alto riesgo para este recurso. Si bien la especie está considerada como prioritaria para la domesticación, y actualmente hay dos HSC emplazados en el Norte Argentino, no existen herramientas genómicas suficientes para caracterizar el material y asistir a las tareas de conservación y mejoramiento. Con este objetivo se ensayó la transferencia de 17 marcadores SSRs desde *Cordia alliodora* y se desarrolló un transcriptoma base para la especie de estudio. Como resultado se logró la transferencia exitosa de 11 SSRs neutros y se obtuvieron 196.717 secuencias, con un total de 14.729 secuencias no redundantes, de las cuales fueron identificadas funcionalmente 12.276. Se hallaron genes relacionados con los principales procesos biológicos y funciones moleculares en plantas y 1500 SSRs, de los cuales se diseñaron cebadores en 903 marcadores que requieren evaluación *in vitro* para ser utilizados como marcadores en la especie. Se cuenta al momento con un set de marcadores genómicos y secuencias de genes como así también potenciales marcadores funcionales para realizar análisis en el material disponible en los HSC, estudios de diversidad genética poblacional neutra y adaptativa y polimorfismos en genes de interés.

## IDENTIFICACIÓN DE TRANSCRIPTOS ASOCIADOS A LA ANDROESTERILIDAD INDUCIDA POR IMAZAPIR EN GIRASOL

Loste N.<sup>1</sup>, G. Nestares<sup>2</sup>, S.A. Felitti<sup>2</sup>, A. Ochogavía<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario (UNR), Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario IICAR-CONICET-UNR, Santa Fe, Argentina. nico\_loste@hotmail.com

La androesterilidad inducida químicamente constituye una valiosa herramienta para el desarrollo de cultivares híbridos. En girasol (*Helianthus annuus* L.), se ha demostrado que el herbicida imazapir, aplicado en altas dosis durante el desarrollo reproductivo temprano, genera androesterilidad en plantas resistentes. El objetivo de este estudio fue identificar las bases moleculares del efecto gametocida del imazapir en dos genotipos de girasol Imisun que difieren en su nivel de resistencia: completamente resistente y de resistencia intermedia. A partir de un análisis transcriptómico por cDNA-AFLP se identificaron 948 fragmentos expresados diferencialmente entre plantas tratadas y control, durante tres etapas del desarrollo de anteras. Un total de 176 transcriptos fueron aislados, reamplificados y secuenciados. Estas secuencias fueron comparadas contra las bases de datos públicas de mRNA de plantas y de girasol. En el genotipo resistente se identificaron genes relacionados con el metabolismo xenobiótico y el estrés, como el citocromo P450 monooxigenasa y los transportadores tipo ABC. Sin embargo, el receptor de sulfonilurea 1, una proteína péptido señal peptidasa y Ran/Arf GTPasas, fueron detectados simultáneamente en ambos genotipos, por lo que estos genes estarían involucrados exclusivamente en el proceso de androesterilidad inducida. En base a los resultados se propone un modelo de acción gametocida para el imazapir como primera aproximación para elucidar los mecanismos moleculares asociados a la androesterilidad inducida por este herbicida en girasol.

## BÚSQUEDA Y CARACTERIZACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA (R) EN GIRASOL

Tolentino Vásquez M.A.<sup>1</sup>, B. Contreras Moreira<sup>2</sup>, M. Rivarola<sup>3</sup>, V. Lia<sup>3</sup>, N. Paniego<sup>3</sup>, C. Filippi<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Programa Académico para la Investigación e Innovación en Biotecnología, Universidad Nacional de Moreno, Argentina. <sup>2</sup>European Bioinformatics Institute, Wellcome Genome Campus, Hinxton, Cambridge, United Kingdom. <sup>3</sup>Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABiMo-INTA-CONICET), Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Hurlingham, Argentina. <sup>4</sup>Programa Académico para la Investigación e Innovación en Biotecnología, Universidad Nacional de Moreno, IABiMo-INTA-CONICET, Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA, Hurlingham, Argentina. mtolentinov@gmail.com

