

GGM

**GENÓMICA
Y GENÉTICA
MOLECULAR**

**GENOMICS
AND MOLECULAR
GENETICS**

GGM 1

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE ALTERNATIVAS ANTIVIRALES EXPERIMENTALES CONTRA EL VIRUS DEL DENGUE (DENV)

Kachuk A.V.^{1,2,3*}, J.L. Lazarte^{1,2*}, M.E. Oneto^{1,2,3}, M.M. Miretti^{1,2,3}, S.L. Espindola^{1,2,3}. ¹Instituto de Biología Subtropical (IBS), CONICET – Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina; ²Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UNaM, Misiones, Argentina; ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. *han contribuido de igual manera al trabajo. sonialespindola@gmail.com

Misiones es una región endémica para varias arbovirosis transmitidas por vectores, como dengue (DENV), chikungunya (CHIKV) y zika (ZIKV). La posible introducción del virus Oropouche (OROV), por la cercanía con Brasil donde ya se notificaron casos, representa una amenaza, ya que sus síntomas son clínicamente similares al dengue, lo que complica el diagnóstico diferencial y la vigilancia epidemiológica. El desarrollo de vacunas contra arbovirosis ha sido un reto por la complejidad de los mecanismos de infección viral, cobrando importancia las estrategias terapéuticas alternativas. Ante la falta de modelos animales adecuados, los estudios con cultivos celulares se han convertido en un estándar en virología, permitiendo evaluar la eficacia de distintas estrategias antivirales. Se han puesto a punto dos alternativas con potencial contra DENV: por un lado, la quercetina, un flavonoide con alta biodisponibilidad y baja toxicidad; por otro, una estrategia innovadora que usa la ribonucleasa CRISPR/Cas13b para degradar el genoma viral, dirigida a regiones conservadas de los cuatro serotipos del DENV. Se determinó el rango óptimo de concentración (CC50) para la quercetina, buscando maximizar su eficacia y reduciendo la citotoxicidad. Luego de un análisis exhaustivo se obtuvo el diseño de gRNA específicos para regiones clave del virus como 3'UTR, 5'UTR y el gen NS5, con igual especificidad contra los cuatro serotipos virales y con un porcentaje bajo de sitios *off targets*. Se optimizó el ensayo MTT para evaluar viabilidad celular y citotoxicidad de los tratamientos con los dos enfoques. Estos resultados preliminares remarcan el potencial de estas estrategias antivirales para disminuir la carga de enfermedad.

GGM 2

EFFECTO DEL SILENCIAMIENTO DEL GEN *RELOJ PERIOD* EN GENES RELACIONADOS A RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN *Triatoma infestans*

Córdoba LE.^{1,2}, A.R. Pérez De Rosas^{1,2}, B.A. García², M.M. Stroppa^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Córdoba, Argentina; ²Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, CONICET-UNC, Córdoba, Argentina. lourdes.cordoba@unc.edu.ar

Se han reportado fallas en programas de control de *Triatoma infestans*, vector de la enfermedad de Chagas, debidas al desarrollo de resistencia a insecticidas piretroides. La resistencia se debe en parte a la sobreexpresión de genes que codifican las enzimas del citocromo P450, como CYP4EM7, que incrementan el metabolismo de insecticidas. Estas enzimas requieren electrones provistos por la NADPH citocromo P450 reductasa (CPR). Estudios previos en *T. infestans* demostraron ritmos diarios en la expresión de ambos genes, sugiriendo su regulación por el reloj biológico. Se propuso evaluar el efecto del silenciamiento del gen reloj *period* (*per*) mediante ARN de interferencia (ARNi) sobre la expresión diaria de los genes CYP4EM7 y CPR. Se realizaron tratamientos con ARNi con dos esquemas de alimentación diferentes. Posterior a la administración del ARNi, se constató por RT-qPCR el silenciamiento del gen *per* en tejido nervioso y se analizó el efecto en la expresión de los genes CYP4EM7 y CPR en cuerpo graso. Los resultados obtenidos mostraron que el silenciamiento del gen *per* fue más efectivo sin alimentación post-tratamiento. El silenciamiento de *per* redujo su expresión en todos los puntos temporales analizados y abolió su perfil rítmico en ambos sexos. Asimismo, se observó pérdida completa de ritmicidad en la expresión de los genes CYP4EM7 y CPR, lo que evidencia que el reloj biológico participa en su regulación. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis del control que ejerce el reloj biológico sobre genes relacionados con la resistencia a insecticidas.

GGM 3

PARTICIPACIÓN DE LOS MICROARNS EN LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN *Triatoma infestans*

Garzón A.M.¹, G.M. Nicolino¹, O.S. Alessandroni¹, L.E. Córdoba^{1,2}, C.J. Fernández¹, A.R. Pérez De Rosas^{1,2}, M.M. Stroppa^{1,2}.

