

GGM

**GENÓMICA
Y GENÉTICA
MOLECULAR**

**GENOMICS
AND MOLECULAR
GENETICS**

GGM 1

MEDICINA DE PRECISIÓN EN HOSPITALES PÚBLICOS MATERNO INFANTILES DE SALTA Y JUJUY

Trigo A.N.¹, P.D. Flores¹, M.V. Arroyo², E. Salim², P. Zago², J.E. Dipierrri^{1,2}. ¹Hospital Materno Infantil "Dr. Héctor Quintana", Jujuy, Argentina; ²Unidad de Conocimiento Traslacional Hospitalaria (UCTH), Hospital Público Materno Infantil, Salta, Argentina. E-mail: nicolastrigo2654@gmail.com

La medicina de precisión forma parte, prioritariamente, de las agendas de ciencia y salud de Argentina. Sin embargo, no se practica aún de forma sistemática en los hospitales públicos del país. Se analizaron los estudios con NGS realizados en pacientes del Hospital Materno Infantil de Jujuy (HMIJ) y Salta (HMIS), seleccionados en base a antecedentes clínicos, dismorfológicos, y la utilización de herramientas de fenotipificado de próxima generación (F2G; GestaltMatcher). Los estudios contaron con el consentimiento informado correspondiente. La secuenciación fue realizada en el sector privado, y el mapeo-alineamiento y llamado de variantes, en el área de bioinformática del HMIJ utilizando como genoma de referencia GRCH38. Se utilizaron paneles estandarizados y personalizados y distintas bases de datos (OMIM, Orphanet, ClinVar, GnomAD). Se estudiaron 187 pacientes alcanzándose un diagnóstico en el 49,7% de los casos. En cuanto al efecto mutacional, 65% fueron variantes *missense*, 14% *stop gained*, 16% *frameshift*, 2,2% *disruptive inframe deletion*, 3,2% *splice acceptor* y 6% *splice donor*. En cuanto al impacto, el 39% fue alto y el resto moderado. El 79% de las variantes no fueron reportadas en GnomAD, el 20% presentaron una frecuencia extremadamente baja. El 26% de las variantes fueron patogénicas, 48% probablemente patogénicas y 26% VUS. Los resultados indicarían que es factible implementar en hospitales públicos el diagnóstico molecular basado en NGS y que los mismos son necesarios no sólo para fines diagnósticos, sino para conocer las características genómicas de las poblaciones locales.

GGM 2

DETECCIÓN BIOINFORMÁTICA DE FUSIONES GÉNICAS TUMORALES, UNA NUEVA PERSPECTIVA A EXPLORAR EN MELANOMAS TRATADOS CON INMUNOTERAPIA

Nibeyro G.^{1,2}, V. Baronetto^{1,2}, A. Nava^{2,3}, L. Prato⁴, V.G. Morón^{2,5,6}, E.A. Fernández^{1,2,7}. ¹Fundación para el Progreso de la Medicina, Córdoba, Argentina; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina; ³Fundación Instituto Leloir, Buenos Aires, Argentina; ⁴Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina; ⁵Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología, Córdoba, Argentina; ⁶Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina; ⁷Facultad de Ingeniería, FCEfYN, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. E-mail: elmerfernandez@fpmlab.org.ar

Los neoantígenos, resultantes de mutaciones somáticas en células tumorales, podrían ser clave en la inmunoterapia con inhibidores de punto de control inmunitario (ICIs) al estimular la respuesta inmune. Existe la hipótesis de que los neoantígenos derivados de variantes estructurales podrían ser altamente inmunogénicos, aumentando la probabilidad de respuesta positiva a ICIs. A fin de evaluar el impacto de las fusiones génicas en inmunoterapia, se estudió una cohorte de 73 pacientes con melanoma, tratados con ICIs y con información de respuesta. Se analizaron entonces, los datos de RNAseq para evaluar tanto el rendimiento de la maquinaria de presentación celular (MPC), a través de la expresión de una firma molecular específica y el genotipo HLA-I (estimado mediante el *software* arcasHLA), como la carga de fusión tumoral (TFB) con el *software* Arriba. Se encontró una clara asociación entre TFB y sobrevida global (Kaplan Meyer, $p=0,0038$), donde un alto TFB se asoció a mal pronóstico. Además, estos pacientes mostraron una menor activación de la MPC (menores valores para la firma, $p=0,018$), sugiriendo que un mayor TFB no se traduciría en mayor presentación de neopéptidos en la superficie celular. A fin de comprobar si esto podría deberse a una menor variabilidad en moléculas HLA-I, lo que reduciría el repertorio de neopéptidos plausibles de ser presentados, se estudió su cigosidad sin encontrarse asociación significativa. Estos hallazgos sugieren que, en esta cohorte de pacientes, un alto TFB podría ser un indicador de agresividad en lugar de inmunogenicidad tumoral.

GGM 3

IDENTIFICACIÓN BIOINFORMÁTICA DE VARIACIÓN GENÉTICA EN RECEPTORES DE LINFOCITOS T Y SU ASOCIACIÓN A RESPUESTA EN INMUNOTERAPIA ANTITUMORAL EN MELANOMA

Baronetto V.^{1,2}, G. Nibeyro^{1,2}, A. Nava^{2,3}, L. Prato⁴, C. Montes^{2,5}, E. Fernández^{1,2,6}. ¹Fundación para el Progreso de la Medicina, Córdoba, Argentina; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina; ³Fundación Instituto Leloir – CONICET, Buenos Aires, Argentina; ⁴Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina; ⁵Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI), CONICET, Córdoba, Argentina; ⁶Facultad de Ingeniería, FCEfYn, Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Córdoba, Argentina. E-mail: elmerfernandez@fpmlab.org.ar

La diversidad de receptores de linfocitos T (TCR) se basa en la recombinación somática de segmentos de genes y de variaciones alélicas adicionales. Esto le confiere una gran versatilidad y especificidad en la detección de antígenos. Dentro del microambiente tumoral (TME), existen mecanismos inmunosupresores que detienen la inmunidad de las células T antitumorales. Terapias como los inhibidores de puntos de control inmunitarios (ICI) contrarrestan este efecto, por lo que identificar y estudiar la variabilidad de estos receptores en pacientes bajo tratamiento, es fundamental para entender su efecto y potencial uso como biomarcador. Analizar la variabilidad de TCRs es una tarea difícil por el gran número de datos generados. Utilizando el *software* MIXCR sobre muestras de RNAseq de pacientes que responden o no a ICI se estimó el repertorio de TCRs y se analizó su riqueza y diversidad. Se observaron diferencias significativas con respecto a las secuencias aminoacídicas de la región CDR3 en pacientes que respondieron a la ICI con respecto a los que no lo hicieron, para las cadenas TRA ($p=0,002$), TRB ($p=0,008$), TRG ($p=0,011$), TRD ($p=0,016$) para riqueza, y TRA ($p=0,001$), TRB ($p=0,006$), TRG ($p=0,010$), TRD ($p=0,015$) para diversidad, siendo en ambos casos mayor en respondedores. Los resultados promueven la incorporación de nuevas muestras y análisis más profundos respecto a la relación de los TCR como posibles biomarcadores en respuesta a inmunoterapia.