Los genes R codifican para proteínas que reconocen patógenos, permitiendo a la planta defenderse de enfermedades. Aquí presentamos la búsqueda y caracterización del repertorio completo de genes R en girasol, una de las principales oleaginosas en Argentina. A partir del proteoma de la especie (XRQ-V1.0, 52191 proteínas) y usando dos herramientas públicas (DRAGO2 y RGAugury) se identificaron 5394 potenciales proteínas codificadas por genes R, de las cuales 1659 fueron consideradas para estudios posteriores por haber sido identificadas por ambas estrategias. Se estableció una clasificación de 26 categorías para las mismas, basada en combinaciones de dominios proteicos, siendo TM-STTK (receptor transmembrana tirosina-quinasa) la categoría más abundante (632). En paralelo, se exploraron distintas métricas para la caracterización de genes R, entre ellas longitud de las secuencias codificantes, frecuencias de di y trinucleótidos, su distribución por cromosoma (CHR), agrupamiento en *clusters* y, usando datos previos del grupo la frecuencia de polimorfismos (SNP) entre genes R y no-R. Se observó que los genes R son significativamente más largos que los no-R ( $p < 0,001$ ); no se observaron diferencias en número de SNP/pb (pares de bases) entre ellos. Respecto de su distribución, CHR13 y 6 son los cromosomas que más y menos genes R acumulan, respectivamente (182/42). De 1659 genes R putativos, 907 se agrupan en *clusters* (2-10 genes/*cluster*). Identificar el repertorio completo de estos genes es clave para asistir el mejoramiento del cultivo basado en estrategias biotecnológicas.



## VALIDACIÓN DE GENES DE REFERENCIA PARA qPCR EN SORGO DE ALEPO RESISTENTE A GLIFOSATO

Ulrich M.N.<sup>1</sup>, E. Muñiz Padilla<sup>2</sup>, A. Corach<sup>1</sup>, H.E. Hopp<sup>1</sup>, D. Tosto<sup>1</sup>. <sup>1</sup>IABIMO-INTA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos, Entre Ríos, Argentina. ulrich.maria@inta.gob.ar

Las malezas son una de las principales causas de la disminución del rendimiento de los cultivos, entre ellas el sorgo de Alepo es una de las de mayor impacto. La PCR en tiempo real o PCR cuantitativa es la técnica de elección para el estudio de expresión de genes dada su alta procesividad y confiabilidad, pero su precisión a la hora de las cuantificaciones es muy dependiente de la estabilidad de los genes de referencia. Un gen de referencia adecuado debería expresarse en forma estable en todas las condiciones experimentales a analizar. El objetivo del presente trabajo es evaluar la estabilidad de diferentes genes de referencia para sorgo de Alepo resistente a glifosato. Para ello se evaluaron genes utilizados regularmente como referencia (*ACT*, *ALS*, *PP2A*, *EIF4* y *ARI8*) bajo condiciones de aplicación de glifosato, y se analizó su expresión a las 0, 24 y 72 horas postaplicación en biotipos susceptibles y resistentes. Se diseñaron oligonucleótidos con el software Primers 3 y se verificó la especificidad de los mismos analizando las secuencias de los fragmentos amplificados y las curvas de disociación; así como también se calculó la eficiencia de cada uno,  $E=10^{1/\text{pendiente}}$ . Para el análisis de estabilidad se utilizaron los softwares geNorm, Normfinder, BestKeeper y método del  $\Delta\text{Ct}$ . La variación de los Ct fue desde un mínimo de 21,93 a un máximo de 28,24. Para el Bestkeeper los genes con menor variación fueron *ARI8* y *PP2A*. Tanto para el algoritmo del geNorm y el Normfinder los genes *ARI8* y *PP2A* fueron los más estables bajo las condiciones de ensayo.

## ARNs LARGOS NO CODIFICANTES EN ESPIGAS AFECTADAS POR FUSARIOSIS EN *Triticum turgidum* ssp. *durum*

Díaz M.<sup>1</sup>, D. Soresi<sup>1</sup>, A. Carrera<sup>2</sup>, C. Gallo<sup>3</sup>, S. Micheletto<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Departamento Agronomía, UNS, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CERZOS-CONICET, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. mldiaz@criba.edu.ar