¹Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Córdoba, Argentina; ²Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, CONICET-UNC, Córdoba, Argentina. mstroppa@unc.edu.ar

La resistencia a insecticidas de *Triatoma infestans* dificulta el control vectorial de la enfermedad de Chagas. En insectos, se ha demostrado que microARNs (miARNs) regulan genes implicados en la resistencia. Este trabajo propuso caracterizar miARNs en cuerpo graso de *T. infestans* susceptibles y resistentes a deltametrina, identificar los expresados diferencialmente y predecir sus genes blanco. A partir de secuenciación masiva se obtuvieron las secuencias de los miARNs y se realizó el análisis bioinformático con el *pipeline* nf-core/smrnaseq. La expresión diferencial se evaluó con el paquete EdgeR, la predicción de genes blanco se efectuó con los *softwares* PITA, Miranda, TargetSpy y Simple Seed Analysis y se determinó la ontología génica (GO). Se identificaron 93 miARNs ya conocidos en *Arthropoda* y se caracterizaron 66 nuevos. Alineamientos con miARNs de *Rhodnius prolixus* permitieron identificar 51 miARNs específicos del cuerpo graso de *T. infestans*. El análisis de expresión diferencial identificó miARNs que se expresan con diferencias significativas en la población resistente. Los genes blanco indican que estos miARNs regulan procesos y vías metabólicas vinculadas con la detoxificación, la autofagia, degradación de proteínas, sobreexpresión de transportadores ABC, metabolismo lipídico, y activación de la vía de insulina y proteínas de choque térmico. Estos hallazgos señalan que la resistencia a piretroides en el cuerpo graso de *T. infestans* es multifactorial e involucra adaptación metabólica, eliminación activa de toxinas y regulación del crecimiento celular.

GGM 4

PARTICIPACIÓN DEL MICROARN-71 EN LA REGULACIÓN DE LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN *Triatoma infestans*

Fernández C.J.¹, O.S. Alessandroni¹, M.M. Stroppa^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Córdoba, Argentina; ²Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, CONICET-UNC, Córdoba, Argentina. mstroppa@unc.edu.ar

Los microARNs (miARNs) regulan la expresión génica a nivel postranscripcional y en insectos han sido implicados en mecanismos de resistencia a insecticidas, incluyendo la modulación de genes relacionados con la detoxificación, el transporte y la formación de la cutícula. En particular, el miARN-71 ha sido asociado con la regulación de genes vinculados a la síntesis de quitina, donde su represión provoca un aumento en la expresión de la enzima *quitina sintasa* y media la resistencia a insecticidas al promover un engrosamiento de la cutícula. Para determinar la participación del miARN-71 en la resistencia a insecticidas en *Triatoma infestans*, principal vector de la enfermedad de Chagas de América del Sur, se propuso analizar la expresión del miARN-71 en poblaciones susceptible y resistente e identificar sus genes blanco. Se utilizó la técnica de Stem-Loop RT-qPCR para determinar la expresión del miARN-71 en cuerpo graso de ninfas del estadio V de ambas poblaciones. La predicción de genes blanco y el análisis de interacción se realizaron empleando los programas sRNAtoolbox y RNAhybrid. La población susceptible presentó un nivel de expresión del miARN-71 significativamente superior a la resistente. El análisis bioinformático de predicción de genes blanco e interacción mostró regiones exactas de hibridación entre el miARN-71 y el transcripto de *quitina sintasa*. Estos resultados evidencian que la expresión del gen *quitina sintasa* estaría bajo la regulación del miARN-71 en *T. infestans* y condicionaría la susceptibilidad a insecticidas en este vector.

GGM 5

ESTUDIO DE LOS HOSPEDADORES DEFINITIVOS DEL PARÁSITO *Sarcocystis aucheniae*: DETERMINACIÓN DE ESPECIE DE CÁNIDO EN MUESTRAS AMBIENTALES DE MATERIA FECAL

Baldoni Guerrero D.^{1,2}, C. Vargas Tacuri³, S. Giuliano⁴, J. Luis Malaga³, X. Barriga Marcapura³, M. Chavez- Fumagalli³, J. Reategui Ordoñez³, L. Schnittger^{1,2}, M. Florin- Christensen^{1,2}.

¹Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Morón, Buenos Aires, Argentina; ²Instituto de Patobiología Veterinaria, INTA-CONICET, Argentina; ³Vicerrectorado de Investigación, Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú; ⁴Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. debobaldoni12@gmail.com

Para determinar el ciclo de vida de un agente infeccioso de transmisión fecal-oral es imperativo identificar al hospedador que liberó las heces al ambiente. Una región hipervariable del ADN mitocondrial permite determinar si una muestra fecal proviene de un cánido e identificar la especie. Este marcador mitocondrial fue utilizado para analizar siete muestras fecales, presumiblemente de cánidos, obtenidas en campos alpaqueros de Arequipa y Puno, Perú. Previamente, las muestras resultaron positivas a *Sarcocystis aucheniae* por observación microscópica de esporoquistes en flotante de sacarosa, seguida de extracción de ADN y PCR especie-específica. Para identificar la especie hospedadora, se extrajo ADN de una alícuota fecal y se amplificó por PCR. Luego de verificar la presencia de productos del tamaño esperado (359 pb) por electroforesis en gel de agarosa, se realizó su secuenciación. El análisis por BLASTn demostró que las muestras provenían de perro (*Canis lupus familiaris*). Si bien estudios experimentales en perros con *S. aucheniae* indicaban a este cánido como hospedador definitivo, faltaban estudios de muestras de campo para confirmarlo. *Sarcocystis aucheniae* produce quistes macroscópicos en músculos esqueléticos de camélidos sudamericanos, impidiendo la comercialización de su carne. Estos actúan como hospedadores intermediarios del parásito al ingerir pasturas contaminadas con esporoquistes presentes en heces de los hospedadores definitivos. En este contexto, los perros cumplen un rol central en la transmisión ambiental del parásito. Identificar al perro como hospedador definitivo permite entender el vínculo epidemiológico entre cánidos y camélidos en zonas de producción y el ciclo del parásito, fundamentales para diseñar estrategias de control.