GGM 4

DELECCIONES EN HEMOFILIA A: CARACTERIZACIÓN DE PUNTOS DE RUPTURA Y MECANISMOS INVOLUCRADOS

Ziegler B.M.¹, L.C. Rossetti¹, D. Neme², C.P. Radic¹, M.M. Abelleyro¹, C.D. De Brasi¹. ¹Instituto de Medicina Experimental (IMEX) – CONICET – Academia Nacional de Medicina (ANM), CABA, Argentina; ²Fundación de la Hemofilia Alfredo Pavlovsky, Buenos Aires, Argentina. E-mail: ziegler.betiana@gmail.com

La hemofilia A (HA) es una coagulopatía recesiva ligada al X. De 8 a 15% de las HA-severas (HAS) son causadas por grandes deleciones parciales del F8. El objetivo fue caracterizar los puntos de ruptura (PR), las cicatrices moleculares (CM) y estimar posibles mecanismos involucrados en tres pacientes no relacionados, con HAS y deleciones parciales del F8. Para caracterizar los eventos de los pacientes (P) #1 y #2, varones hemicigotas con HAS, se redujeron las regiones de incerteza e identificaron los PR (extremos 5'/3') por bipartición de distancias y PCR-*standard*, PCR de larga-distancia (LD-PCR) y secuenciación de Sanger. Para P#3, una mujer sintomática con HA-moderada, se identificó una deleción heterocigota por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) y se caracterizaron los PR incluyendo restricción con *BclI* y *NcoI*, PCR-*standard*, IS-PCR (*Inverse Shifting-PCR*), I-LD-PCR (*Inverse-LD-PCR*) y secuenciación de Sanger. P#1 presentó una deleción hemicigota de 5,6kb del F8-exón-7 con inserción AA c.788-4718_4718_1009+679delinsAA; P#2, una deleción hemicigota de 6,6kb del F8-exones-23_25 con μ homología CATT c.6430-15877_6900+4699del; y P#3, una deleción heterocigota de 103,2kb del F8-exones-6_22 con μ homología GTGAT c.[670+394_6429+1244,0del; 6429+12447T>A]. Los estudios bioinformáticos sobre CM mostraron varios motivos estimuladores de rupturas del ADN, elementos repetitivos, estructuras secundarias y de no-B-DNA. La evidencia obtenida es compatible con el modelo de *Break Induced Replication* (BIR) para P#1 y *Microhomology-Mediated BIR* (MMBIR) o *Alternative End Joining* (Alt-EJ) para P#2 y P#3.

GGM 5

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE ESTUDIOS DE SECUENCIACIÓN MASIVA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON EPILEPSIA

Salgado Salter J.D.¹, M.J. Guillamondegui², A. Mampel³, B. Gamboni², S. Ferrer¹, P. Carrasco¹, J. Oliveri¹, S.P. Denita Juárez¹. ¹Área de diagnóstico molecular – HEMA, Mendoza, Argentina; ²Servicio de Neurología y Sección de Genética Hospital Pediátrico Dr. Humberto J. Notti, Mendoza, Argentina; ³Facultad de Ciencias Médicas – Hospital Universitario UN de Cuyo, Mendoza, Argentina. E-mail: sdenita@hema.com.ar

Los avances en las técnicas de secuenciación de nueva generación han demostrado su efectividad en el diagnóstico de encefalopatías epilépticas permitiendo en ciertos casos establecer un tratamiento adecuado. El objetivo de este estudio es hacer un análisis retrospectivo de los hallazgos genéticos de 43 pacientes pediátricos atendidos entre enero del 2020 y abril del 2023. Teniendo en cuenta todos los casos estudiados, se hallaron en 20 pacientes variantes patogénicas (P) o probablemente patogénicas (LP) (tasa de diagnóstico del 46,51%). Teniendo en cuenta los cuadros clínicos reportados en los pacientes, se obtuvo una tasa de diagnóstico del 59,09% en los fenotipos en los que predomina el cuadro epiléptico, sin claras dismorfias sindrómicas. Los principales genes con variantes LP/P detectados en esta población son genes accionables como *SCN1A*, *KCNA1*, *SLC2A1*, *KCNQ2* y *SCN8A*. Adicionalmente, en este grupo se determinó una tasa de significados inciertos del 27,27%. En pacientes con fenotipos funcionales neurológicos complejos asociados a anomalías estructurales y/o funcionales en otros órganos se observó que la tasa de diagnóstico disminuyó al 33,33% y los significados inciertos aumentaron a 52,38%. Teniendo en cuenta los resultados se concluye que la secuenciación masiva de genes asociados a epilepsia es una herramienta muy útil para determinar el origen etiológico de las encefalopatías epilépticas o del desarrollo de origen desconocido, pudiendo orientar las acciones clínicas en función del resultado del estudio genético.

GGM 6

DELECCIONES EN EL GEN *NPHP1* Y SU ASOCIACIÓN CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA: REPORTE DE UN CASO

Lugones A.C.¹, M.J. Guillamondegui², A. Tardivo¹, N.M. Aguirre¹, J. Martinez Mayer³, M. Waldman³, P. Julián², M.I. Pérez Millán³, M. Martí³. ¹Bitgenia, Buenos Aires, Argentina; ²Hospital Pediátrico H. Notti, Mendoza, Argentina; ³Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (FCEyN-UBA) e Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN), CONICET, CABA, Argentina. E-mail: ana.lugones@bitgenia.com

La nefronoptosis es una enfermedad renal hereditaria con gran variabilidad fenotípica, que se caracteriza por nefritis tubulointersticial crónica, y progresión hacia enfermedad renal terminal. Más de 90 genes se asocian a formas aisladas (80-90%) o sindrómicas (10-20%), en su mayoría de herencia autosómica recesiva. Presentamos el caso de un paciente de 11 años, hijo de padres sanos no consanguíneos, con insuficiencia renal crónica de etiología desconocida, asociada a poliquistosis renal. Se realizó el análisis genómico utilizando tecnología de secuenciación masiva (NGS) y algoritmos bioinformáticos, con el objetivo de detectar variantes de nucleótido único y variantes en el número de copias (CNVs) en un panel de genes asociado a la sospecha clínica. Se identificaron dos variantes en el gen *NPHP1*: la variante NM_001128178.3:c.1897_1906del - p.(Thr633LeufsTer37) en un alelo y una delección que presuntamente involucra al gen completo, en el alelo opuesto. Estos hallazgos sugieren nefronoptosis juvenil asociada a *NPHP1* como diagnóstico etiológico más probable. En pacientes con fenotipos asociados a tan amplia heterogeneidad genética y fenotípica, la identificación de la etiología del cuadro permite establecer un pronóstico, adecuar el seguimiento y el eventual tratamiento específico. Los algoritmos de detección de CNVs en NGS son una herramienta útil en el diagnóstico de entidades asociadas a este tipo de variantes.