Los ARN largos no codificantes (ARNlnc) son transcritos no codificantes (> a 200 nt.) involucrados en la regulación de la expresión génica a distintos niveles. Nuestro objetivo es caracterizar los ARNlnc obtenidos de dos genotecas de ADNc de espigas de trigo candeal inoculadas con *Fusarium graminearum* de la variedad susceptible Langdon y de la línea resistente Langdon(Dic-3A)10, a 72 hs post-inoculación. Las lecturas generadas por tecnología Illumina fueron mapeadas en el genoma de referencia de trigo candeal, cv. Svevo, que cuenta con anotación disponible. Además, se utilizaron las herramientas CPC (*Coding Potential Calculator*) y AUGUSTUS como predictores de ARNnc y MiRBase para precursores de microARNs. En total se identificaron 76.296 genes expresados, de los cuales 921 fueron diferenciales entre genotipos ( $\text{FDR} \leq 0,05$ ;  $\log\text{FC} \geq |2|$ ); se encontraron 1530 ARNlnc y 22 de ellos mostraron expresión diferencial ( $\text{FDR} \leq 0,05$ ;  $\log\text{FC} \geq |2|$ ), 10 estaban inducidos en el genotipo resistente y 12 en el susceptible. La longitud promedio fue de 277 nucleótidos y se distribuyeron en todos los cromosomas excepto en 3B, 6A y 7B. Se observó que el 81% se localizó en regiones intergénicas, mientras que los restantes resultaron intrónicos (2 antisentido y 2 sentido). Dos ARNlnc intergénicos resultaron precursores de microARNs. Continuamos con la identificación de los mecanismos de regulación en los que intervienen y sus genes *target*. Los RNAlnc con expresión diferencial identificados podrían ser reguladores potencialmente responsables de las diferencias en resistencia a *Fusarium* entre Langdon y Langdon(Dic-3A)10.

## OBTENCIÓN DE PLANTAS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) Y MAÍZ (*Zea mays* L.) CON EXPRESIÓN CONSTITUTIVA DE VARIANTES DE CAS9

Auteri M.<sup>1</sup>, P. Faccio<sup>1</sup>, A. Beznec<sup>1</sup>, E. Bossio<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Genética "Ewald A. Favret", CICVyA, INTA Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. auteri.micol@inta.gob.ar

El trigo y el maíz son dos de los cultivos base de la dieta mundial, tanto para alimentación humana como animal. Por ello, son foco constante de mejoramiento y en ciertos casos sumando a la biotecnología moderna. Para poder acompañar a la dinámica de las demandas del sector productivo, especialmente aquellas de tipo espontáneas, resulta fundamental disponer de metodologías ágiles que permitan aplicar herramientas biotecnológicas. Particularmente para edición génica, el tamaño de los vectores de expresión es una de las limitantes que atentan contra la eficiencia de regeneración de plantas editadas. Este trabajo se propone obtener genotipos de trigo y de maíz que expresen dos variantes de la endonucleasa Cas9, principal enzima del sistema de edición génica basado en CRISPR. Estas plantas serán utilizadas como base para editar secuencias de interés agropecuario, y para validar funcionalidad de genes. Asimismo, esta metodología de trabajo propone utilizar *speed breeding* para eliminar rápidamente la maquinaria incorporada para realizar la edición. A través del método *Particle Inflow Gum* aplicado sobre explantes del genotipo Bw56 de trigo y Hi II de maíz generaron plantas con las unidades transcripcionales que expresarán de forma independiente a la enzima TaCas9 o a la enzima TaCas9\_dead. Estas plantas serán posteriormente re-transformadas o cruzadas con plantas que expresen las guías necesarias para realizar las ediciones específicas. Actualmente, se están caracterizando molecularmente las plantas de trigo y de maíz que contienen las diferentes variantes de la Cas9.

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE EVENTOS DE TRIGO GENÉTICAMENTE MODIFICADOS A TRAVÉS DE SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN

Garibotto M.D.B<sup>1</sup>, P. Vera<sup>2</sup>, M. Muñoz<sup>2</sup>, A. Beznec<sup>1</sup>, H. Carignano<sup>1</sup>, A. Puebla<sup>2</sup>, A.E. Bossio<sup>1</sup>. <sup>1</sup>IGEAF, CICVyA, INTA Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>IB-IABIMO, CICVyA, INTA Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. garibotto.belen@inta.gob.ar

