

GGM

**GENÓMICA
Y GENÉTICA
MOLECULAR**

**GENOMICS
AND MOLECULAR
GENETICS**

GGM 1**TROMBOFILIA HEREDITARIA: MUTACIONES Y FRECUENCIA POBLACIONAL EN PARAGUAY**

Bogado Villalba L., R. López, I.B. Otazu, R. Henning, X. Ortiz.
Laboratorio Díaz Gill, Laboratorio de Genética Clínica,
Departamento de Genética Molecular, Asunción, Paraguay.
E-mail: lizbog09@gmail.com

La trombofilia hereditaria es una condición clínica que genéticamente predispone al desarrollo de trombosis, lo cual es un problema de salud pública de gran trascendencia; en este contexto, nos hemos propuesto como objetivo determinar la frecuencia y el grado de homocigosis de las mutaciones asociadas a la trombofilia hereditaria. Se realizó un estudio retrospectivo de corte transversal con los registros de los pacientes que acudieron al laboratorio Díaz Gill en los últimos cinco años para determinar las mutaciones en el factor V Leiden G1691A, factor II G20210A, MTHFR C677T y A1298C, al igual que en PAI-1-675 4G. El análisis de estas mutaciones fue solicitado con mayor frecuencia en pacientes con antecedentes de abortos a repetición (36,6%), seguido de aquellos con trombosis (22,9%), gestantes (16,6%) y con accidente cerebrovascular (8,9%). Se observó mayor predominancia de las mutaciones MTHFR C677T y PAI-1-675 4G en igual proporción (36%). Las pacientes con antecedentes de abortos a repetición presentaron un mayor grado de homocigosis, principalmente en MTHFR C677T (14%); sin embargo, en los pacientes con sospecha de trombosis y en las gestantes el mayor grado de homocigosis en PAI-1 675 5G/4G fue, respectivamente, 9,3% y 10,5%. Se obtuvo un mayor porcentaje de mutaciones en los genes de FVL G1691A y FII G20210A en un 7% y 8,1% respectivamente en pacientes con diagnóstico de sospecha de trombosis. El conocimiento de las principales mutaciones asociadas a la trombofilia hereditaria observadas podría ser de utilidad para tomar medidas en la concienciación y realización de estos estudios en la población susceptible a padecer trombosis para un diagnóstico precoz y oportuno.

GGM 2**ANÁLISIS BIOMÉDICO DE VARIANTES GENÉTICAS VUS EN GENES MMR (GENES DE REPARACIÓN DEL ADN)**

Brizuela Sánchez M.B., M.D. Gamarra. Instituto de Genética Humana de Misiones (IGeHM), Hospital Dr. Madariaga (Servicio de Genética), Misiones, Argentina. E-mail: belenbrizuelasanchez@gmail.com

Los genes de reparación MMR (del inglés *MisMatch Repair*), como *msh2*, *msh3*, *msh6* y *pole*, son fundamentales en la reparación de errores producidos en la replicación del ADN. Su pérdida de función incrementa la tasa de mutaciones de genes reguladores conduciendo a una supervivencia de la célula dañada que da como resultado la carcinogénesis, así como la resistencia de estas células a la quimioterapia. Presentamos aquí un reporte de casos de pacientes con cáncer a los cuales se les realizó un estudio genómico de panel de genes de cáncer por NGS a partir de sangre periférica con EDTA. Se detectaron variantes *missenses* (cambio de aminoácido) en diferentes genes MMR que fueron clasificadas como *VUS* (variante de significado incierto) ya que no se ha podido confirmar su impacto en el desarrollo de la enfermedad. Se realizó un análisis utilizando herramientas bioinformáticas, bases de datos y textos científicos, se analizaron las estructuras de las proteínas MMR tratándose de predecir el impacto de estas *VUS* en su función. Las *VUS* fueron halladas en regiones críticas para la función de cada proteína; el cambio de aminoácido podría producir desestabilización de estructuras secundarias por cambio de polaridad afectando sitios de interacción proteína-proteína dando lugar a patologías. Este análisis contribuyó al asesoramiento genético de los pacientes y sus familias, y a adecuar la vigilancia de posibles tumores relacionados con dichas mutaciones. Se sugiere que las variantes identificadas sean objeto de investigación con el propósito de dilucidar su relevancia y poder recategorizarlas.

GGM 3

HAPLOTIPOS DEL GEN *PIK3CA* ASOCIADOS AL CÁNCER DE MAMA ESPORÁDICO EN LA PROVINCIA DE MISIONES

Acosta K.B.^{1,2}, M.S. Esnarriaga¹, D.A. Rivero^{1,2}, J.L. Tomsich¹, M.B. Mascheroni³, P.D. Zapata^{1,2}. ¹Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (InBioMis), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina; ³PREDIGMA Centro de Medicina Preventiva, Posadas, Misiones, Argentina. E-mail: acostakb@fceqyn.unam.edu.ar

Los exones 9 y 20 del gen *PIK3CA* presentan mutaciones que resultan en formas oncogénicas de p110 α con actividad quinasa elevada que promueve la proliferación e invasión de las células cancerígenas. El objetivo del trabajo fue determinar los haplotipos formados por las mutaciones *hotspots* g.74772G>A, g.74781G>A (exón 9) y g.90775A>G/T (exón 20) del gen *PIK3CA* en relación al riesgo de desarrollar cáncer de mama esporádico. Se genotipificaron un total de 85 casos y 125 controles mediante la técnica de RFLP-PCR para las variantes g.74772G>A y g.74781G>A y por secuenciación directa para la variante g.90775A>G/T. El análisis de haplotipos se realizó mediante el programa SNPStats. Las diferencias en frecuencias genotípicas, alélicas y de haplotipos entre los grupos analizados fueron estimadas con la prueba de χ^2 . La asociación con el riesgo de cáncer de mama se representó mediante el *Odds ratio* (OR) e intervalos de confianza de 95%. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Los resultados mostraron que el haplotipo más frecuente para las tres variantes (GGA) de *PIK3CA* representó casi el 90% de los casos y controles. El haplotipo (GGK) con las variantes G o T en la posición g.90775A del gen *PIK3CA*, mostró una asociación significativa con el riesgo de desarrollar cáncer de mama esporádico [OR=18,98 IC95% 2,29-157,39; $p=0,0069$], sugiriendo que la mutación que provoca la sustitución de histidina por arginina o leucina en la posición 1.047 de la secuencia aminoacídica tendría un impacto considerable en el fenotipo carcinogénico.