GGM 6

VARIANTES GENÉTICAS EN *BAX*, *BCL2* Y *CD274* EN MUJERES JÓVENES DIAGNOSTICADAS CON CÁNCER DE MAMA

Acosta K.B.¹, M.S. Esnarriaga¹, C.A. Ferri¹, G.T. Carra¹, D.A. Rivero^{1,2}. ¹Instituto de Biotecnología de Misiones "Dra. María Ebe Roca" (InBioMis), Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina. acostakb@fceqyn.unam.edu.ar

El cáncer de mama (CM) se encuentra entre las neoplasias malignas más frecuentes en mujeres a nivel mundial. En los últimos 10 años se ha evidenciado un incremento en la incidencia de casos en mujeres jóvenes (edad \leq 50 años) con resultados negativos para los paneles genéticos convencionales. Esto sugiere que existen otros genes adicionales implicados en la carcinogénesis temprana. El presente trabajo propone determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de tres variantes en genes candidatos implicados en mecanismos de supervivencia celular (*BAX*- rs4645878 y *BCL2*- rs2279115) y de respuesta inmunitaria (*CD274*- rs2297136). Para ello, se extrajo ADN a partir de sangre periférica de 28 mujeres con edad \leq 50 años diagnosticadas con CM y provenientes de distintas localidades de la provincia de Misiones. Las muestras fueron genotipificadas mediante ARMS-PCR utilizando cebadores alelo específicos y los resultados de amplificación fueron verificados en electroforesis en geles de agarosa al 2%. Las frecuencias genotípicas y alélicas observadas fueron para la variante rs4645878: GG: 0,78; GA: 0,11; AA: 0,11 y p(G): 0,84; q(A): 0,16; para la variante rs2279115: CC: 0,21; CA: 0,57; AA: 0,21 y p(C): 0,5; q(A): 0,5; y para la variante rs2297136: AA: 0,21; AG:0,71; GG:0,07 y p(A): 0,57; q(G): 0,43. Estos resultados muestran una alta frecuencia de heterocigotas para las variantes rs2279115 y rs2297136 en la población analizada. Los datos obtenidos contribuyen a la caracterización genética de las mujeres jóvenes diagnosticadas con CM en la provincia de Misiones.

GGM 7

FRECUENCIA DE LA VARIANTE RSI2573787 DEL GEN *PTEN*-LONG EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y CÁNCER

Rivero D.A.^{1,2}, K.B. Acosta¹, G.T. Carra¹, M.S. Esnarriaga¹, C.A. Ferri¹. ¹Instituto de Biotecnología de Misiones "Dra. María Ebe Rca", Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina. donovanrivero@gmail.com

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una patología crónica caracterizada por deficiencia en la secreción de insulina y/o resistencia a la misma en órganos diana, alterando principalmente el metabolismo de glucosa. Diversos estudios la han asociado con el desarrollo de diversos tipos de cáncer. El gen *PTEN* codifica la proteína PTEN (403aa) que controla el metabolismo de nutrientes y crecimiento celular. Variaciones en su expresión la relacionarían a alteraciones en el metabolismo y al desarrollo de cáncer. Su isoforma *PTEN*-long (576aa) puede ser secretada e internalizada por otras células. La variante rs12573787 (c.10G>A) influiría en su expresión. El objetivo fue analizar las frecuencias alélicas y genotípicas de la variante rs12573787 del gen *PTEN*-Long. Se extrajo ADN de sangre periférica de pacientes con DMT2 y cáncer (37) con cáncer (43) DMT2 (47) y controles (36) y se genotipificaron mediante ARMS-PCR, utilizando cebadores alelo específicos. Los amplicones se revelaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio. Las frecuencias genotípicas observadas para DMT2 y cáncer, cáncer, DMT2 y controles fueron AA:0,027, AG: 0,757, GG: 0,216; AA:0,093, AG: 0,488, GG: 0,418; AA:0,02, AG: 0,45, GG: 0,53 y AA:0,03, AG: 0,61, GG: 0,36, respectivamente. Las frecuencias alélicas fueron G: 0,595 y A: 0,406; G: 0,662 y A: 0,337; G: 0,755 y A: 0,245 y G: 0,665 y A: 0,335, respectivamente. Estos resultados muestran una alta frecuencia de la variante rs12573787 en las poblaciones analizadas, con un predominio de individuos heterocigotas, excepto en DMT2 donde fue mayor la frecuencia de individuos homocigotas (GG).