GGM 7

SÍNDROME DE CHRISTIANSON: DELECIÓN PARCIAL DEL GEN *SCL9A6* IDENTIFICADA POR ARRAY-CGH (ACGH)

Zelaya G.^{1,2}, M.E. Foncuberta^{3,2}, M.G. Obregon⁴, E.M. Baialardo¹, C. Alonso⁵, M. Bonetto^{5,3}, M.F. Alú¹, S.F. López⁴. ¹Laboratorio de Citogenética, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ²Laboratorio de array-CGH, Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ³Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁴Área Clínica, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁵Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina. E-mail: gabyzelaya@gmail.com

El síndrome de Christianson (MIM 300243) es una forma muy poco frecuente de déficit intelectual sindrómico ligado al cromosoma X. Los varones afectados presentan discapacidad intelectual profunda, microcefalia, trastorno de la conducta, hipotonía y epilepsia. Las mujeres heterocigotas pueden presentar un fenotipo de amplio espectro que va desde no afectadas hasta manifestaciones neurológicas/psiquiátricas más graves. Se produce por variantes de nucleótido único (SNVs) o deleciones del gen *SCL9A6*. Se han descrito hasta la fecha 91 casos con SNVs y sólo tres casos con variantes en el número de copias. El objetivo de este trabajo es presentar un par de gemelos monocigóticos de sexo masculino con una deleción parcial del gen *SCL9A6* detectada por aCGH. Al momento de la consulta los pacientes presentaron retraso global del desarrollo, trastorno del espectro autista, encefalopatía epiléptica y microcefalia. El estudio citogenético con técnica de GTW en sangre periférica fue normal. Se realizó la técnica de aCGH, sobre la plataforma SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60k, que evidenció una deleción de aproximadamente 33,4 kb, arr[GRCh37]Xq26.3(135100968_135134406)x0, que abarca del exón 11 al 16 del gen *SCL9A6* en ambos hermanos. Se solicitó aCGH a la madre donde se identificó la misma CNV en heterocigosis. Para nuestro conocimiento este sería el cuarto caso de esta entidad por SNVs y el primer caso en Argentina. El uso de técnicas de citogenómica permitió llegar al diagnóstico de los dos pacientes, contribuyendo al conocimiento de los mecanismos genéticos involucrados en este síndrome.

GGM 8

SILENCIAMIENTO DEL GEN RELOJ *PERIOD* EN *Triatoma infestans* Klug: EFECTO EN SU PERFIL DE EXPRESIÓN DIARIO

Córdoba LE., B.A. García, M.M. Stroppa. Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas – INICSA, CONICET-UNC, Córdoba, Argentina. E-mail: lourdes.cordoba@unc.edu.ar

El vector de la enfermedad de Chagas, *Triatoma infestans*, muestra ritmos diarios controlados por los genes del reloj biológico. Para el silenciamiento del gen reloj *period* (*per*) se utilizaron protocolos de interferencia por ARN (ARNi) con diferentes esquemas de alimentación y se analizó el efecto del silenciamiento en su perfil de expresión diario en tejido nervioso de ejemplares adultos de *T. infestans* cada 6 h durante un período de 24 h. La hora del día fue expresada en Zeitgeber Time (ZT). Se inyectaron ARNi del gen *per* y del gen control β -Lactamasa (β -Lac). En cada grupo se determinó la expresión del gen *per* mediante la técnica de retrotranscripción y PCR en Tiempo Real. El silenciamiento del gen *per* en machos y hembras mostró una disminución significativa en la expresión transcripcional en el grupo de insectos inyectados con el ARNi del gen *per* con respecto a los niveles hallados en los grupos control (no inyectados e inyectados con el ARNi control). Los esquemas de alimentación utilizados en los protocolos no afectaron de forma significativa el nivel de interferencia. Por otra parte, el silenciamiento del gen *per* redujo su expresión en todos los ZT analizados y no se observaron las variaciones diarias características en la expresión transcripcional que presenta este gen. Los resultados obtenidos permitieron establecer que el silenciamiento del gen *per* fue efectivo en machos y hembras y no se ve afectado por los esquemas de alimentación utilizados en los protocolos. Además, el silenciamiento del gen *per* afectó el perfil de expresión del gen en todos los ZT analizados.

GGM 9

DETECCIÓN BIOINFORMÁTICA DE VARIANTES ESTRUCTURALES DEL GENOMA MITOCONDRIAL: APLICACIÓN AL DIAGNÓSTICO EN MEDICINA DE PRECISIÓN

Becerra J.C.¹, D. Orschanski¹, J.C. Vazquez², G. Nibeyro^{3,4}, E. Surace^{4,5}, T. Izcovich⁵, A. Fernandez Gamba⁵, H. Martinetto⁵, E. Fernández^{3,4,1}. ¹Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina; ²Universidad Tecnológica Nacional, Argentina; ³Fundación para el Progreso de la Medicina, Córdoba, Argentina; ⁴CONICET, Argentina; ⁵Laboratorio de Enfermedades Neurodegenerativas, Departamento de Neuropatología y Biología Molecular, FLENI, Buenos Aires, Argentina. E-mail: daniorsch@gmail.com

Según estadísticas publicadas por Cleveland Clinic, 1 de cada 5000 individuos a nivel mundial tiene una enfermedad mitocondrial genética. La detección de estas enfermedades mediante algoritmos de bioinformática permite un diagnóstico más rápido y preciso, además de contribuir al descubrimiento de nuevos genes y vías metabólicas involucradas. Con el objetivo de desarrollar una herramienta bioinformática que incorpore el estado del arte en la detección de rearrreglos del genoma mitocondrial se presenta MitoR. Este desarrollo, en lenguaje de programación R, permite hacer un análisis integral de polimorfismos genéticos y variaciones en el número de copias del genoma mitocondrial a partir de datos de secuenciación de manera simple y automática. Para ello integra información de diversas bases de datos como HMTVAR, VarSome, Franklin, dbSNP; provee representaciones gráficas que facilitan la interpretación y proporcionan una retroalimentación al usuario. Además, genera una base de datos local que mejora la anotación de variantes. Actualmente MitoR está siendo implementado en FLENI como herramienta para la resolución de diagnósticos clínicos relacionados a enfermedades mitocondriales habiendo confirmado el diagnóstico presuntivo de LHON en un paciente mediante su aplicación. MitoR abre la puerta a nuevas oportunidades de investigación, desarrollo de terapias dirigidas y mejora en la atención médica personalizada para los pacientes afectados por trastornos mitocondriales, donde la disponibilidad de bases de datos con información local resulta fundamental para mejorar el diagnóstico.

GGM 10

PACIENTE CON DUPLICACIÓN/DELECIÓN INVERTIDA EN EL BRAZO CORTO DEL CROMOSOMA 8

Fortunato P.C.¹, C.M. Cruz¹, C.L. Romero¹, M.S. Arbelo², M.E. Foncuberta^{3,4}, M.M. Pérez^{3,4}, C. Alonso⁵, M.G. Obregón⁶, E.M. Baialardo¹. ¹Laboratorio de Citogenética, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ²Área Clínica, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ³Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁴Laboratorio de array-CGH, Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁵Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁶Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina. E-mail: pamelaf@hotmail.com

El síndrome de duplicación/delección invertida 8p [invdupdel(8p)] (ORPHA 96092) es una anomalía estructural con una incidencia de 1/10.000 a 1/30.000 recién nacidos vivos. Presenta retraso global del desarrollo (RGD) leve a severo, hipotonía muscular, dismorfias, malformaciones en SNC (cuerpo calloso), cardiológicas, escoliosis y/o cifosis. Se presenta una paciente de dos años con RGD, plagiocefalia, facies asimétrica con hipoplasia malar, frente estrecha hirsuta, hendiduras palpebrales descendentes, nariz de base ancha, boca grande, orejas de implantación baja, cuello corto, manos con hiperlaxitud interfalángica, pliegues profundos, clinodactilia de 5° dedo de ambas manos, pies equinos, hipotonía axial y escoliosis. En la resonancia magnética se evidenció hipoplasia del cuerpo calloso. Utilizando técnicas de citogenética con bandeado G, Hibridación Fluorescente *In Situ* (FISH) y array-CGH se observó la presencia de un rearrreglo cromosómico complejo en el brazo corto del cromosoma 8. 46,XX,add(8)(p?22)[20].ish add(8)(wcp8+,subtel8p-).arr[GRCh37] 8p23.3p12(191530_6880363x1,12039930_32645953x3,32716126x2), evidenciando una trisomía parcial de 8p23.1p12 y una monosomía parcial de 8p23.2p23.1. Los cariotipos y FISH parentales fueron normales. El fenotipo de la paciente coincide parcialmente con los casos descritos en la literatura. La combinación de técnicas citogenéticas y citogenómicas permitió caracterizar a la paciente como síndrome de [invdupdel(8p)], optimizando el asesoramiento genético familiar.