En la actualidad, la caracterización molecular de las inserciones en eventos transgénicos suele realizarse por *Southern Blot* o a través de secuenciación de genoma. Ambas técnicas resultan dificultosas al analizar grandes poblaciones de una especie con genoma complejo, como es el trigo pan. Para intentar simplificar este proceso, en este trabajo se plantea poner a punto una técnica de Enriquecimiento de una secuencia blanco, seguido de Secuenciación de Nueva Generación, con el fin de identificar las secuencias flanqueantes a las inserciones en eventos transgénicos de trigo pan. La técnica implementada utiliza sondas biotiniladas preparadas a partir de un vector de transformación específico. Estas sondas se utilizaron para la captura y enriquecimiento de las regiones de interés de una biblioteca ADN genómico que fue preparada utilizando un genotipo transgénico de trigo. La biblioteca enriquecida fue secuenciada por secuenciación masiva. Mediante el análisis de las secuencias apareadas obtenidas, altamente enriquecidas en secuencias de interés, se busca encontrar pares discordantes, "*junction sequences*" y/o la combinación de ambas condiciones. Actualmente se encontraron diferentes combinaciones de inserciones en los cromosomas analizados. En este trabajo se plantea obtener información detallada tanto a nivel molecular como a nivel de secuencia, para el *screening* y selección de eventos transgénicos. Este análisis proveerá información sobre las zonas flanqueantes para el diseño de oligonucleótidos específicos, el número de inserciones y su ubicación dentro del genoma.

## EXPRESIÓN GÉNICA PARA PROTEÍNAS CHAPERONAS DURANTE LA MADUREZ DEL FRUTO DE TOMATE EN UN GENOTIPO MODELO (*Solanum lycopersicum* CV. MICRO-TOM)

Goytia Bertero V.<sup>1</sup>, G. Pratta<sup>2</sup>, D.P. Arce<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CIT San Nicolás, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>2</sup>CONICET, Centro Científico Tecnológico Rosario, Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina. valengoytia19@gmail.com

Las *Heat shock proteins* (HSP, proteínas de choque térmico) son chaperonas caracterizadas en diferentes organismos que, junto a interactores como DNAj y sus factores de transcripción (HSF), se expresan diferencialmente frente a situaciones de estrés abiótico. En tomate, nuestro grupo encontró 33 pequeñas HSP (sHSP, una subfamilia dentro de las HSP) expresadas diferencialmente en el nivel transcriptómico en los estados de madurez (EM) verde maduro (MG), pintón (Br) y rojo (R). En consecuencia, nuestro objetivo fue analizar la expresión génica de las HSP y sus interactores y HSF en el nivel proteómico en los EM anteriores más el verde inmaduro (IG) y el naranja (Or). Se trabajó con datos disponibles en bases públicas y generados por nanoUPLC-MS/MS en los tejidos epicarpio (Ep) y mesocarpio (Me) de frutos del cv. Micro-Tom. La expresión génica se cuantificó y comparó siguiendo métodos bioinformáticos estándares, obteniendo un perfil diferencial (PD) entre EM para Ep y Me. sHSP y DNAj mostraron PD entre todos los EM en Ep y Me, excepto entre OR-BR. Particularmente, se detectaron PD para 17 y 12 (de un total de 33) sHSPs entre RR-IG y RR-MG, respectivamente. HSP70 solo tuvo PD entre OR-BR en Ep y entre RR-IG y RR-MG en Me, y HSP90, solo entre RR-OR en Me. No se identificaron los miembros HSP60 y HSP100, y se encontraron HSF con PD entre todos los EM en Ep y Me, excepto entre RR-OR. Los PD detectados entre EM y entre Ep y Me en el genotipo modelo Micro-Tom indican cambios en la expresión génica en el nivel proteómico para la red de chaperonas durante la madurez del fruto de tomate.

## ENSAMBLADO DE NOVO DEL TRANSCRIPTOMA EN TRES ESTADOS DE MADUREZ DEL FRUTO DE LA ACCESIÓN SILVESTRE DE TOMATE *Solanum pimpinellifolium* LA0722

Cacchiarelli P.<sup>1</sup>, E. Tapia<sup>2</sup>, G. Pratta<sup>3</sup>. <sup>1</sup>CIFASIS-IICAR (CONICET-UNR). <sup>2</sup>CIFASIS-FCEIA (CONICET-UNR). <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Centro Científico Tecnológico Rosario, Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina. paocacchiarelli@gmail.com