GGM 8

VARIANTE PATOGENICA EN *NTHL1*: CONSIDERACIONES PARA EL ABORDAJE TERAPÉUTICO

Espindola R.¹, M. Gamarra¹, B. Brizuela¹, M.S. Vera¹. ¹Instituto de Genética Humana de Misiones, Misiones, Argentina. marceverita@gmail.com

Las variantes patogénicas en el gen supresor de tumores *NTHL1*, involucrado en la reparación del ADN, se asocian a predisposición al cáncer hereditario y susceptibilidad al desarrollo de neoplasias múltiples ya que promueve la inestabilidad genómica, especialmente tras exposición a agentes citotóxicos. Se describe un caso inusual de una paciente de sexo femenino diagnosticada con leiomiomas uterino a la cual se le detectó la variante en heterocigosis c.244C>T *NTHL1* clasificada como patogénica. Luego del tratamiento la paciente presentó una evolución agresiva, sin respuesta a inhibidores de tirosina kinasa convencionales, a asciminib, ni a adyuvancia terapéutica con adriamicina. Posteriormente se evidenció una evolución oncohematológica con desarrollo de leucemia mieloide crónica (LMC) BCR-ABL positiva. La falta de respuesta al tratamiento convencional plantea un posible vínculo entre esta alteración genética y la resistencia terapéutica observada. Este caso plantea importantes interrogantes clínicos: ¿cómo deben vigilarse y tratarse los pacientes con mutaciones en genes de reparación del ADN, como *NTHL1*, que han sido expuestos a tratamientos oncológicos? ¿Debe considerarse el perfil genético como un factor clave en la selección terapéutica y en la toma de decisiones sobre tratamientos agresivos como el trasplante de médula ósea?, y además resalta la necesidad de una evaluación genética integral en pacientes con cáncer, especialmente aquellos que desarrollan segundas neoplasias. Se requieren estudios adicionales para comprender mejor el impacto del tratamiento oncológico en estos contextos genéticos.

GGM 9

ESTUDIO DE MICROARNS MEDIANTE CEBADORES STEM-LOOP EN CÉLULAS ESTROMALES Y VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA HIPERPLASIA PROSTÁTICA

Díaz A.E.¹, J.F. Romero Humacata¹, M. López Seoane², A.A. Quintar¹, F.F. Roldán Gallardo³. ¹Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Córdoba, Argentina; ²Sanatorio Allende (Sede Nueva Córdoba), Córdoba, Argentina; ³Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, CONICET-UNC, Córdoba, Argentina. francoroldan.055@gmail.com

La hiperplasia prostática (HP) es una condición proliferativa asociada al envejecimiento, modulada por mecanismos hormonales. La testosterona (T), hormona esencial en el desarrollo prostático, puede tener un efecto antiproliferativo por vía citoplasmática o proproliferativo mediante receptores de membrana. Se ha demostrado que las vesículas extracelulares (EVs), transportadoras de biomoléculas como microARNs (miARNs), contribuyen a la proliferación de células prostáticas en el microambiente hiperplásico. Por ello, se planteó que T regula la proliferación de células estromales prostáticas humanas (CEPH) a través de miARNs transportados por EVs. El objetivo fue analizar la expresión por qPCR de miR-21 (proproliferativo) y miR-let-7a (protector) en CEPH y EVs de CEPH de pacientes con HP (n=5, Sanatorio Allende, Córdoba) en condiciones control, T (vía citoplasmática) y T-BSA (vía de membrana) por 24 h. Se evaluó la proliferación de CEPH y la inducida por EVs (*pellet* 150k) sobre CEPH por Ki-67 y se extrajo ARN de CEPH y EVs. Se diseñaron cebadores *stem-loop* para retrotranscripción de miARNs, con miR-191 como control endógeno. Se aplicó ANOVA y test de Tukey ($p < 0,05$). T-BSA aumentó la proliferación de CEPH ($p < 0,01$), la liberación de EVs (~45 nm, $p < 0,01$) y la proliferación inducida por EVs ($p < 0,05$). Se observaron cambios en la expresión de miARNs, no siempre significativos, pero con asociación entre CEPH y sus EVs. Los resultados destacan el rol de las EVs como reflejo del estado celular y fuente de posibles biomarcadores para la HP.

GGM 10

ANÁLISIS DEL VIROMA DE ARN DE *Gyropsylla spegazziniana* (LIZER Y TRELLES), PRINCIPAL PLAGA DE LA YERBA MATE

Candia Y.G.^{1,2}, V. Nahirñak^{1,2}, A. Badaracco^{1,2}, H. Debat³, M.E. Schapovaloff^{1,2}, N.E. Bejerman^{2,3}. ¹Estación Experimental Agropecuaria Montecarlo, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Misiones, Argentina; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina; ³Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola, INTA, Córdoba, Argentina. candia.gisel@inta.gov.ar