GGM 11

DELECIÓN 3P13 ASOCIADA A UNA TRANSLOCACIÓN CROMOSÓMICA APARENTEMENTE BALANCEADA 46,XY,T(3;5) QUE INVOLUCRA AL GEN *FOXP1*

Taniguchi L.E.¹, J.M. Daroqui¹, G. Zelaya^{1,2}, E.B. Pavón¹, M.L. Lavia³, M.M. Pérez^{2,4}, C. Alonso⁵, M.G. Obregón⁶, E.M. Baialardo¹.
¹Laboratorio de Citogenética, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ²Laboratorio de array-CGH, Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ³Área Clínica, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁴Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁵Unidad de Genómica, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ⁶Servicio de Genética, Hospital de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina. E-mail: taniguchilaura@gmail.com

Las translocaciones cromosómicas balanceadas ocurren en aproximadamente el 0,5% de los recién nacidos. Sin embargo, en aproximadamente el 6% de los individuos con translocaciones cromosómicas balanceadas, se observa fenotipo patológico como discapacidad intelectual, trastorno del espectro autista y múltiples anomalías congénitas, sugiriendo una asociación entre tales condiciones y los puntos de ruptura de las translocaciones. Se estima que la frecuencia de microdeleciones detectadas por hibridación genómica comparada mediante array (a-CGH) en pacientes con translocaciones cromosómicas aparentemente balanceadas (TCAB) con fenotipo patológico es cercana al 46%. Presentamos un paciente de siete años que consulta por retraso global del desarrollo con trastornos conductuales, cardiopatía congénita y dismorfias, con una TCAB que fue caracterizada por medio de citogenética clásica y molecular. El análisis por bandeado G en sangre periférica evidenció 46,XY,t(3;5)(p14;q35). Los cariotipos parentales fueron normales. Posteriormente, el resultado de a-CGH reveló una deleción de 835 Kb en 3p13, involucrando al gen *FOXP1* (OMIM #605515) asociado a Discapacidad intelectual con déficit del lenguaje y con o sin rasgos autistas (OMIM #613670) confirmando que el a-CGH permite detectar deleciones con tamaños menores a las observadas por medio del Bandeo G (5-10 Mb) arrojando luz en la relación entre las TCAB y las deleciones submicroscópicas. El uso complementario de ambas técnicas permite optimizar el diagnóstico etiológico en los pacientes y realizar un correcto asesoramiento genético.

GGM 12

ANÁLISIS DE METILACIÓN DEL PROMOTOR II DEL GEN DE CALPASTATINA EN NOVILLOS ANGUS Y BRAHMAN

Motter M.¹, P. Corva², M. Krause¹, L. Soria¹. ¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Cs. Veterinarias, CABA, Argentina; ²Facultad de Ciencias Agrarias, Unidad Integrada Balcarce (UNMDP/INTA), Buenos Aires, Argentina. E-mail: mmotter@fvet.uba.ar

El gen de calpastatina bovino (*cast*) origina distintos mensajeros en músculo esquelético porque posee promotores variables (I, II y III), *splicing* y sitios de poliadenilación alternativos. Existen diferencias en el nivel de expresión de las isoformas de *cast* en músculos contrastantes en terneza (*infraespinatus* y *semitendinosus*) en novillos Angus y Brahman, siendo la isoforma II la más variable. Además, el promotor de la misma tiene una extensa isla CpG, la que podría estar sujeta a metilación. El objetivo fue evaluar el nivel de metilación del promotor II y del extremo *upstream* del exón 1xb (pos. 96.034-769 a 96-035-748-NC_037334.1-GenBank) y su asociación con la expresión de la isoforma II. A partir de muestras conservadas a -80° C de los músculos *infraespinatus* y *semitendinosus* de novillos Angus (n=4) y Brahman (n=4), se realizó la secuenciación directa de amplicones tratados con bisulfito. El cálculo de metilación se determinó mediante el programa *Chromas 2.0*. No se hallaron diferencias en la metilación de las CpG del promotor II entre músculos, porque no se identificaron C metiladas. Sin embargo, en la secuencia del exón 1xb se halló metilación parcial (50-70%), siendo mayor en el *infraespinatus* que en el *semitendinosus* en ambas razas, pero en Angus mayor que en Brahman, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren que la metilación del ADN de esta secuencia analizada no sería el mecanismo epigenético que determina la diferencia de expresión de la isoforma II de *cast* en los músculos de las dos razas bovinas analizadas.

GGM 13

EVALUACIÓN CUALI-CUANTITATIVA DEL ADN EXTRAÍDO A PARTIR DE TEJIDO DE ALETA DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

Fernández L.M.¹, F.E. Aguila², P. De Carli^{1,2}. ¹Instituto de Ciencias del Ambiente, Sustentabilidad y Recursos Naturales (ICASUR), Unidad Académica Río Gallegos, (UARG), UNPA, Santa Cruz, Argentina; ²Centro de Investigaciones y Transferencia (CIT) Santa Cruz, CONICET-UNPA-UTN, Santa Cruz, Argentina. E-mail: lumifer.27@gmail.com

Para el desarrollo de bibliotecas GBS (*genotyping-by-sequencing*) es necesario disponer de ADN genómico total no degradado y de elevado peso molecular. En trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) es factible la obtención de ADN sin sacrificar al animal a partir de tejido de aleta. El objetivo de este trabajo fue evaluar la cosecha de ADN extraído a partir de tejido de aleta caudal y adiposa, y las diferentes técnicas de conservación. Para ello se tomaron muestras de 20 individuos, conservando aleta adiposa y caudal en etanol absoluto y aleta caudal en papel seco. Se realizó la extracción salina de ADN a partir de 10 mg de tejido, y elución en un volumen final de 50 µl. Se evaluó la calidad del ADN extraído mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y cuantificación mediante fluorometría (Qubit, Thermo Fisher Scientific). Se observó una mayor presencia de ADN degradado en las muestras de aletas caudal para ambos tipos de conservación. Si bien la cosecha promedio de ADN a partir de aleta adiposa es baja (23,0 µg), su desviación fue menor (13,5 µg). Se puede concluir que el tejido de aleta adiposa conservado en etanol absoluto permite obtener ADN de mayor calidad para estudios genómicos en trucha arco iris.