GGM 4

EXPRESIÓN DE LOS GENES *PI3K* Y *PTEN* EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y CÁNCER

Tomsich J.L., D.A. Rivero, P. Benegas, M. Formichela, B. Mascheroni, E. Méndez, P.D. Zapata, C. Ferri. FCEQYN, UNaM, InBioMis, BioTecMol, Misiones, Argentina. E-mail: jacquelinetomsich.jt@gmail.com

La diabetes mellitus tipo 2, se asocia con un mayor riesgo a desarrollar algunos tipos de cáncer; si bien las razones no están aún esclarecidas, podría deberse al estado hiperglucémico, a la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina, entre otros factores de riesgo. El objetivo fue establecer el nivel de expresión de *PTEN* y *PI3K* en pacientes con diabetes y pacientes con diabetes y cáncer. La expresión génica se determinó mediante la cuantificación relativa de los transcritos de *PTEN* y *PI3K* por medio de PCR en tiempo real, a partir de ARN de sangre periférica extraído con EDTA. Los participantes del estudio fueron clasificados en tres grupos; individuos controles (IC), pacientes con diabetes (DBT) y pacientes con diabetes y cáncer (DBC). Los valores fueron analizados con el programa GraphPad. El análisis estadístico ANOVA, demostró que no existe diferencia significativa para la expresión de *PI3K* entre los grupos analizados ($p=0,7019$), mientras que la expresión de *PTEN*, presentó diferencia significativa ($p < 0,0001$). La diferencia estadística significativa se observó en el grupo de DBT respecto a los IC ($p < 0,0001$) y DBC ($p < 0,0001$). No se observó diferencia estadística significativa entre los grupos IC y DBC ($p=0,9709$). En el grupo de DBT el 47% de los casos analizados presentó una sobreexpresión de *PTEN*. Poder determinar el nivel de expresión de dos de los principales actores en la vía de señalización de la insulina, como los son *PI3K* y *PTEN*, podría contribuir a establecer las bases moleculares por las cuales la diabetes presenta un mayor riesgo al desarrollo de cáncer.

GGM 5**CARACTERIZACIÓN FILOGENÉTICA DEL VIRUS SARS-COV-2 EN EL NORESTE ARGENTINO**

Vera Candia G.A.¹, I. Badano^{1,2}, M.J. Pereson^{2,3}, F.A. Di Lello^{2,3}.

¹Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (FCEQyN), Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Argentina; ³Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. Email: fadilello@gmail.com

La epidemiología molecular de SARS-CoV-2 en el noreste argentino (NEA) es escasa. El objetivo del trabajo fue la caracterización filogenética de SARS-CoV-2 en el NEA, para describir la circulación de linajes y su probable origen geográfico. Se utilizaron 149 genomas completos disponibles en GISAID para el NEA al 14/8/2021 y depositados por el Consorcio PAIS. Para cada uno de ellos se incluyeron secuencias con el mejor score de alineamiento por BLAST, seleccionadas de provincias y países limítrofes y con co-circulación temporal (n=2007). Los alineamientos se realizaron en MAFFT v.7 y los modelos evolutivos se seleccionaron con ModelFinder de acuerdo con criterio de Información Bayesiano. Los árboles se construyeron por Máxima verosimilitud en IQ-TREE v1.6.12 (Ultrafast bootstrap 10.000 réplicas). Se identificaron cinco variantes y 15 linajes: Épsilon (B.1.427), Zeta (P.7), Alpha (B.1.1.7), Lambda (C.37), Gamma (P.1, P.1.2), B.1, B.1.247, B.1.499, B.1.1.28, B.1.1.33, B.1.1.348, B.1.1.519, N.5, P.2. Los linajes B.1 y B.1.499 predominaron durante la primera ola de contagios, mientras que, P.1 y N.5 lo hicieron durante la segunda ola. Respecto al origen y dispersión, se identificaron tres patrones principales: 1) local: B.1 en Chaco; 2) regional: N.5 para la Argentina; 3) internacional: P.1 en Misiones y Formosa, donde se identificó un marcado componente de muestras de Brasil y Paraguay que podrían ser atribuidos a los pasos internacionales de estas provincias. Los patrones descriptos presentaron correlación con los datos epidemiológicos disponibles.

GGM 6**LA CARGA NEOANTIGÉNICA TUMORAL DEFINIDA POR AFINIDAD AL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD I NO ES UN MEJOR BIOMARCADOR EN INMUNOTERAPIA**

Nibeyro G.¹, V. Baronetto¹, L. Prato², H. Lujan^{1,3}, G. Morón^{4,5}, E.A. Fernández^{1,6,7}. ¹Centro de Investigación y Desarrollo en Inmunología y Enfermedades Infecciosas, CONICET, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina; ²Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Villa María, Córdoba, Argentina; ³Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina; ⁴Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina; ⁵Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología, CONICET, Córdoba, Argentina; ⁶Facultad de Ingeniería, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina; ⁷Facultad de Ingeniería, FCEfyN Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. E-mail: gnibeyro@cidie.ucc.edu.ar

La inmunoterapia (ICB) revolucionó el tratamiento del cáncer, y los antígenos tumor-específicos resultan críticos al ser reconocidos por linfocitos T (LT). Bajo el supuesto de que una mayor carga mutacional del tumor o TMB, genera más cantidad de neoantígenos inmunogénicos, es que el TMB se ha definido como biomarcador de respuesta a ICB. Las técnicas de secuenciación masiva permiten escanear el genoma en busca de dichas mutaciones. Para ser identificado por LT un neopéptido debe ser presentado en la superficie celular, por ello se han utilizado predictores de afinidad de unión neopéptido-complejo mayor de histocompatibilidad I (CMH-I) para definir la carga neoantigénica tumoral (TNB) como un potencial mejor biomarcador. Creando una nueva base de datos de neoantígenos con inmunogenicidad validada experimentalmente, se evaluó la capacidad de dichos predictores en la identificación de neoantígenos inmunogénicos. Los resultados muestran que estos predictores no permiten identificar inmunogenicidad y que el TNB no es un biomarcador superador del TMB; además, al aplicarlos sobre los péptidos salvajes (WT) que originan los neoantígenos, también se asociaron a respuesta a ICB. Esto sugiere que los WT pueden ser presentados por el CMH-I y acarrear un potencial inmunogénico que se dispara con una mutación en su secuencia de aminoácidos. Avanzar en una predicción precisa de neoantígenos inmunogénicos resulta de gran interés no solo para la construcción de mejores biomarcadores sino para el desarrollo costo-efectivo de nuevas terapias paciente específicas.