La disponibilidad de solo un genoma de referencia para la mayoría de los cultivos limita el estudio de la expresión génica en especies silvestres comúnmente empleadas como recursos fitogenéticos. El objetivo fue ensamblar un transcriptoma *de novo* consenso en los estados verde maduro, pintón y maduro de LA0722 a través del uso de diferentes herramientas bioinformáticas. El ARN total de frutos se extrajo con kit comercial con tres réplicas biológicas y se secuenció en laboratorio tercerizado. La calidad de las *reads* obtenidas se chequeó con el software FASTQ. Luego, previo al ensamblado, se realizó su limpieza con las herramientas rCorrector, trimmomatic y SortMeRNA. Las réplicas de cada estado de madurez se agruparon con los ensambladores *de novo* Trinity y SPAdes y la calidad del ensamblado se chequeó con el software BUSCO. En la etapa de limpieza, se descartó entre el 5,59% y el 37,87% de las *reads* en las librerías obtenidas. En total, para cada estado de madurez se obtuvieron 6 ensamblados completos, 3 con el uso de Trinity y 3 con SPAdes. El chequeo de los ensamblajes con BUSCO mostró variabilidad en los transcriptomas, con mayor y menor cobertura frente a *clusters* de genes del clado de las Solanáceas ya preestablecidos en este software. Esta cobertura varió entre 4,7% a 5,1% para aquellos ensamblados con SPAdes, y de 73,1% a 83,1% para Trinity. Se concluye que este último representa el mejor ensamblado *de novo* para emplear como recurso bioinformático de cobertura y calidad requeridas.

## EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON EL TRANSPORTE DE SODIO EN DOS GENOTIPOS DE *Lotus tenuis* CON COMPORTAMIENTO CONTRASTANTE FRENTE A LA SALINIDAD

Affinito M.A.<sup>1</sup>, V. Decker<sup>2</sup>, S. Yanigro<sup>2</sup>, A. Andrés<sup>3</sup>, A. Díaz Paleo<sup>2</sup>. <sup>1</sup>CITNOBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>EEA Pergamino, INTA, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. [affinito.agostina@inta.gob.ar](mailto:affinito.agostina@inta.gob.ar)

Los transportadores de membrana que excluyen o compartimentalizan sodio son de interés para la mejora de la tolerancia a salinidad de los cultivos. Entre ellos, *NHX1*, responsable del secuestro de Na<sup>+</sup> en vacuolas; *SOS1*, que lo excluye de las células; y *HKT1*, que permite su descarga del xilema. *Lotus tenuis* es una leguminosa forrajera cuyos mecanismos de tolerancia a la salinidad no se conocen completamente. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del NaCl sobre la expresión relativa de *NHX1*, *SOS1* y *HKT1* y el contenido de Na<sup>+</sup> en un genotipo de *L. tenuis* tolerante a la salinidad y uno susceptible. Se aplicaron cuatro tratamientos en un DCA: 0, 100, 200 y 300 mM NaCl. A las 48, 72 y 96 horas se midió el contenido de Na<sup>+</sup> en raíz y hoja por fotometría de llama, y se estudió la expresión transcripcional de los genes mediante RT-qPCR, con el gen *SEC5A* del complejo exocitosis como referencia. Se aplicó ANOVA y el método ddCT para los datos de expresión génica. El NaCl incrementó los niveles de Na<sup>+</sup> respecto al control en los dos genotipos: en raíz en mayor medida en el tolerante, y en hoja en el susceptible. Además, el genotipo tolerante aumentó la expresión de *NHX1*, *SOS1* y *HKT1* en raíz y hoja, mientras que el susceptible solo aumentó la expresión de *NHX1* en hoja. Los resultados podrían indicar una exclusión de Na<sup>+</sup> más eficiente y un mayor secuestro del mismo en las vacuolas de la raíz en el genotipo tolerante, reduciendo la toxicidad en la parte aérea. La actividad de *NHX1* en hoja resulta menos eficiente para la tolerancia que las respuestas en raíz.

## NEWS ON THE HYBRID ORIGIN OF *Paspalum minus* E. FOURN

Perichon M.C.<sup>1</sup>, A.V. Reutemann<sup>2</sup>, J.R. Daviña<sup>1</sup>, E.J. Martínez<sup>2</sup>, G.H. Rúa<sup>3</sup>, A.I. Honfi<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Biología Subtropical nodo Posadas, Universidad Nacional de Misiones-CONICET, Misiones, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Botánica del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. [constanzaperichon@gmail.com](mailto:constanzaperichon@gmail.com)

*Paspalum minus* is a polyploid species of the group Notata with a pentaploid cytotype ( $5n=50$ ). It has forage potential and reproduces through diplosporous and aposporous apomixis with pseudogamy. Based on phylogenetic and meiotic-behavior studies, *P. minus* was hypothesized to be an allopolyploid, included within the core Notata. The conserved ortholog set of nuclear markers are single or low copy in both genomes at diploid level and their sequences remained relatively stable evolutionary. To elucidate phylogenetic relationships among 26 accessions belonging to 17 species from the Notata and sister groups, we sequenced the low copy nuclear gene, *AroB*. Sequences were processed by Geneious Prime and maximum likelihood trees were obtained using MEGAX software. Sequences of *AroB* gene indicate the presence of 4 and 5 alleles in *P. minus* accessions (R1180 & V15484). Analyses started with a data matrix containing only diploid species, upon which the polyploids were added one by one to establish the relationships among the species. Our results suggest, with a high bootstrap support (98%), that *P. pumilum* and *P. notatum*(2x) are putative diploid species involved in the origin of *P. minus*, and *P. subciliatum* (3x) is another putative donor of one genome.