GGM 14

IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE ELEMENTOS REGULADORES EN TFAP2A PARA SU POSTERIOR CARACTERIZACIÓN DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PEZ CEBRA

Zarelli V.E.P.¹, A. Heffer², I.B. Dawid³. ¹Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción (GenAR), Universidad J. A. Maza, Mendoza, Argentina; ²Flaum Eye Institute, University of Rochester, Rochester, NY, USA; ³Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, NIH, Bethesda, USA. E-mail: valezarelli@gmail.com

Los miembros de la familia de factores de transcripción AP-2 (TFAP2) tienen un papel principal en distintos procesos fisiológicos o patológicos como el desarrollo, la diferenciación, la apoptosis y la tumorigénesis. No obstante, el papel de la expresión espacio-temporal de *tfap2* durante el desarrollo embrionario, la caracterización de sus propios módulos reguladores, así como la maquinaria molecular que participaría de dicha regulación no han sido exploradas en su totalidad. Por ello, nuestro principal objetivo consistió en identificar, aislar y clonar elementos reguladores conservados (CR) presentes en el gen *tfap2a* para su posterior caracterización en el modelo de pez cebra. Con el fin de determinar potenciales elementos reguladores e identificar regiones conservadas no codificantes utilizamos el navegador UCSC Browser. Luego, se diseñaron *primers* flanqueantes para cada región y se utilizó ADN genómico de pez cebra, en el estadio de 1 somita, como templado. La herramienta de predicción mostró diez regiones CR distribuidas entre las regiones intergénicas 5' y 3', y regiones intrónicas, las cuales se aislaron utilizando la técnica de PCR. Dichas regiones serán clonadas en un vector reportero para la proteína fluorescente verde (GFP). Esta herramienta nos permitirá monitorear por microscopía de fluorescencia, el patrón de expresión originado por cada una de las regiones reguladoras, a distintos estadios del desarrollo del pez cebra. Además, será de gran relevancia para poder comprender el control dinámico de *tfap2a* durante el desarrollo embrionario.

GGM 15

TÉCNICA DE ADN *BARCODING* PARA IDENTIFICACIÓN DE *Boana pulchella* Duméril & Bibron Y *Lithobates catesbeianus* Shaw EN AMBIENTES ACUÁTICOS CONTROLADOS

De La Cruz López D.J.^{1,2}, L. Moreno¹, S. Marza², M.E. Vasquez Gomez². ¹Área de Zoología, Departamento de Biología, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia (FQBF), Universidad Nacional de San Luis (UNSL), San Luis, Argentina; ²Área de Biología Molecular, Departamento de Biología, FQBF, UNSL, San Luis, Argentina. E-mail: davidjosedelacruzlopez@gmail.com

El ADN ambiental puede extraerse y utilizarse para identificar indirectamente a los seres vivos que habitan un ecosistema, mediante técnicas como el ADN *barcoding*. Nuestro objetivo fue obtener ADN ambiental utilizando herramientas moleculares basadas en el ADN *barcoding* para identificar: *B. pulchella* y *L. catesbeianus*. Para ello, diseñamos dos ambientes acuáticos controlados, donde introdujimos ejemplares de *B. pulchella* y restos de tejido de *L. catesbeianus*. Después de tres días, se procedió a la extracción del ADN del agua y su amplificación. Se utilizó ADN de tejido como control positivo. Luego se diseñaron *primers* específicos para el gen *COI* de *B. pulchella* (398 pb) y el gen *Cytb* de *B. pulchella* (179 pb) y *L. catesbeianus* (79 pb). Se logró la amplificación de los genes *COI* y *Cytb* de *B. pulchella* en muestras de tejido, pero no en el ADN ambiental del agua. Se obtuvo también la amplificación del gen *Cytb* de *L. catesbeianus* en muestras de tejido y agua. Estos resultados indican que la técnica es viable y aportan a su validación. Posiblemente el tamaño del amplicón utilizado para los genes de *B. pulchella* haya sido un inconveniente para lograr una amplificación de ADN ambiental debido a su gran tamaño, siendo más efectivo un amplicón de bajo peso molecular como el utilizado para *L. catesbeianus*, debido a las características de la muestra utilizada, donde el ADN probablemente se encuentre degradado. Estos hallazgos representan un punto de partida para futuros estudios en cuerpos de agua naturales.

GGM 16

DIGESTIÓN *IN SILICO* DE GENOMAS DE MAÍZ Y TRUCHA ARCOIRIS: ELECCIÓN DE ENZIMAS DE RESTRICCIÓN PARA SECUENCIACIÓN MASIVA DE REPRESENTACIÓN REDUCIDA

Aguila F.E.¹, L.A. Becker², P. De Carli³. ¹Centro de Investigaciones y Transferencia (CIT) Santa Cruz – UNPA UARG, Santa Cruz, Argentina; ²IDEAUS – CENPAT, Chubut, Argentina; ³Instituto de Ciencias del Ambiente, Sustentabilidad y Recursos Naturales (ICASUR), UARG – UNPA, Santa Cruz, Argentina. E-mail: faguila@uarg.unpa.edu.ar

La elección de las enzimas de restricción utilizadas en la preparación de bibliotecas GBS (*genotyping-by-sequencing*) depende de varios factores: el número de marcadores requeridos, el nivel deseado de multiplexación y el enriquecimiento de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) génicos. Se ha demostrado que el uso de enzimas sensibles a metilación, es decir, aquellas que no cortan el sitio de reconocimiento de la secuencia si se encuentra metilado, es efectivo para el enriquecimiento de regiones génicas. En este trabajo se pusieron a prueba tres programas de digestión *in silico* de genomas (SimRAD, DepthFinder y egads), para evaluar la efectividad en la reducción de complejidad del genoma y enriquecimiento de SNPs génicos. Se realizaron digestiones *in silico* de los genomas de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y maíz (*Zea mays*), utilizando un par de enzimas insensibles a metilación (*ddRADseq*) o un par de enzimas donde una es sensible (*epiRADseq*), alternando su frecuencia de corte. Además, se evaluó la cantidad de loci recuperados mediante la selección de tamaños de dos intervalos, uno estrecho (250–320 bp) y otro amplio (300–450 bp). No se encontraron diferencias en la cantidad de loci recuperados entre los programas, aunque existen diferencias en la facilidad de uso, requerimientos informáticos y salidas. Respecto a la digestión de los genomas, se observó una tendencia a obtener más loci con la selección de tamaño amplia en todas las combinaciones de enzimas. Estos resultados demuestran la utilidad de la digestión *in silico* previo a la preparación de bibliotecas genómicas.

GGM 17

ESTRUCTURA SECUNDARIA DEL GEN *12S-ARNr* DE *Aylacostoma chloroticum* Hylton Scott, 1954 (GASTROPODA: HEMISINIDAE)

Forestellio E.¹, L.B. Guzmán¹, J.G. Peso^{1,2}, A.A. Beltramino¹, R.E. Vogler¹. ¹Laboratorio del Grupo de Investigación en Genética de Moluscos (GIGeMol), Instituto de Biología Subtropical (IBS), CONICET – Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Posadas, Misiones, Argentina; ²Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UNaM, Posadas, Misiones, Argentina. E-mail: emaforestellio@hotmail.com

Aylacostoma chloroticum Hylton Scott, 1954 es un caracol dulceacuícola endémico de América del Sur. Habita ambientes altamente oxigenados del río Alto Paraná y está catalogado como “extinto en estado silvestre” en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN. Se conocen pocas poblaciones relictuales en Corrientes y Misiones, incluidas en un programa de conservación *ex situ* desarrollado en la Universidad Nacional de Misiones. En este estudio se presenta un modelo estructural del gen *12S-ARNr* de *A. chloroticum*. Para ello, se extrajo ADN de un individuo proveniente de Candelaria, Misiones y se secuenció su genoma completo mediante *Next Generation Sequencing*. A partir de estos datos se ensambló el mitogenoma de la especie. Se definieron los límites y el tamaño del gen mitocondrial *12S-ARNr* en función de los genes adyacentes. Luego, se desarrolló un modelo de estructura secundaria mediante plegamiento manual y comparación con modelos de referencia. La secuencia aislada presentó una longitud de 948 pb y la estructura obtenida mostró los cuatro dominios típicos (I-IV) en los que se divide estructuralmente este gen. Este modelo brinda información útil para refinar alineamientos de secuencias y realizar nuevas reconstrucciones filogenéticas, considerando la estructura secundaria obtenida. Siendo el primer modelo estructural completo de este gen disponible para *Aylacostoma* y el segundo del filo Mollusca, se espera que esta información contribuya a futuros análisis comparativos intraespecíficos e interespecíficos y a nuevas evaluaciones de las afinidades evolutivas de la familia.