GGM 7**DETECCIÓN DE LA ESPECIE DE ORIGEN EN PRODUCTOS CÁRNICOS Y HEPARINA MEDIANTE PCR ESPECIE ESPECÍFICO PARA EL GEN *CYTB***

Posik D.M., M.C. Bruno, N.S. Castillo, P.M. Gómez, P. Peral García, G. Giovambattista. IGEVET (FCV-UNLP-CONICET), Buenos Aires, Argentina. E-mail: diego.posik@gmail.com

La identificación de las especies de origen de muestras biológicas, tales como alimentos y productos farmacéuticos, es requerida por legislaciones nacionales e internacionales debido a cuestiones sanitarias, religiosas y económicas. El objetivo de presente trabajo consistió en detectar la especie de origen en productos cárnicos y heparina. El ADN total se purificó a partir de 29 muestras de carne, 74 hamburguesas y 230 heparinas mediante extracción orgánica y kits comerciales según el tipo de muestra. El ADN obtenido fue analizado mediante PCR utilizando *primers* especie-específicos del gen *CYTB* para bovinos, ovinos, caprinos, porcinos, búfalos y pollo. La especificidad y sensibilidad del método se evaluó con ADNs de origen conocido. Los resultados obtenidos permitieron confirmar la especificidad de los *primers* utilizados y estimar una sensibilidad de al menos 10 pg de ADN de la especie problema. El análisis de las muestras comerciales posibilitó la identificación de ADN de especies no declaradas en el etiquetado en el 12,9% de los casos. En conclusión, la metodología utilizada resultó ser de utilidad para la detección de contaminaciones o adulteraciones en la certificación de origen de este tipo de productos.

GGM 8**ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL DE LLAMAS DEL NOA**

Anello M.¹, M. Muzzio^{1,2}, M.S. Daverio^{1,3}, M.B. Silbestro¹, L. Vidal Rioja¹, S.R. Romero⁴, F. Rigalt⁵, F. Di Rocco¹. ¹Laboratorio de Genética Molecular, Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), CONICET-UNLP-CIC, La Plata, Buenos Aires, Argentina; ²Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina; ³Cátedra de Biología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina; ⁴Instituto de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Agricultura Familiar, Región NOA (IPAF-NOA)-INTA, Maimará, Jujuy, Argentina; ⁵Estación Experimental Agropecuaria Catamarca-INTA, Sumalao, Valle Viejo, Catamarca, Argentina. E-mail: melianello@gmail.com

La llama (*Lama glama*) es una especie autóctona de importancia económica y sociocultural para las poblaciones puneñas del noroeste argentino (NOA). Las prácticas de manejo, debido a deficiencias estructurales de las familias ganaderas, resultan en muchos casos con altos niveles de endogamia y baja productividad. En consecuencia, en este trabajo estudiamos la diversidad genética y la estructura poblacional actual de llamas del NOA. Para ello se genotipificaron mediante la técnica de GBS 74 muestras de ADN de llamas de seis sitios diferentes de Jujuy y Catamarca. Las secuencias se analizaron siguiendo el flujo de trabajo TASSEL 5.0v2 y usando el genoma de *Camelus ferus* (BCGSAC_Cfer_1.0) como referencia. Para estudiar la diversidad y la estructura genética se empleó R y los *softwares* PLINK y ADMIXTURE. Luego de los filtrados de calidad, se obtuvieron 9455 SNPs, quedando 65 muestras y un promedio de 249 marcadores por cromosoma. La diversidad genética dentro de las poblaciones fue moderada, con valores de H_o (0,24-0,33) y H_e (0,24-0,30) comparables a los de otras especies domésticas. Los F_{is} promedio fueron positivos aunque bajos, excepto para la población de Laguna Blanca (Catamarca) donde alcanzó un valor de 0,11 evidenciando cierto grado de consanguinidad. Las poblaciones de ambas provincias se diferenciaron genéticamente entre sí y, a su vez, hubo diferenciación dentro de Jujuy pero no así en Catamarca. Concluimos que el panel de SNPs obtenido es útil para estudios de diversidad y poblacionales, aportando información aplicable a la conservación y manejo sustentable de la llama.

GGM 9**UTILIZACIÓN DE PCR PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Stenocarpella* spp., HONGO CAUSANTE DE DIPLODIOSIS EN EL GANADO**

Poo J.I., M. Gerpe, I. Erregerena, M.J. Orofino, F.N. Urtizbiria, F. Fiorani, F. Liss Zchonski, L. Pilati, P.R. Da-Silva. EEA INTA Balcarce, Buenos Aires. Argentina. E-mail: poo.juan@inta.gob.ar

La diplodiosis es una enfermedad del ganado bovino y ovino causada por *Stenocarpella* spp. El diagnóstico de la enfermedad se realiza analizando los síntomas en animales enfermos e identificando el hongo en los alimentos. El tiempo que demora el cultivo del hongo, dificulta tomar una decisión rápida en casos a campo. El objetivo de este trabajo fue utilizar técnicas moleculares para identificar la presencia de *S. maydis* y *S. macrospora* en rastrojo de maíz. En Argentina, se documentaron cinco brotes de diplodiosis entre 2008 y 2018. Para la detección por PCR se utilizaron *primers* específicos para *S. maydis* y *S. macrospora* reportados en la literatura. En la evaluación de los animales enfermos se identificaron síntomas de neuromicotoxicosis y una tasa de mortalidad del 33,33%. La identificación molecular de *S. macrospora* fue negativa en seis muestras y no concluyentes en una, lo que impide sacar conclusiones sobre su presencia en Argentina. *S. maydis* se identificó en cinco de las seis muestras de rastrojo de maíz consumidas por animales, lo que demuestra que este hongo es probablemente el responsable de los brotes de la enfermedad en Argentina. Para confirmar esto, el análisis morfológico identificó la presencia de *S. maydis* en todas las muestras de residuos de maíz. Se puede concluir que la prueba de PCR directa es una estrategia eficiente para identificar alimentos potencialmente contaminados por *S. maydis*, siendo una buena estrategia para prevenir la aparición de diplodiosis.