El cultivo de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) representa una de las actividades económicas más importante del noreste argentino. El psílido *Gyropsylla spegazziniana* es una de las principales plagas de este cultivo. En este estudio, se empleó la secuenciación de alto rendimiento en muestras de ninfas y adultos para caracterizar el viroma de *G. spegazziniana*. Se identificaron cinco nuevos virus pertenecientes a distintas familias, los cuales están relacionados evolutivamente a *beny-like viruses* (*Benyviridae*), *sobemo-like viruses* (*Solemoviridae*) y *picorna-like viruses* (*Picornavirales*). El análisis filogenético ubicó al *beny-like virus* dentro de un clado de *beny-like viruses* asociados a insectos, mientras que el *picorna-like virus* se agrupó con otros *picorna-like viruses* relacionados con psíidos. Los tres bi-segmentados *sobemo-like virus* identificados, son altamente divergentes, y mostraron trayectorias evolutivas distintivas, con proteínas codificadas situadas en los márgenes de los recientemente descritos Sobelivirales asociados a invertebrados. Para validar su presencia, se diseñaron oligonucleótidos específicos para tres de los virus candidatos y fueron evaluados mediante RT-PCR en psíidos colectados en campo (ninfas y adultos). Los productos amplificados fueron secuenciados para confirmar identidad. Estos hallazgos ofrecen nuevos conocimientos sobre el viroma de *G. spegazziniana* y sientan las bases para estudios futuros sobre los roles ecológicos y el potencial uso de estos virus como herramientas de control biológico de esta plaga.

GGM 11

PLASTOMAS DE ESPECIES FORESTALES DE LOS BOSQUES SECOS ESTACIONALES NEOTROPICALES: ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y RELACIONES FILOGENÓMICAS EN LA SUBFAMILIA CAESALPINIOIDEAE (LEGUMINOSAE)

Barrandeguy M.E.^{1,2}, M.V. Sánchez Puerta³, V.Y. Mogni⁴, M.E. Roulet³, L.M. Gatica Sorica³, M.V. García^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina.; ²Instituto de Biología Subtropical-Nodo Posadas, UNaM – CONICET, Misiones, Argentina.; ³Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, Universidad Nacional de Cuyo – CONICET, Mendoza, Argentina.; ⁴Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina. ebarran@fceqyn.unam.edu.ar

Los Bosques Secos Estacionales Neotropicales albergan especies forestales de la subfamilia Caesalpinioideae, entre ellas *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan, *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong., *Chloroleucon tenuiflorum* (Benth.) Barneby & J.W. Grimes, *Peltophorum dubium* (Spreng) Taub. y *Senegalia praecox* (Griseb.) Seigler & Ebinger. En el presente estudio se analizan los genomas cloroplásticos completos (plastomas) de dichas especies para comprender su organización genómica estructural y evaluar sus relaciones filogenéticas. Los plastomas de las seis especies fueron secuenciados utilizando tecnología Illumina, ensamblados y anotados *de novo* utilizando como referencia los plastomas de especies filogenéticamente cercanas. Se realizó un análisis filogenómico incorporando los plastomas de 90 especies de la subfamilia Caesalpinioideae disponibles en GenBank y el plastoma de *Styphnolobium japonicum* como *outgroup*. Los genomas ensamblados presentaron una longitud entre 161.827 y 177.406 pb y presentaron la estructura cuatripartita característica. Los plastomas de las especies analizadas presentaron 110 a 115 genes, incluyendo 79 genes codificantes de proteínas, 27 a 32 ARNt y 4 ARNr. Se alinearon los 97 plastomas y el análisis filogenómico fue realizado empleando el método *Maximum likelihood* con 1000 *bootstrap*. En el árbol filogenético los nodos presentaron soporte robusto y se definieron relaciones filogenéticas entre las especies concordantes con la última clasificación taxonómica de la subfamilia Caesalpinioideae.

GGM 12

DETECCIÓN DE SNPS POR ddRADseq EN UNA POBLACIÓN DERIVADA DE PROGENITORES TETRAPLOIDES DE *Paspalum notatum* DISCREPANTES PARA CRECIMIENTO INVERNAL

Ponce N.A.^{1,2}, N.C. Aguirre³, P. Vera³, G.R. Rodríguez^{4,5}, V. Cambiaso^{4,5}, M.V. Almeida¹, E.A. Brugnoli^{1,2}, F. Marcon^{1,2}, A.L. Zilli^{1,2}, C.A. Acuña^{1,2}, E.J. Martínez^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Corrientes, Argentina.; ²Instituto de Botánica del Nordeste, CONICET-UNNE, Corrientes, Argentina.; ³Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, CONICET-INTA, Buenos Aires, Argentina.; ⁴Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Rosario (UNR) – CONICET, Santa Fe, Argentina.; ⁵FCA, UNR, Santa Fe, Argentina. nahuel0ponce10@gmail.com

Paspalum notatum Flüggé, especie nativa de Sudamérica, es un modelo para estudiar el crecimiento invernal (CI) y la identificación de las bases genéticas en especies forrajeras de clima cálido. La genotipificación por secuenciación de ADN asociada a sitios de restricción con doble digestión (ddRADseq) es un método eficiente para identificar un alto número de polimorfismos de nucleótido único (SNPs). El objetivo fue identificar SNPs en una población segregante para CI de *P. notatum* (182 híbridos y dos progenitores). De cada individuo, se extrajo el ADN por metodologías recomendadas para la especie. Las muestras de ADN se secuenciaron con un equipo Illumina NOVA seq 600. El análisis bioinformático de los datos incluyó: control de calidad (FASTQC); demultiplexado y filtrado de lecturas (Stacks v2.62); alineamiento al genoma de referencia de *P. notatum* var. *saurae* (PRJNA105536) con Bowtie2 v2.5.4 y llamado de variantes para generar un archivo VCF. Se obtuvieron un total de 5,18 millones de lecturas apareadas de buena calidad con un largo promedio de 150 pb. Se obtuvo una tasa de alineamiento del 72,5% con el genoma de referencia. Además, se obtuvieron 265.285 loci y se identificaron 485.228 SNPs en progenitores y progenie, con una profundidad de cobertura promedio por sitio de 6X y por individuo de 21X. La metodología ddRADseq y el análisis bioinformático implementado permitieron obtener un valioso conjunto de marcadores SNPs, fundamentales para futuros estudios de mapeo de QTLs asociados al CI y para la selección asistida en el mejoramiento de *P. notatum*.