GGM 18

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ADN EN ODONATOS (LIBÉLULAS): EFECTIVIDAD Y CONSIDERACIONES PARA ESTUDIOS GENÉTICOS DEL TAXÓN

Blanc Impini S.A.^{1,2}, D.M. Hohll, V.P. Creo^{1,2}, C.I. Catanesi^{1,2}, A. Del Palacio³. ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), CONICET-UNLP-CIC, Buenos Aires, Argentina; ²Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM), Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina; ³Laboratorio de Biodiversidad y Genética Ambiental (BioGea), Universidad Nacional de Avellaneda, Buenos Aires, Argentina. E-mail: ccatanesi@imbice.gov.ar

Los odonatos (libélulas) son insectos voladores y acuáticos de gran importancia como indicadores de salud ambiental, pero la falta de caracteres específicos morfológicos en algunas familias hace necesarios análisis genéticos para esclarecer sus relaciones filogenéticas. En este estudio, se evalúan diferentes metodologías para la obtención de ADN de odonatos. Se utilizaron los tejidos musculares de la pata posterior de Anisópteros y del cuerpo completo de Zygópteros (por ser estos más pequeños). Se emplearon cuatro métodos de extracción de ADN: 1) una técnica artesanal con cloruro de litio, 2) un kit comercial para tejidos, 3) un kit de nanopartículas sintetizadas en el Instituto de Física de La Plata y 4) una resina comercial. El ADN obtenido se cuantificó en Nanodrop 2000, se amplificó por PCR y se corrieron los amplicones en geles de agarosa 2%. La cuantificación mostró los siguientes valores de rendimiento promedio: técnica 1) 59,9 ng/ul y buena relación 260/280; técnica 2) 91,3 ng/ul y buena relación 260/280; técnica 3) 12,1 ng/ul y técnica 4) 115,4 ng/ul, ambas con valores bajos de 260/280. Todas las muestras fueron positivas en la amplificación. Las dos metodologías que emplean una etapa con proteinasa (1 y 2) resultaron con mayor pureza del ADN, si bien esta digestión insume tiempo adicional al procedimiento. Las técnicas 3) y 4) fueron ventajosas en cuanto al tiempo empleado, aunque no rindieron una buena calidad de ADN y, en el primer caso, tampoco buena cantidad. Pero, a pesar de la posible presencia de contaminantes, pudo obtenerse ADN útil para amplificación por PCR.

GGM 19

IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS AL CONTENIDO DE MICRONUTRIENTES (Fe, Zn, Mn, Cu) EN GRANOS DE TRIGO CANDEAL

Martínez L.M.¹, D. Martino², J.M. Rodrigo^{1,3}, A.C. Fernández, J.M. Rivera^{2,4}, A.L. Achilli^{1,3}, L. González², V. Echenique^{1,3}, P.F. Roncallo^{1,3}. ¹Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS)- CONICET, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina; ²Buck Semillas S.A., Buenos Aires, Argentina; ³Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina; ⁴Facultad de Agronomía, UNMDP, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. E-mail: roncallo@cerzos-conicet.gob.ar

El trigo candeal (*Triticum turgidum* var. *durum* L.) es un tipo de trigo destinado principalmente a la elaboración de pastas secas y es además una fuente importante de micronutrientes. La biofortificación genética de micronutrientes en los granos es una estrategia sostenible y de bajo costo para mejorar el estatus nutricional en la población. El objetivo de este trabajo fue analizar la variabilidad genética para el contenido de hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn) y cobre (Cu) en grano sobre dos colecciones de trigo candeal (170 y 140 genotipos) e identificar marcadores SNP asociados utilizando una estrategia de mapeo de asociación. El contenido de micronutrientes (mg/kg) se analizó mediante un espectrómetro de plasma con detector de masa atómica (ICP-MS) en muestras de tres ensayos a campo. Se amplificó el microarreglo de SNP 35K sobre la colección CRZ (170), y para un subconjunto del panel GDPv1 (140) se utilizó el microarreglo 90K. Las asociaciones marcador-carácter se obtuvieron en TASSEL 5.0 utilizando un modelo lineal mixto (PCA+K). Se encontró una alta variabilidad genética para los cuatro micronutrientes analizados. Se identificaron asociaciones marcador-carácter en todos los cromosomas. En particular, para el contenido de micronutrientes, pero sin afectar el rendimiento, la altura del cultivo o la fecha de espigazón, sobre los cromosomas 2AS (Fe-Zn), 2AL (Fe), 2BL (Fe-Cu), 3AS (Mn-Cu), 6AL (Fe-Cu) 7AL (Fe) y 7BL (Fe-Cu). Las regiones identificadas permitirán aplicar selección asistida por marcadores para mejorar la calidad nutricional de los granos y sus productos.

GGM 20

IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE GENES CODIFICANTES DE PROTEÍNAS RELACIONADAS AL ESTRÉS ABIÓTICO EN *Chenopodium quinoa*

Costa Tártara S.M.^{1,2}, D.P. Arce^{2,3}, P. Cacchiarelli^{2,4}, G.H. Tolosa¹, G.R. Pratta^{2,4}. ¹Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Luján, Buenos Aires, Argentina; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina; ³Secretaría de Ciencia y Tecnología, Facultad Regional San Nicolás, UTN, San Nicolás, Buenos Aires, Argentina; ⁴Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Zavalla, Santa Fe, Argentina. E-mail: scosta@unlu.edu.ar

Chenopodium quinoa (quínoa) es una quenopodiácea alotetraploide ($2n=4x=36$) distribuida en Sudamérica, cuyo origen se infiere por hibridación de especies diploides (genomas A y B). Se consume el grano como un cereal, y agronómicamente se adapta a ambientes diversos en altitud, temperatura, régimen hídrico y salinidad. El objetivo del trabajo fue identificar y describir secuencias de genes codificantes de proteínas asociadas a procesos de estrés abiótico denominadas *small Heat Shock Proteins* (sHSP), o proteínas de choque térmico, de bajo peso molecular clasificadas como la familia HSP20, caracterizadas por contener el dominio α -cristalin-domain (ACD). A partir de secuencias de modelos de genes de sHSP en quínoa, descritas previamente, y de la identificación de genes anotados como sHSP en el genoma (v2), se identificaron 75 secuencias únicas, distribuidas en los nueve cromosomas. Se construyó un árbol filogenético por el método de máxima verosimilitud, previo alineamiento múltiple por ClustalW. Las relaciones filogenéticas mostraron alta similitud entre las secuencias homólogas de los genomas A y B, y un agrupamiento de acuerdo a la ubicación celular (núcleo o citoplasma), lo que indicaría la presencia de péptidos señales en las secuencias génicas. Observando la distancia entre genes y comparando la estructura genómica, se detectaron posibles eventos de duplicación en los cromosomas 1B, 2A y 4B, un mecanismo evolutivo reportado en la expansión de la familia de sHSP en otras especies de plantas, lo que también es congruente con el alto número de copias detectado.