GGM 10**DESARROLLO DE PCR MULTIPLEX PARA DETERMINACIÓN GENÉTICA DEL SEXO EN TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)**

Aguila F.E., E.S. Gesto, P. De Carli. CIT Santa Cruz CONICET-UNPA-UTN, ICASUR-UARG-UNPA, Santa Cruz, Argentina. E-mail: faguila@uarg.unpa.edu.ar

En trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) se ha reportado un mayor rendimiento cárnico en lotes de producción constituidos sólo por hembras. Mediante tratamiento hormonal de reversión sexual es posible obtener neomachos a partir de los cuales producir lotes monosexo. Para desarrollar este sistema productivo resulta de interés disponer de protocolos para la identificación temprana del sexo, tanto para descarte de machos (XY) como certificación de lotes para su comercialización. En bibliografía se reportan protocolos de PCR para segmentos de cromosoma Y, en los cuales la ausencia de amplicón puede deberse a que el individuo es hembra o a un error de PCR. Por ello, otros autores han desarrollado protocolos de PCR multiplex, pero los amplificadores no resultan de fácil identificación en un gel de agarosa al 1%. En este trabajo se propone un protocolo de PCR multiplex utilizando los *primers* 18S y OmyY1, para diferenciar rápidamente el sexo genotípico de *O. mykiss*. La extracción de ADN se realizó a partir de tejido de aleta de individuos sexualmente maduros de la Estación Municipal de Piscicultura Isla Pavón. Luego de optimizar las condiciones de PCR (tiempo de reacción, gradiente de temperatura, concentraciones de *primers*, MgCl₂ y dNTPs) se obtuvieron dos amplificadores en los machos, uno de 370 bp (18S) y otro de 792 bp (OmyY1). La secuencia del fragmento amplificado de 792 bp presenta una complementariedad específica del 100% con los *primers* OmyY1. Estos resultados permitieron desarrollar un protocolo económico y rápido para la determinación genotípica del sexo en trucha arco iris.

GGM 11

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA REPRESENTADA EN LOS PRINCIPALES BANCOS DE GERMOPLASMA DEL MANÍ CULTIVADO DE ARGENTINA

Moreno E.M.S., F. De Blas, J. Soave, M.G. Baldessari, M.G. Balzarini, E. Mamani, O. Royo, C. Bruno, L. Pérez, G. Seijo. Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes, Argentina. E-mail: emsaramoreno@gmail.com

La producción e industrialización del maní presenta continuos retos que requieren el desarrollo de nuevas variedades resistentes a estreses bióticos y abióticos. Los bancos de germoplasma de maní son ricos en razas locales, pero aún están subutilizadas en el mejoramiento del cultivo debido, en parte, a la escasa información genética y su relación con la variación fenotípica disponible de las mismas. En este trabajo se realizó una caracterización genotípica exhaustiva de las tres colecciones de germoplasma del maní en Argentina (El Carmen, IBONE e INTA), con el fin de promover su uso en el desarrollo de nuevas variedades de maní. Se genotipificaron 389 accesiones con la plataforma de SNPs AxiomII 48K. Se identificaron 13.266 SNPs polimórficos de alta calidad, con los que se calcularon estadísticos descriptivos y se estimaron la relación genética y estructuración con métodos de distancia y agrupamiento bayesiano. La colección compuesta constituye una muestra genotípicamente diversa, aunque con representación dispar de los genotipos en cada colección individual. El conjunto mostró una clara estructuración, correspondiéndose el primer nivel con las diferentes variedades botánicas y el tipo de mercado. Pero, además, se evidencia una amplia diversidad y estructuración a nivel intravarietal, más marcada en las variedades *Arachis hypogaea* L. var. *hypogaea* y *A. hypogaea* var. *fastigiata* Krapov., con cinco y tres grupos, respectivamente. Estos resultados evidencian la complementariedad en diversidad de las colecciones y que su análisis en conjunto permitirá identificar los modelos de selección genómica más apropiados para el maní en Argentina.

GGM 12

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA FAMILIA DE GENES DOF EN EL GENOMA DE *Arachis hypogaea* L.

Samoluk S.S.^{1,2}, J.G. Seijo^{1,2}. ¹Instituto de Botánica del Nordeste (CONICET- UNNE), Corrientes, Argentina; ²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE), Corrientes, Argentina. E-mail: samocarp31@gmail.com

La familia de genes *Dof* codifica para un grupo de factores de transcripción específicos de plantas. Los estudios de estos genes en algunos cultivos agrónomicamente importantes han revelado que los mismos tienen un papel crucial en muchos procesos de desarrollo y de respuesta a diversos tipos de estrés. La reciente publicación de los genomas del maní y sus progenitores silvestres ha generado una gran oportunidad para realizar aproximaciones genómicas que pueden ayudar a comprender la regulación de muchos caracteres de interés para el mejoramiento del cultivo. El objetivo de este trabajo fue realizar una caracterización detallada de la estructura, organización, evolución y expresión de la familia de genes *Dof* en *Arachis hypogaea* (cultivar Tifrunner), mediante análisis bioinformáticos exhaustivos. Se detectaron un total de 61 genes distribuidos en las 20 pseudomoléculas del genoma. Diferentes eventos de duplicación segmentaria y en tándem contribuyeron a la expansión de esta familia génica. Aunque las proteínas encontradas fueron variables en longitud, peso molecular y punto isoeléctrico, todas presentaron un dominio altamente conservado de 52 residuos aminoacídicos correspondiente a una estructura de dedo de zinc, característico de estos factores de transcripción. El análisis filogenético reveló la existencia de diferentes grupos de secuencias con patrones particulares en la distribución de dominios proteicos, así como de las estructuras exónicas e intrónicas. En la región promotora se encontraron motivos reguladores asociados a procesos fisiológicos tales como la respuesta a hormonas, a la luz y al estrés. Los niveles de expresión de estos genes fueron variables en los diferentes tejidos y etapas de desarrollo de la planta. Los resultados obtenidos constituyen la base para los estudios funcionales adicionales de los genes *Dof* en el maní cultivado.