## PREDICCIÓN DE PROTEÍNAS DE RESISTENCIA (R) A TRAVÉS DE UN ENFOQUE DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO

Simón D.<sup>1</sup>, O. Borsani<sup>2</sup>, C.V. Filippi<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. <sup>2</sup>Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay. dsimon@fcien.edu.uy

Las proteínas R están involucradas en el reconocimiento específico de efectores patogénicos durante el proceso de infección, y en el desarrollo de la respuesta defensiva en plantas. Su predicción en base a similitud de secuencia y dominios es un desafío, dada su naturaleza repetitiva, alto nivel de diversidad e historia evolutiva compleja. Aquí presentamos una estrategia basada en *random forest* (RF) para la predicción de proteínas R. Un conjunto de 500 proteínas R disponible en bibliografía, fue usado como set positivo (P). En paralelo, a partir del proteoma de 6 especies (*Arabidopsis*, arroz, cebada, tomate, trigo y soja) y, luego de eliminar secuencias redundantes y con dominios asociados a proteínas R, se generaron 10 sets de 5000 proteínas. Dentro de cada uno de estos, se hicieron 10 muestreos anidados para generar en total 100 sets de datos negativos (N), conteniendo entre 500-5000 proteínas (relación 1:1 a 1:10 P:N). Por cada secuencia se obtuvieron 9630 descriptores (frecuencia de aminoácidos, di y tripéptidos, carga, hidrofobicidad, autocorrelaciones, entre otros) para incluir en el RF. El desempeño (%) de los modelos fue evaluado usando una partición 80/20 (entrenamiento/prueba) con validación cruzada (10 particiones): exactitud  $93 \pm 2$  vs.  $98 \pm 0,5$ , F1-Score  $93 \pm 2$  vs.  $87 \pm 3$ , sensibilidad  $90 \pm 3$  vs.  $79 \pm 5$  y precisión  $96 \pm 2$  vs.  $98 \pm 2$ , para relaciones P:N 1:1 y 1:10, respectivamente. Esta es una estrategia robusta y computacionalmente eficiente para la anotación de proteínas R en plantas, que complementa los métodos de estado del arte basados en similitud de secuencia y dominios.

## COMPARACIÓN DE ALGORITMOS DE AGRUPAMIENTO EN DATOS GENÓMICOS

Videla M.E.<sup>1</sup>, C. Bruno<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET). <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. eugenividela12@gmail.com

La búsqueda de estructura genética poblacional en una colección de datos de alta dimensión, como las generadas por los marcadores moleculares de tipo SNP, implica un incremento en la complejidad del manejo de las mismas. Diferentes métodos multivariados para identificar grupos de individuos permiten abordar la alta dimensionalidad. El objetivo de este trabajo es comparar tres métodos de agrupamiento: jerárquico (UPGMA), no jerárquico (k-means) y bayesiano (Structure) y cuatro índices de selección de número óptimo de grupo: conectividad, Dunn, Ch y silueta, sobre datos moleculares. Se ilustra la implementación sobre una base de datos pública de maíz que cuenta con 942 líneas genotipadas mediante 899784 marcadores SNPs, donde se identificaron 11 conglomerados o sub-poblaciones clasificadas con el software Admixture 1.23 que verificaron desde el conocimiento biológico de investigaciones genéticas en maíz (“gold estándar”). En este trabajo se estimó la tasa de error de clasificación de los tres métodos de agrupamiento y los cuatro índices, colocando en los métodos distintos números de grupos desde  $k=2$  hasta  $k=15$ . El método bayesiano mostró mejor desempeño para clasificar los genotipos con una tasa de error del 18%, mientras que UPGMA fue el método que más errores presentó en el agrupamiento de los individuos (58%). Ningún índice evaluado sobre el conjunto de datos de ilustración indicó el número de subpoblaciones “gold estándar”. Sin embargo, Dunn fue el único índice en mostrar un coeficiente máximo relativo para  $k=11$  con el método bayesiano.