GGM 21

ANÁLISIS GENÓMICO COMPARATIVO DE LA FAMILIA DE GENES SRS EN *Arachis hypogaea* (LEGUMINOSAE)

Gutierrez T.^{1,2}, G.A. Perez^{1,2}, J.A. Leguizamón^{1,2}, L.M.I. Chalup^{1,3}, J.G. Seijo^{1,2}, S.S. Samoluk^{1,2}. ¹Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE), Corrientes, Argentina; ²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (FaCeNA), UNNE, Corrientes, Argentina; ³Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAUS), Chaco, Argentina. E-mail: tiagogutierrez1910@gmail.com

La familia génica SRS codifica para un grupo de factores transcripción de plantas, que regulan procesos fisiológicos relacionados con el crecimiento, desarrollo y respuesta a estrés. El maní es uno de los cultivos de leguminosas más importantes del mundo y nuestro país es uno de sus principales productores. En este trabajo se realizó la caracterización global de la familia SRS en el genoma del cv. Tifrunner (PeanutBase), incluyendo inferencias filogenéticas, estructuras génicas, duplicaciones y diversidad de expresión. En total, se identificaron 28 genes de longitud y estructura variable. El análisis con ProtParam-Expasy reveló diferente peso molecular y punto isoeléctrico en las proteínas. Las búsquedas con HMMER revelaron la presencia de dominios IXGH y *ring-like zinc finger*, característicos de esta familia. Análisis comparativos de la región promotora contra la base de datos PlantCare reveló motivos relacionados con el crecimiento, desarrollo y respuestas a diferentes tipos de estrés. Los análisis filogenéticos obtenidos por RAxML-NG evidenciaron seis grupos con estructuras génicas y proteicas particulares. Resultados de BLASTp sugieren que eventos de duplicación segmentaria habrían participado en la diversificación de esta familia. Análisis de RNAseq sugieren patrones particulares de expresión en diferentes tejidos y estados del desarrollo. La caracterización estructural de estos genes constituye la base para el desarrollo de análisis funcionales de mecanismos asociados a caracteres de interés agronómico.

GGM 22

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES ASOCIADOS A LA ANDROESTERILIDAD INDUCIDA POR IMIDAZOLINONAS EN GENOTIPOS DE GIRASOL IMISUN DE DIVERSOS FONDOS GENÉTICOS

Zuzul G.¹, M. Della Maddalena², S. Herrera², O. Marques², J.M. Bruniard², G. Nestares¹, A. Ochogavía¹. ¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR), CONICET-UNR, Zavalla, Santa Fe, Argentina; ²ACA C.L., Pergamino, Buenos Aires, Argentina. E-mail: anaochogavia@conicet.gov.ar

La androesterilidad inducida químicamente es una herramienta que se utiliza para la producción de híbridos en cultivos. El herbicida imazapir, aplicado durante estadios reproductivos tempranos, induce androesterilidad en algunos genotipos resistentes de girasol (*Helianthus annuus* L.) y altera la expresión de genes en sus anteras. El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión de seis genes, previamente asociados a este mecanismo (*TDF6*, *TDF13*, *TDF23*, *TDF29*, *TDF45*, *TDF60*) que participan en transporte transmembrana, detoxificación, respuesta a estrés, y vías metabólicas con intervención de proteínas de unión Fe-S. Para ello se colectaron anteras de genotipos Imisun de diversos fondos genéticos que presentaron androesterilidad inducida por tratamiento con Imazapir+Imazamox (160 g i.a. ha⁻¹). Se estableció un diseño experimental completamente aleatorizado (seis genotipos; tratados y sin tratar: control) y se analizó la expresión diferencial por PCR *Real Time* (qPCR) incluyendo tres genes de referencia, dos réplicas biológicas y tres repeticiones. La anatomía de anteras y polen se estudió por microscopía de Contraste Interdiferencial (DIC). Tres de los seis genotipos tratados presentaron desarrollo aberrante o ausencia de anteras (IM2, IM5 e IM6), y tres de ellos androesterilidad por daño en el tejido esporogénico (IM1, IM3 e IM4). Se confirmó la expresión diferencial entre plantas tratadas y control. Nuestros resultados confirman que la inducción de androesterilidad por imidazolinonas involucraría vías moleculares comunes en girasol Imisun, independientemente de su fondo genético.

GGM 23

CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA PROFUNDA DE UNA BASE DE GERMOPLASMA ELITE DE GIRASOL

Cendoya M.G.¹, M. Grondona², A. Zambelli³. ¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina; ²Advanta Seeds Biotech Center, College Station, TX, USA; ³CONICET, Argentina. E-mail: andres.zambelli@mdp.edu.ar

Mediante la caracterización genotípica se estudió la diversidad genética y la estructura poblacional de una base de germoplasma elite de girasol integrada por 331 líneas restauradoras (grupo heterótico R, GHR) y 237 líneas con androesterilidad citoplasmática (CMS; grupo heterótico B, GHB) de un programa de mejoramiento comercial. Para el genotipificado se utilizó un microarreglo de 16.497 SNPs y se seleccionaron los que presentaron una tasa de fallo inferior al 20%, una heterocigosis menor al 5% y una frecuencia mínima de alelos (MAF) del 5%. Esto resultó en 10.411 SNPs que se integraron en el mapa genético (densidad promedio: 7,5 SNP/cM). El análisis de estructura poblacional mostró dos subpoblaciones, en coincidencia con el agrupamiento *a priori* en GHR y GHB. Los valores medios de contenido de información polimórfica (PIC) en cada GH mostraron un mayor poder discriminativo en GHR (0,29) que en GHB (0,27). Los valores medios de diversidad genética en GHR y GHB fueron 0,37 y 0,34, respectivamente, sugiriendo que GHR es más diverso que GHB. Los valores medios de MAF, fueron 0,28 y 0,25 para GHR and GHB, respectivamente, indicando que GHB incluye más alelos raros que GHR. En general, los programas de mejoramiento de girasol tienen un número menor de líneas B que R, lo cual se atribuye a que el desarrollo de líneas B es un proceso más lento debido a que antes de construir las poblaciones de cruzamiento, los materiales deben convertirse a CMS. La información colectada será de utilidad para el desarrollo de estrategias de mejoramiento híbrido más eficientes.