GGM 13

IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE GENES POTENCIALES DIANAS DE SILENCIAMIENTO MEDIANTE ARN DE INTERFERENCIA (ARNi) EN EL VECTOR DEL HLB, *Diaphorina citri* Kuwayama

Fioravante C.A., N.A. Macsemchuck, M.J. Blariza. GIGA-Grupo de Investigación de Genética Aplicada, Instituto de Biología Subtropical (IBS) UNaM-CONICET, Misiones, Argentina.

E-mail: agustinafioravante@gmail.com

El psílido asiático, *Diaphorina citri*, vector de la bacteria causante de la enfermedad “Huanglongbing” (HLB), constituye la principal amenaza para la industria citrícola en todo el mundo. Debido a que la enfermedad no tiene cura y que las plantas afectadas deben erradicarse produciendo importantes pérdidas económicas, resulta de interés iniciar en esta especie el estudio de genes vinculados a la reproducción a efectos de aportar bases para el desarrollo de nuevas estrategias de control. Con este propósito, se amplificaron y secuenciaron fragmentos de ADN copia (ADNc) de los genes *Vitelogenina A1 like* (*Vg A1 like*), *3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A sintasa (HMGS)* y *3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMGR)*. Se sintetizó ADNc a partir del ARN total extraído de un pool de hembras y machos adultos de *D. citri*. Se diseñaron cebadores específicos para amplificar, mediante PCR *end point*, fragmentos de los genes. Aquellos productos que revelaron banda única del tamaño esperado, se purificaron y enviaron para su secuenciación directa. Se obtuvo un segmento de 508 pares de bases (pb) correspondientes al gen HMG-CoAS, 1.123 pb del gen HMGR y 2.195 pb del gen *Vg A1 like*. Por otra parte, se analizaron las secuencias de aminoácidos deducidas a partir de las secuencias nucleotídicas de los tres genes, lo que permitió localizar regiones conservadas y analizar los porcentajes de homología e identidad con otras especies emparentadas. Este estudio constituye el primer análisis de genes prometedores en *D. citri* como potenciales blancos para silenciamiento mediante ARNi.

GGM 14

CARACTERIZACIÓN PLASTÓMICA DE ESPECIES DE *Paspalum* (POACEAE) DEL GRUPO NOTATA

Perichon M.C.¹, A.V. Reutemann², J.R. Daviña¹, E.J. Martínez², J.F. Montenegro Valls³, G.H. Rua⁴, M.A. Caraballo-Ortiz⁵, K. Romaschenko⁵, P.M. Peterson⁵, A.I. Honfí¹. ¹Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, Instituto de Biología Subtropical (CONICET-UNaM) nodo Posadas, FCEQyN-UNaM, Misiones, Argentina; ²Instituto de Botánica del Nordeste (CONICET-UNNE), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina; ³EMBRAPA/CENARGEN, Brasilia, Brasil; ⁴Cátedra Botánica Sistemática, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; ⁵Department of Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington D.C., U.S.A. E-mail: constanzaperichon@gmail.com

El grupo Notata s.l. del género *Paspalum* reúne a especies de interés forrajero que son morfológicamente muy similares entre sí y presentan diferentes niveles de ploidía en base a $x=10$. Se estudiaron los genomas del cloroplasto (plastomas) de seis especies del grupo, a partir del ADN genómico total. Se prepararon bibliotecas genómicas y se secuenciaron utilizando tecnología de secuenciación de alto rendimiento (*genome skimming*). Las secuencias limpias fueron ensambladas *de novo* usando el programa NOVOplasty (versión 2.7.2) con dos tamaños de kmers (21 y 33 nucleótidos). Se logró ensamblar, circularizar y anotar siete genomas de cloroplastos de las siguientes especies: *P. barretoii* Canto-Dorow, Valls et Longhi-Wagner, *P. cerradoense* R. C. Oliveira et Valls y *P. cromyrorhizon* Trinius ex Döll. con $2n=2x=20$, *P. ellipticum* Döll con $2n=8x=80$, *P. minus* E. Fourn. con $2n=5x=50$, *P. notatum* Flügge con $2n=2x=20$ y $2n=4x=40$. Los plastomas fueron anotados y visualizados utilizando los programas GSEq, IRSCREEN y OGDRAW. Las anotaciones incluyeron genes, pseudogenes y regiones invertidas entre otras. Los análisis genómicos en progreso incluyen comparaciones estructurales entre genomas, identificación de regiones propensas a mutaciones útiles para estudios poblacionales y evaluación de tipos de selección en los genes.

GGM 15

ESTIMACIÓN DE LA FRECUENCIA DE CAMBIOS EN EL GENOMA DE CLOROPLASTOS DE PLÁNTULAS ORIGINADAS POR UNA MUTANTE EN EL GEN *MSH1* DE CEBADA (*Hordeum vulgare* L.)

Lencina F., V.J. Etchart, A.N. Garcia, A. Prina, A. Landau. IGAEF, CICVyA, INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. E-mail: lencina.franco@inta.gov.ar

El genotipo mutador de cloroplastos (*cpm*) de la cebada (*Hordeum vulgare* L.) induce un amplio espectro de deficiencias clorofílicas heredadas citoplásmicamente. Se postula que *cpm* es una mutante del gen *Msh1* perteneciente al sistema de reparación de apareamientos incorrectos del ADN y que controla la estabilidad de los plastomas. Esta mutante puede usarse para estudiar la reparación del ADN de los cloroplastos, generando variabilidad útil para el estudio funcional de los genes del plastoma y para el fitomejoramiento. Hasta el momento, se identificaron cambios en plántulas *cpm* mediante el análisis de regiones plastómicas por cpTILLING. El objetivo de este trabajo fue determinar la cantidad y el tipo de cambios existentes en el plastoma completo de siete plántulas *cpm* con diferente número de generaciones de autofecundación. Se secuenciaron por NGS 14 amplicones provenientes de *Long PCR* por cada plántula *cpm* y el control. Se mapearon las *reads* contra el genoma de referencia y también se ensamblaron *de novo* para identificar polimorfismos. Se hallaron sustituciones e indels de hasta 15 pb mediante el mapeo, e indels de hasta 620 bp mediante ensamble *de novo*. Las plántulas con 12 generaciones de autofecundación tuvieron mayor cantidad de polimorfismos (20-24) y mayor frecuencia de cambios ($1,47-1,76 \times 10^{-4}$) que las plántulas con seis generaciones, lo que se atribuye a un mayor tiempo de exposición al efecto mutador del *cpm*. Por otro lado, se detectaron cambios que no habían sido identificados por cpTILLING, indicando que la secuenciación es un método más eficaz de búsqueda de polimorfismos.