GGM 13

EVALUACIÓN DE MÉTODOS PANGENÓMICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GENES *BES/BZR* EN DOS CULTIVARES DE *Arachis hypogaea* L.

Marichich P.^{1,2}, J.G. Seijo^{1,3}, S.S. Samoluk^{1,3}. ¹Facultad de Ciencias Naturales y Exactas y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina; ²Universidad Nacional del Chaco Austral; ³Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-CONICET). paulamarichich@gmail.com

La identificación de familias génicas es crucial para comprender la base genética de la regulación de diferentes rasgos fenotípicos. Sin embargo, debido a la complejidad de algunos genomas vegetales, como el del aloploiploide *Arachis hypogaea* (AABB), una de las oleaginosas más importantes cultivadas en áreas cálidas del mundo, los resultados obtenidos por diferentes aproximaciones bioinformáticas pueden ser variables. En este trabajo se comparó el rendimiento de tres programas de análisis pangenómico (Bitácora, Pandagma y OrthoFinder) en la identificación de genes pertenecientes a la familia génica *BES/BZR* a partir de las secuencias recuperadas de la base de datos PeanutBase, en los cv. Bailey II y Tifrunner de *A. hypogaea*. Para ello, se calcularon métricas como exactitud, precisión, especificidad, sensibilidad, tasa de falsos positivos y puntaje F1. Se recuperaron nueve, cinco y siete genes del núcleo pangénico, y dos, cuatro y un gen accesorios mediante Bitácora, Pandagma y OrthoFinder, respectivamente. Los tres programas mostraron valores similares en sensibilidad, especificidad y exactitud. Sin embargo, OrthoFinder y Pandagma presentaron un mejor rendimiento global, destacándose por su menor tasa de falsos positivos y mayor puntaje F1. Por su parte, Bitácora identificó un mayor número de verdaderos positivos, aunque con un incremento en la tasa de falsos positivos debido a la detección de algunos elementos con los dominios *BES/BZR* truncados. En este sentido, si bien OrthoFinder y Pandagma mostraron los mejores resultados para la recuperación de genes más conservados, Bitácora permitió recopilar una mayor diversidad de secuencias relacionadas con genes *BES/BZR*.

GGM 14

ACTIVACIÓN DE RETROTRANSPOSONES LTR INDUCIDA POR CAMBIOS EN LA PLOIDÍA EN ESPECIES SILVESTRES DE PAPA

Cara N.¹, C. Arancibia^{1,2}, R. Masuelli^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo), Mendoza, Argentina; ²Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, CONICET-UNCuyo, Mendoza, Argentina. rmasuelli@fca.uncu.edu.ar

La papa cultivada (*Solanum tuberosum* L.) es una especie tetraploide. A lo largo de la región cordillerana de los Andes, existen alrededor de 100 especies silvestres de papa (*Solanum* sección Petota), que varían desde diploides hasta hexaploides y presentan frecuentes eventos de hibridación interespecífica. Se ha demostrado que tanto los cambios en el número de cromosomas (poliploidía y aneuploidía) como la hibridación, afectan la movilidad de elementos transponibles (TEs), lo que a su vez podría generar variabilidad fenotípica. Estos procesos aún no han sido explorados exhaustivamente en las especies silvestres de papa. En este estudio, se evaluó la actividad de retrotransposones LTR (superfamilias Copia y Gypsy) en un modelo experimental de *Solanum kurtzianum* Bitter & Wittm., comparando un genotipo diploide y dos autotetraploides obtenidos por duplicación química. Para determinar los sitios de inserción de TEs, se amplificaron fragmentos con un extremo en un LTR (10 primers) y el otro en un sitio de corte EcoRI. Se construyeron bibliotecas que se secuenciaron por Illumina PE150. Más del 94,8% de las lecturas pudieron ser mapeadas contra el genoma de *S. tuberosum*. En total se detectaron más de 846 sitios nuevos de inserción; cada individuo presentó entre tres y 624 inserciones exclusivas correspondientes a un mismo TE. Todos los TEs mostraron inserciones nuevas, algunas compartidas entre ambos tetraploides y otras exclusivas. Se determinó su localización respecto a regiones codificantes a fin de realizar futuros estudios de expresión en genes cercanos a los sitios de inserción.