GGM 24

DIVERSIDAD GENÉTICA DE CLONES DE *Cannabis sativa* L. DE USO TERAPÉUTICO A NIVEL REGIONAL

Landaburu M.¹, N. Norero², D. Villamonte³, S. Colman¹. ¹Laboratorio de Genética, Depto. de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina; ²Estación Experimental INTA Balcarce, Buenos Aires, Argentina; ³Instituto de Investigaciones Biológicas UE-UNMdP-CONICET, Buenos Aires, Argentina. E-mail: colmansilvana@gmail.com

Actualmente, existen cientos de genotipos diferentes de *Cannabis sativa* L. y todavía se siguen generando nuevos en los bancos de semillas alrededor del mundo. Muchos de ellos tienen ancestros comunes pero su composición química difiere y, por lo tanto, también su actividad biológica y propiedades para uso medicinal. Para la caracterización de variedades, los marcadores moleculares son relativamente más estables y eficientes que los marcadores morfológicos. Se han desarrollado marcadores microsatélites en *C. sativa* para la caracterización de diferentes cepas, su identificación y diferenciación, análisis de poblaciones y para estudios forenses. El objetivo de este trabajo fue caracterizar a nivel genético clones de *C. sativa* de uso regional. Se amplificó la secuencia de 10 microsatélites en cuatro clones de *C. sativa* de diferente quimiotipo y se analizó el número de alelos y haplotipos por locus a través de electroforesis en geles de poliacrilamida teñidos con plata. Se identificaron 31 alelos en los clones estudiados y la combinación de los mismos dio lugar a 18 patrones electroforéticos. En general, los clones fueron heterocigotas, con un máximo de dos alelos por locus. El microsatélite más polimórfico fue CANN_4, que resolvió cinco alelos y tres patrones electroforéticos, logrando diferenciar tres de los cuatro clones entre sí. Estos resultados remarcan la utilidad de los marcadores moleculares para el estudio de la diferenciación, identificación y trazabilidad de genotipos de *C. sativa* en estadios tempranos del desarrollo y como herramienta para la conservación de su diversidad.

GGM 25

NUEVA VARIANTE GENÉTICA DE *Xylella fastidiosa* Wells et al. EN OLIVO, *Olea europaea* L., DE ARGENTINA

Tolocka P.A., M.F. Mattio, F.A. Guzmán, M.L. Otero, M.E. Roca, R.M. Haelterman., Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola (UFyMA), Instituto de Patología Vegetal (IPAVE), CIAP-INTA, Córdoba, Argentina. E-mail: tolocka.patricia@inta.gob.ar

En Argentina, desde 2017, se realiza la caracterización de la bacteria *Xylella fastidiosa* a través del sistema de tipificación “Multilocus Sequence Typing” (MLST). Para este sistema se emplean siete genes constitutivos (*housekeeping*) pudiendo definir la subespecie y tipo de secuencia (ST) del patógeno. Hasta el presente, se detectó la subespecie *pauca* en almendros, cítricos y olivos provenientes de diferentes provincias del país, obteniendo dos ST: 69 (olivo, cítrico) y 78 (almendro, olivo). El objetivo del presente trabajo fue realizar nuevas caracterizaciones de la bacteria a partir de plantas de olivo enfermas, procedentes del Dpto. Cruz del Eje, Córdoba. Por PCR convencional se amplificaron los siete genes involucrados en la tipificación. Los productos obtenidos fueron secuenciados y analizados mediante los programas Chromas Lite 2.0.1 y BioEdit versión 7.2. Las secuencias obtenidas fueron analizadas y comparadas con las disponibles en la base de datos MLST *Xylella fastidiosa*, obteniendo en una de las muestras los siete alelos nuevos. La combinación de dichos alelos conformó un nuevo tipo de secuencia, ST90, sin poder determinar, por el momento, a qué subespecie pertenece. Con este resultado, sumamos un ST más de *X. fastidiosa* hallada en olivos de Argentina, mostrando la diversidad de la bacteria en este hospedante. Es importante realizar análisis poblacionales de *X. fastidiosa*, con la finalidad de conocer la evolución de este patógeno en nuestro país.

GGM 26

ANÁLISIS *IN SILICO* DEL GENOMA DE *Pectobacterium carotovorum* S2FC, PATÓGENO DE NOGAL (*Juglans regia* L. cv. Chandler)

Príncipe A.¹, I. Simone¹, M.L. Chiotta¹, G. Magris¹, F. Carrasco², P. Vera³, A. Abdala⁴, M.I. Ortiz¹. ¹Cátedra Genética General, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, UNRC, Río Cuarto, Córdoba, Argentina; ²EEA-Catamarca, Argentina; ³Unidad de Genómica, IABIMO, INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina; ⁴EEA-Bariloche, INTA-CONICET, Río Negro, Argentina. E-mail: aprincipe@exa.unrc.edu.ar

Las especies del género *Pectobacterium* son patógenas bacterianas necrotróficas, responsables de un amplio espectro de enfermedades en cultivos de importancia agrícola y de plantas ornamentales. *P. carotovorum* S2FC fue aislada a partir de plantas de nogal, *Juglans regia* L. cv. Chandler, con síntomas de cancrrosis en la provincia de Catamarca, Argentina. Con el objetivo de identificar determinantes genéticos que controlan la virulencia y su diversificación filogenética, se realizó un análisis genómico *in silico*. Para ello, la secuencia del genoma de *P. carotovorum* S2FC fue obtenida a partir de una biblioteca de DNA (kit DNA Prep-Illumina) empleando el secuenciador NovaSeq 6000. El ensamblado de las lecturas obtenidas se realizó con Unicycler v0.5.0. El tamaño del genoma estimado fue de 5,05 Mpb, con un %GC de 51,52. Un total de 79 contigs fueron obtenidos y 4.509 secuencias codificantes (CDS) fueron identificadas. La anotación automática se realizó con el software Prokka, y se empleó para obtener el Core-Genome. A partir de los genes del core (1.232) se realizó un alineamiento contra 14 genomas de *Pectobacterium* obtenidos de GenBank. El análisis demostró que S2FC se encuentra estrechamente relacionada con otras subespecies de *P. carotovorum*, entre ellas, *P. carotovorum subsp. actinidae* asociada a cancrrosis en pera y kiwi. Determinantes claves de la virulencia de esta cepa como, los sistemas de secreción, la estructura del flagelo y el sistema de “quorum sensing”, fueron identificados. Nuestros resultados proveen hallazgos novedosos en relación con la diversificación genética y la patogenicidad de esta cepa.

GGM 27

CONTROL DE ESPECIFICIDAD DE SECUENCIAS CANDIDATAS PARA SILENCIAMIENTO GÉNICO CON RNAi EN LA PLAGA DE LA VID, *Lobesia botrana*

Resa Jurin L., S. Gomez Talquenca. EEA Mendoza-INTA, Mendoza, Argentina. E-mail: resa.lucas@inta.gob.ar

Lobesia botrana, la principal plaga de la vid, fue introducida en Mendoza en el año 2010. Los productores locales se vieron obligados a realizar controles fitosanitarios, mediante confusión sexual, con un alto costo, o la aplicación de productos químicos insecticidas con fuerte impacto ambiental y riesgo para otros organismos. El control de plagas por silenciamiento genético con RNAi, surge como una alternativa más económica y de bajo o nulo impacto, por lo que el estudio y desarrollo de esta tecnología es primordial. En base a transcriptos conocidos de genes vitales para la supervivencia en otros lepidópteros, se seleccionaron secuencias candidatas para silenciar. El objetivo del trabajo, fue corroborar que dichas secuencias estén presentes en la plaga y además no exista un transcripto en otra especie que pueda ser silenciada de manera inespecífica. Para ello realizamos un estudio *in silico*, para comparar dichas secuencias con un transcriptoma de *L. botrana* ensamblado *de novo* en nuestro laboratorio y con transcriptomas de distintas especies que puedan verse afectadas. También se diseñaron *primers* para estas secuencias y se corroboró por PCR la presencia de los transcriptos en extractos de RNA de larvas del insecto. Los resultados muestran que las 10 secuencias evaluadas están presentes en el transcriptoma de la plaga, no así en el de las demás especies. Por lo que estos genes son candidatos para la evaluación como “*targets*” del silenciamiento genético por RNAi, suplementando larvas con dsRNA y evaluando la expresión de dichos genes y la sobrevivencia del insecto.