GGM 16

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE TRANSPORTADORES DEL TIPO ABC EN SORGO DE ALEPO (*Sorghum halepense* L.) RESISTENTE A GLIFOSATO

Ulrich M.N.¹, E. Muñiz Padilla², A. Corach^{1,3}, E. Hopp⁴, D. Tosto^{1,3}. ¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Biotecnología/IABIMO, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina; ²Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos, Entre Ríos, Argentina; ³CONICET, Argentina; ⁴FCEyN, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. Email: ulrich.maria@inta.gov.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 resistencia a herbicidas en malezas puede darse por diferentes mecanismos. Los mecanismos por fuera del sitio activo (NTSR) son complejos y pueden involucrar varias familias de genes, lo que dificulta la identificación de las causas moleculares de la resistencia. Estudios en otras malezas resistentes mostraron alta expresión de algunos genes de la familia de transportadores del tipo ABC inducida por glifosato; estos utilizan ATP para funcionar y transportan moléculas a través de las membranas. El objetivo del presente trabajo fue analizar la expresión de genes de la familia ABC para *Sorghum halepense* bajo aplicación de glifosato. Para ello se estudiaron los genes *M2*, *M8*, *M11*, *P1*, *P3* y *P6* bajo condiciones de aplicación de glifosato y se evaluó su expresión a las 0 y 24 h post-aplicación (HPA) en biotipos susceptibles y resistentes. Se diseñaron oligonucleótidos y se verificó la especificidad de estos analizando las secuencias de los fragmentos amplificados y las curvas de disociación, así como también se calculó la eficiencia de cada uno. Los genes seleccionados mostraron en la mayoría de los biotipos un aumento de la expresión a las 24 h respecto del to, así como también se observó que para *P6*, *M2*, *M8* y *M11* los biotipos resistentes mostraron mayor expresión que el biotipo susceptible a 24 HPA aunque se observó variabilidad en los niveles de expresión en los diferentes biotipos estudiados. El aumento en los niveles de expresión podría explicar el mecanismo molecular de la resistencia a glifosato para los biotipos de sorgo de Alepo analizados.

GGM 17

OBTENCIÓN DE LÍNEAS EDITADAS EN LOS ALELOS ALS DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum spp.*) QUE CONFIEREN RESISTENCIA A HERBICIDAS

Budeguer F., A.S. Ostengo, A. Noguera, R. Enrique. ITANOA-EEAOC, Tucumán, Argentina. E-mail: ramon.enrique.ar@gmail.com

La caña de azúcar (*Saccharum spp.*) es un cultivo tropical de propagación vegetativa que contribuye con aproximadamente el 80% de la producción de azúcar y el 40 % de la producción de biocombustibles a nivel mundial. Dicha producción está afectada por estreses bióticos y abióticos, entre los cuales la presencia de malezas disminuye drásticamente los rendimientos. La enzima Acetolactato Sintasa (ALS) cataliza la biosíntesis de los aminoácidos esenciales de cadena ramificada y es inhibida por varios herbicidas, tales como sulfonilureas e imidazolinonas, entre otros. La resistencia a herbicidas inhibidores de ALS es controlada por mutaciones específicas presentes en los alelos *als*. El objetivo del presente estudio fue editar, mediante la tecnología CRISPR-Cas, los alelos *als* de la variedad TUC 03-12 de caña de azúcar, con el propósito de conferirle resistencia a herbicidas. Se bombardearon los explantos de caña de azúcar con partículas de oro recubiertas con ribonucleoproteínas (nucleasa, ARN guía) y el ADN de reparación. Los explantos transformados fueron seleccionados y regenerados en presencia del herbicida bispiribac de sodio. Se regeneraron *in vitro* líneas de caña de azúcar potenciales resistentes al agente selectivo las cuales están en proceso de propagación para su rusticación en invernadero. Se obtuvieron líneas potencialmente editadas de caña de azúcar las cuales crecieron en presencia del bispiribac de sodio. Futuros estudios moleculares y fenotípicos son necesarios para determinar su efectividad frente a herbicidas en condiciones *ex vitro*.

GGM 18

OBTENCIÓN DE LÍNEAS TRANSGÉNICAS DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum spp.*) QUE EXPRESAN TOXINAS BT PARA EL MANEJO DEL INSECTO *Diatraea saccharalis*

Budeguer F.¹, J. Racedo¹, R. Enrique¹, M.F. Perera¹, S. Ostengo^{1,2}, A.S. Noguera¹. ¹Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Las Talitas, Tucumán, Argentina; ²Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Las Talitas, Tucumán, Argentina. E-mail: florbudeguer88@gmail.com

Diatraea saccharalis (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) es considerada la plaga más importante del cultivo de caña de azúcar, ocasionando grandes pérdidas en las diferentes etapas fenológicas del cultivo. Actualmente, una de las estrategias más eficientes para el control de este insecto en otros cultivos como el maíz, es el uso de cultivos transgénicos que expresan genes de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, denominados Bt, que codifican proteínas con actividad insecticida. Hasta el momento no se encontraron reportes del apilamiento de dos o más proteínas Bt en cultivares de caña de azúcar. El objetivo del presente estudio fue incorporar dos genes Bt mediante biobalística en callos embriogénicos de dos cultivares comerciales (TUC 95-10 y TUC 03-12) de caña de azúcar. La presencia de los transgenes fue analizada mediante PCR en 34 líneas potencialmente transgénicas. Estas plantas se aclimataron y multiplicaron en el invernadero a fin de obtener suficiente material vegetal para las posteriores evaluaciones fenotípicas y moleculares. El nivel de expresión de los transcritos en las líneas transgénicas candidatas fue analizado mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR). En conclusión, se obtuvieron líneas transgénicas de caña de azúcar con genes Bt sobreexpresados. Futuros estudios fenotípicos son necesarios para determinar su resistencia frente a *D. saccharalis*.