GGM 15

FILOGENÓMICA EN ESPECIES DE CESTROIDEAE (SOLANACEAE) Y ANÁLISIS COMPARATIVO DEL ADN REPETITIVO

Maldonado L.; M.A. Sader¹; J.D. Urdampilleta¹. ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, CONICET – Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. lmaldonado@imbiv.unc.edu.ar

Los géneros *Cestrum*, *Sessea* y *Vestia* (tribu Cestreae) junto con *Browallia*, *Salpiglossis* y *Streptosolen* integran la subfamilia Cestroideae. Con el objetivo de esclarecer las relaciones filogenéticas dentro del grupo, en el presente trabajo se analizaron datos de secuenciación genómica, propios y de dominio público, de 15 especies: *Vestia foetida* (Ruiz & Pav.) Hoffmanns., *Browallia americana* L., *Salpiglossis sinuata* Ruiz & Pav., *Streptosolen jamesonii* (Benth.) Miers, nueve especies de *Cestrum* L y dos de *Sessea* Ruiz & Pav.. Los plastomas se ensamblaron y anotaron tomando como referencia el de *Petunia exserta*, luego se alinearon para realizar el análisis filogenético con RAxML, que permitió obtener un árbol robusto. Los plastomas presentaron una estructura típica cuatripartita, con un tamaño promedio de 157.013 pb, perteneciendo el mayor a *Sessea herzogii* (157.645 pb) y el menor a *S. sinuata* (156.463 pb). El número de genes funcionales varió entre 132 y 133 por especie. Paralelamente, se analizó la fracción repetitiva del ADN nuclear (ADNrep) de manera individual y comparativa, mediante RepeatExplorer2. Se observó una composición diversa en el ADNrep, dominado por elementos transponibles (Ty1_copia y Ty3_gypsy) y un satelitoma complejo (112 OSF-superfamilias ortólogas). El análisis de clusters, junto con la filogenia, permitió estimar la señal filogenética (λ) de los distintos tipos de ADN repetitivo. Este trabajo sugiere la existencia de señal filogenética en la abundancia de ciertos elementos repetitivos, aunque es necesario considerar que la evolución del ADNrep puede ser compleja a lo largo de la distribución de la especie y estar influida por factores adicionales.

GGM 16

SECUENCIAS BARCODE DE POLILLAS (LEPIDOPTERA: HETEROCERA) DEL PARQUE NATURAL MUNICIPAL GRUTA INDIA, MISIONES

Figueredo H.S.¹, C.I. Fernández Díaz¹. ¹Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQYN), Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina. hernans.figueredo@fceqyn.unam.edu.ar

El ADN *barcode* es una herramienta que se utiliza para identificar especies biológicas mediante secuencias estandarizadas del gen mitocondrial COI. El Parque Natural Municipal Gruta India (PNMGI), en Misiones, se encuentra en una zona de transición entre dos ecorregiones, o ecotono, que actúa como reservorio de diversidad específica, albergando linajes únicos o poco representados. Dado este contexto, el objetivo principal del trabajo fue identificar la diversidad de polillas (Lepidoptera: Heterocera) en el PNMGI, mediante la secuenciación del gen mitocondrial COI. Se analizaron 70 ejemplares adultos colectados con luz UV en muestreos estandarizados durante doce meses. Se delimitaron unidades operativas taxonómicas moleculares (MOTUs) utilizando la plataforma Barcode of Life Data Systems (BOLD). Se generó un árbol filogenético utilizando el algoritmo Neighbor-Joining de BOLD, en donde se obtuvieron secuencias de alta calidad, con longitudes mayores a 450 pb. La plataforma BOLD identificó 59 MOTUs. Algunas secuencias mostraron similitud parcial (<98%) con registros existentes, lo que sugiere la presencia de linajes poco representados o posiblemente nuevos. Cabe destacar que el árbol filogenético reveló agrupamientos consistentes entre MOTUs, respaldando su delimitación molecular. Este estudio constituye uno de los primeros relevamientos moleculares de polillas en esta zona de transición y demuestra la utilidad del DNA *barcode* como herramienta rápida y eficiente para detectar diversidad críptica en áreas submuestreadas.

GGM 17

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE UN AISLAMIENTO DEL GÉNERO *Fomes* CON POTENCIAL PARA LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

Coniglio R.O.^{1,2}, R.D. Albornoz¹, M.P. Barengo^{1,2}, M.L. Castrillo^{1,2}, G.A. Bich^{1,2}, E.O. Albertó³, P.D. Zapata^{1,2}. ¹Instituto de Biotecnología Misiones "María Ebe Reca" (INBIOMIS), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQyN), Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina; ³Instituto Tecnológico de Chascomús, CONICET-Universidad Nacional de San Martín, Buenos Aires, Argentina. rubenard_1990@outlook.com

El género *Fomes* incluye hongos con potencial biotecnológico y farmacológico. Para aprovechar su potencial, son necesarios estudios para identificar precisamente los especímenes aislados y caracterizar sus capacidades bioactivas. El objetivo de este trabajo fue identificar molecularmente un aislamiento recolectado en Misiones y caracterizar su crecimiento miceliar. El aislamiento LBM293 (depositado en INBIOMIS, FCEQyN, UNaM) se cultivó en medio líquido con extracto de malta 12,7 g L⁻¹ durante 21 días. Se extrajo ADN a partir del micelio y se amplificaron las regiones ITS1, 5.8S e ITS2 mediante PCR empleando los cebadores ITS1 e ITS4. El ADN genómico y los productos de PCR se visualizaron mediante geles de agarosa 2%. Los fragmentos de PCR se secuenciaron (MACROGEN, Corea), se editaron con el programa Geneious y se compararon con la base de datos usando BLASTn (NCBI). Se reconstruyeron árboles filogenéticos con el programa MEGA6, utilizando los métodos Neighbor-Joining y Máxima Verosimilitud, con un Bootstrap de 1000 réplicas. Para obtener la curva de crecimiento, un taco conteniendo micelio y agar se depositó en el centro de placas de Petri (por duplicado) y se midió el diámetro de crecimiento en el tiempo, alcanzando los 8,5 cm de diámetro a los 21 días. Se obtuvo ADN en cantidad y calidad suficiente. La secuencia (número de acceso GenBank: PV691512) mostró un 100% de identidad y se agrupó en el clado monofilético de *Fomes fasciatus* con un Bootstrap de 99, por lo cual la cepa LBM293 se identificó como *Fomes fasciatus*.

GGM 18

ESTRATEGIAS PARA CARACTERIZAR Y CUANTIFICAR LAS HISTONAS EN FASE SÓLIDA, SIN ANTICUERPOS

Morales A.¹, C. Massé Ederra², R. García³, F. Baralle³, J. Saklatvala⁴, T. Santa Coloma⁵, C.J.A. Asensio^{3,4,5}. ¹Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; ²Universidad Argentina de la Empresa, Buenos Aires, Argentina; ³International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Trieste, Italia; ⁴Imperial College London, Reino Unido; ⁵CONICET, Argentina. cris-asen@live.com.ar

Las histonas son reguladas por varias modificaciones químicas covalentes, con impacto epigenético. Las histonas se pueden estudiar por electroforesis, identificando modificaciones con anticuerpos (Acs) específicos, espectrometría de masa, etc. Sin embargo, faltan reactivos y Acs comerciales pan-histona que detecten con poco sesgo y simultáneamente, las cinco clases de histonas separadas por SDS-PAGE y transferidas a membranas. Eso cuantificaría el nivel de las modificaciones contra el de histonas (normalización). Para ello, se plantearon estrategias para detectar a las cinco histonas en blots análogos al immunoblot, pero sin Acs, mediante novedosos colorantes visibles/fluorescentes y polímeros aniónicos etiquetados. Para extraer proteínas celulares, se optimizó la lisis rápida de varias líneas celulares, sin sonicador ni inhibidores, mediante una formulación especial y fragmentando el ADN sin perder histonas. Resolvimos a las cinco en geles sin urea, monitoreando la electroforesis en tiempo real con reactivos especiales de seguimiento. Para los blots, se optimizaron las formulaciones para bloqueantes, colorantes y polímeros. Se evitó la acetilación y esterificación artificial de histonas, usando colorantes sin alcohol ni ácido acético, normalizando contra proteínas totales. Complementando los blots, se desarrolló una superficie para protein arrays y un radiomarcado in vitro para histonas citosólicas, detectable en geles. Con estas metodologías complementarias estudiaremos histonas nucleares y citosólicas y sus interacciones con moléculas sintéticas, colorantes, proteínas, Acs, ADN y ARN.

GGM 19

BENZIMIDAZOLE RESISTANCE IN ARGENTINIAN CATTLE GASTROINTESTINAL NEMATODES BY NEMABIOME METABARCODING AND β -TUBULIN DEEP AMPLICON SEQUENCING

Maté L¹, C. Canton¹, E. Redman², M. Ballent¹, C. Lanusse¹, L. Alvarez, J. Gilleard², L. Lirón¹. Laboratorio de Farmacología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), UNCPBA-CICPBA-CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias, Tandil, Argentina; ²Department of Comparative Biology and Experimental Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Calgary, Canadá. juanpedroliron@gmail.com

The convergence of our understanding of the molecular mechanisms underlying anthelmintic resistance with advances in sequencing technologies has enabled the development of molecular approaches for resistance diagnosis. The aim of this study was to evaluate the benzimidazole (BZD) resistance status of gastrointestinal nematode (GIN) species infecting cattle. To achieve this we conducted the first genomic identification and study of BZD resistance status of GIN species infecting cattle across six commercial farms in Buenos Aires, Argentina, using ITS-2 and β -tubulin isotype-1 genes sequencing. Seven GIN species were identified: *H. placei* (64.1%), *C. punctata* (26.6%), *O. radiatum* (3.6%), *O. ostertagi* (3.5%), *H. contortus* (1.1%), *C. oncophora* (0.9%) and *T. axei* (0.2%). Screening for SNPs identified 4 BZD-resistant polymorphisms: F167Y, E198A, E198L and F200Y. *C. punctata*, *C. oncophora*, *H. contortus*, and *O. ostertagi* harbored one or more of BZD resistant alleles, whereas *H. placei* and *T. axei* have only susceptible alleles. *Ostertagia ostertagi* population have undergone strong selective pressure as a results of BZD administration. By contrast, *C. punctata* exhibited high richness in susceptible and resistant alleles both before and after BZD treatment, suggesting that this species has not undergone strong selective pressure. Monitoring the prevalence and geographic distribution of β -tubulin gene polymorphisms associated with BZD resistance is essential for detecting and tracking the emergence and spread of resistance.