GGM 19

DIVERSIDAD GENÉTICA DE LEVADURAS EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN INDUSTRIAL DE BIOETANOL DE CAÑA DE AZÚCAR *Saccharum* spp. EN TUCUMÁN, ARGENTINA

Canseco Grellet M.A.¹, K.I. Dantur², M.F. Perera², P.M. Ahmed², A. Castagnaro¹, B. Welin², R.M. Ruiz¹. ¹Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán, Argentina; ²Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CCT NOA Sur, Tucumán, Argentina. E-mail: alecanseco18@hotmail.com

La producción de bioetanol combustible en Argentina aumentó significativamente en la última década. En el noroeste, el proceso de fermentación de caña de azúcar opera con reciclo de la levadura de panadería *Saccharomyces cerevisiae*. Durante el reciclo se impone una presión selectiva que conlleva a la selección de cepas domesticadas, tolerantes a estrés. El objetivo fue evaluar la diversidad genética de levaduras en procesos de fermentación industrial de bioetanol. Para ello, se aislaron levaduras de 10 destilerías de Tucumán, durante cinco zafas consecutivas. Los aislados se clasificaron según el crecimiento en distintos medios de cultivo. Con el ADN de las levaduras identificadas como *S. cerevisiae*, se amplificaron tres marcadores SSR (YOR267C, TG_VI y GT_X) y los datos obtenidos fueron analizados para calcular la similitud genética. Del total de levaduras aisladas, 58 correspondieron a levaduras silvestres (25% no-*Saccharomyces* y 5% *Saccharomyces* sp.). El análisis de SSR de las 112 levaduras *S. cerevisiae* (70%), reveló una alta variabilidad intraespecífica, distinguiéndose 33 genotipos. Solo dos levaduras autóctonas mostraron un 67% de similitud con la cepa de panadería mientras que el resto compartió una similitud $\leq 37\%$. Los resultados demostraron que la levadura de panadería utilizada como iniciador es superada por cepas domesticadas, capaces de sobrevivir a lo largo de los ciclos fermentativos. El conocimiento generado permitirá identificar cepas iniciadoras de *S. cerevisiae* dominantes y persistentes, adecuadas para llevar a cabo fermentaciones eficientes y estables.

GGM 20

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE DOS CEPAS FÚNGICAS AISLADAS DE SUELO CONTAMINADO CON CROMO HEXAVALENTE

Aranguiz C.^{1,2}, A.S. Tatarin^{1,2}, M.A. Sadañoski^{1,2}, M.A. Polti³, M.I. Fonseca^{1,2}. ¹Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina; ³Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI), Tucumán, Argentina. E-mail: camiaranguiz76@gmail.com

El cromo hexavalente [Cr(VI)] es un contaminante muy estudiado ya que el mismo afecta la salud humana y el ambiente. El grupo de trabajo seleccionó, anteriormente, dos hongos por presentar alta tolerancia frente al Cr(VI). Es así que resulta importante identificar molecularmente hongos con potencial biotecnológico. El objetivo del trabajo fue identificar molecularmente dos hongos aislados de suelo de una industria de curtiembre. Para la identificación de *Trichoderma* sp. LBM 253 se amplificaron los espaciadores transcritos internos (ITS) del rDNA, utilizando los cebadores ITS1 e ITS2 y un fragmento del gen que codifica para el factor de elongación de la traducción 1- α (tef1), con los cebadores TEF-1f y EF728R. Para el caso de *Penicillium* sp. LBM 260 se amplificó la región ITS utilizando los cebadores ITS1 e ITS4, una región del gen de la β -tubulina (Bt) utilizando los cebadores Bt2aF y Bt2bR y una región del gen de la calmodulina (CMD) utilizando los cebadores CMD-5 y CMD-6. Luego se realizó la secuenciación de los productos amplificados. A partir de las secuencias resultantes se realizó el análisis de las mismas y se contrastó con la base de datos BLAST. Posteriormente, se realizó el alineamiento y agrupamiento de las secuencias. Finalmente, los árboles filogenéticos concatenados ubicaron a *Trichoderma* sp. LBM 253 como *T. koningiopsis* y a *Penicillium* sp. LBM 260 como *P. brasilianum*. Como conclusión, se confirmaron sus identidades, destacando la importancia de la identificación molecular como parte del proceso de selección de organismos con alta tolerancia al Cr(VI).

GGM 21

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE *Hornodermoporus martius* LBM 224 EN MEDIO DE CULTIVO SÓLIDO

Swiercz F.A., G.A. Acosta, S.F. Benítez, M.I. Fonseca, P.D. Zapata. Laboratorio de Biotecnología Molecular, InBioMis (FCEQyN-UNaM), Posadas, Misiones, Argentina. E-mail: francoswiercz@gmail.com

La identificación de una especie fúngica puede realizarse mediante el uso de marcadores moleculares y sus caracteres morfológicos. El objetivo de este trabajo fue realizar la identificación mediante marcadores moleculares y los caracteres morfológicos en medio sólido de cultivo del aislamiento fúngico LBM 224. La identificación molecular se realizó mediante amplificación por PCR del gen del ARN 28S. La extracción del ADN se realizó con cloroformo:alcohol isoamílico (24:1, v:v). Las secuencias se analizaron mediante el método de *Neighbour joining* junto al modelo de Kimura 2-*parámetros* y un *bootstrap* con 1000 réplicas. La caracterización morfológica se realizó a partir del cultivo en placa de Petri con medio sólido agar-extracto de malta y tinción con Melzer. La secuencia obtenida se reportó en el GenBank (Nº acceso: MT448725). La cepa se agrupó dentro de un clado monofilético con un *bootstrap* de 96 con cepas de *Hornodermoporus martius*. Macromorfológicamente, presentó un micelio de bordes irregulares, de color blanco y aspecto polvoso. Micromorfológicamente, presentó un sistema hifal trimítico con hifas generativas hialinas de paredes finas fibuladas e inamiloides, hifas esqueléticas arboriformes fuertemente dextrinoides e hifas conectivas levemente dextrinoides; se observaron clamidosporas hialinas, elipsoides de paredes gruesas e inamiloides. Mediante el marcador molecular utilizado complementado con la micromorfología se logró identificar la especie abordada. La correcta identificación y caracterización de un organismo constituye la base para estudios posteriores.

GGM 22

EMPLEO DE UN SISTEMA CRISPR-CAS TIPO I-F1 PARA LA EDICIÓN DE GENES EN BACTERIAS

Molina M.C., C. Quiroga. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. E-mail: mariamolina@fmed.uba.ar

En la naturaleza, los sistemas CRISPR-Cas reconocen y degradan elementos genéticos móviles invasores. Estos sistemas pueden ser reprogramados hacia blancos de interés para silenciamiento temporal o edición de genes. Como objetivo, nos propusimos estudiar el sistema CRISPR-Cas I-F1 de *Shewanella xiamenensis* Sh95 y evaluar su actividad frente a diversas bacterias. Para ello, se diseñaron y clonaron en el vector pCDFDuet secuencias guías de ARNs de CRISPRs que, provistas en *trans*, reconocen específicamente *gfpmut3* del plásmido pBK*gfp* (Kan^R), y una guía con una secuencia no complementaria como control. En el entorno nativo, se pudo observar el efecto del sistema sobre *gfpmut3* por observación directa al microscopio de epifluorescencia. La cuantificación por fluorimetría arrojó una reducción de los niveles de fluorescencia relativa del ~71,5%. Mediante selección en medio LB con kanamicina se evidenció el curado de pBK*gfp*, que fue confirmado por PCR. En paralelo, se clonaron los genes del sistema CRISPR-Cas I-F1 en el vector pRSFDuet, en presencia y ausencia de *cas2/3* que codifica la nucleasa, con el fin de estudiar su actividad heteróloga en *Escherichia coli* BL21(DE3). En presencia de Cas2/3 evidenciamos una reducción de la fluorescencia por microscopía. Nuestros resultados sugieren que el sistema CRISPR-Cas tipo I-F1 de *S. xiamenensis* Sh95 podría ser reprogramado hacia distintos genes blanco y emplearse tanto como herramienta secuencia específica contra patógenos bacterianos, así como también, para manipulaciones genéticas de bacterias de interés biotecnológico e industrial.

GGM 23

CAMBIOS EN LAS COMUNIDADES BACTERIANAS PRESENTES EN UN EFLUENTE CITRÍCOLA TRATADO CON *Pleurotus pulmonarius* INMOVILIZADO EN ESPONJA VEGETAL

Saguchi E.Y., S.F. Benitez^{1,2}, A.S. Tatarin^{1,2}, P.D. Zapata^{1,2}, M.A. Sadañoski^{1,2}, L.N. Levin³, M.I. Fonseca^{1,2}. ¹Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; ²CONICET, Argentina; ³Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Micología Experimental, INMIBO-CONICET, Argentina. E-mail: akemisaguchi96@gmail.com

La industria citrícola genera efluentes que imponen un desafío ambiental debido a su gran contenido de materia orgánica y variabilidad físico-química. En trabajos anteriores se seleccionó a *Pleurotus pulmonarius* LBM 105 inmovilizado en esponja vegetal como una alternativa eco-amigable para su tratamiento. El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en las comunidades bacterianas presentes en un efluente citrícola luego de este tratamiento. Para ello se tomaron muestras de 50 mL del efluente inicial y luego de 10 días de tratamiento, las cuales se centrifugaron para obtener un pellet a partir del cual se extrajo el ADN genómico utilizando el kit NucleoSpin® soil (Biocientífica SA ARGENTINA). El ADN obtenido se envió a MacroGen Inc. (Seúl, Corea del Sur) para la amplificación, construcción de librería y secuenciación de la región V3-V4 del gen 16S rRNA. Los controles de calidad, análisis de secuencias y asignación de unidades taxonómicas operacionales (OTUs) se realizaron con los programas IlluQC v.0.11.2. y Mothur v.1.22.2. Los OTUs fueron clasificados con la base de datos Silvaseed v.132 y los gráficos de los perfiles taxonómicos se realizaron en un entorno R v.4.1.3 utilizando el paquete Phyloseq. Los perfiles taxonómicos a nivel de phylum en el control estuvieron dominados por Firmicutes, mientras que en el tratamiento predominaron Proteobacteria y Bacteroidetes. El número de comunidades bacterianas a nivel de género en el tratamiento fue más abundante que en el control, indicando que el tratamiento realizado representa una alternativa promisoría.

GGM 24

DISEÑO DE CEBADORES PARA LA AMPLIFICACIÓN DE UN GEN QUE CODIFICA UNA LIPASA PRODUCIDA POR *Penicillium rubens* LBM 081

Miguel N.A.¹, L.E. Ortellado^{1,2}, M.D. Rodríguez^{1,2}, P.D. Zapata^{1,2}, L.L. Villalba¹. ¹Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina. E-mail: nico.mmiguel@gmail.com

Las lipasas producidas por *Penicillium rubens* LBM 081 aislado de la provincia de Misiones, tienen aplicaciones en numerosos procesos productivos, como es el tratamiento de efluentes que contienen grasas y aceites, la fabricación de detergentes y el procesamiento de cuero y papel. El desarrollo de tecnologías basadas en lipasas para la síntesis de nuevos compuestos está expandiendo el uso de estas enzimas. Por esto, la identificación de genes que codifican lipasas que presenten nuevas propiedades es de interés no solo académico sino también industrial. El objetivo del presente trabajo fue diseñar cebadores capaces de amplificar un fragmento génico que codifica la lipasa EC. 3.1.1.3 producida por la cepa *P. rubens* LBM 081. Se inició el diseño de cebadores llevando a cabo una búsqueda de similitud de secuencias; para ello se realizó un BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool For Nucleotide*) entre el genoma completo de *P. rubens* (GenBank GCA_019189275.1) y la secuencia del gen que codifica una lipasa de un aislado de *Penicillium allii* (GenBank AY303124.1), hallándose una secuencia de elevada similitud en el genoma de *P. rubens*. A partir de la secuencia génica obtenida se efectuó el diseño de cebadores específicos que permitan la amplificación de esta porción génica. Se utilizó el programa *Primer 3* para el análisis *in silico* de los cebadores obtenidos, los cuales presentaron valores óptimos para las variables de longitud, Tm y contenido G:C (Guanina:Citosina).