

GV

**GENÉTICA
VEGETAL**

**PLANT
GENETICS**

GV 1

ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL DE GENES INVOLUCRADOS EN LA SÍNTESIS DE ANTIOXIDANTES EN YERBA MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.)

Preussler A.V.¹, M.M. Miretti¹, J.V. Fay¹. ¹Grupo de Investigación en Genética Aplicada, Instituto de Biología Subtropical, Universidad Nacional de Misiones – CONICET, Misiones, Argentina. preusslervale26@gmail.com

Las infusiones de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) presentan alto contenido de polifenoles, compuestos antioxidantes con demostrada utilidad en la protección contra estrés oxidativo y prevención de enfermedades crónicas y degenerativas. Estudios en otros cultivos de interés han mostrado una correlación positiva entre la expresión de genes asociados a la síntesis de estos compuestos y su acumulación. En *I. paraguariensis* esta relación no ha sido aún explorada. El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión de dos genes (*CHS* y *4CL*) involucrados en pasos iniciales de la vía de síntesis de polifenoles en plantas de yerba mate con contenido contrastante (alto-bajo) de estos compuestos, para identificar potenciales diferencias en los niveles de expresión entre estos fenotipos. Para ello, se estimó la expresión génica a partir de ensayos de qPCR, empleando como molde ADNc de hojas de plantas de yerba mate identificadas por su alta o baja producción de polifenoles. Ambos genes mostraron expresión génica diferencial, con un incremento en su expresión en plantas con alta concentración de polifenoles. Estos hallazgos representan el primer análisis de expresión génica asociada a la síntesis de polifenoles en esta especie. Los datos obtenidos proporcionan información relevante para futuras investigaciones con el objetivo de comprender mejor los mecanismos moleculares involucrados en la producción de antioxidantes en yerba mate y así optimizar la producción de estos compuestos de interés para la salud humana.

GV 2

ANÁLISIS DE SSRs DISEÑADOS EN LA REGIÓN DE UN QTL DE RESISTENCIA A LA ROYA DE LA HOJA DE TRIGO

Cuyeu A.^{1,2}, S. Obregon³, J. Vrdoljak³, C. Randazzo³, J. Salerno¹, M. Pergolesi¹, L.R. Ingala¹, F. Sacco¹, M. Dieguez¹. ¹Instituto de Genética Ewald A. Favret, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina; ²Escuela Superior de Ingeniería, Informática y Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Morón, Buenos Aires, Argentina; ³Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Morón, Buenos Aires, Argentina. cuyeu.alba@inta.gob.ar

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es un cultivo con un papel fundamental en la alimentación mundial. En Argentina, su producción abarca desde el norte (Chaco y NOA) hasta el sur de la provincia de Buenos Aires. No obstante, enfrenta serias amenazas fitosanitarias, entre las que destaca la roya de la hoja, causada por el hongo biótrofo *Puccinia triticina*. La variedad Buck Poncho ha mostrado resistencia durable a roya, sin embargo, sus bases genéticas aún no han sido completamente caracterizadas. En un estudio previo utilizando una población de 93 RILs (líneas recombinantes homocigotas) del cruzamiento entre Buck Poncho (BP) y Purple Straw (P) se identificaron tres genes de resistencia y cuatro QTLs en los cromosomas 1B, 2B, 3A y 4D. Utilizando la secuencia genómica disponible de la variedad Chinese Spring, se diseñaron 422 marcadores moleculares SSRs cercanos al QTL ubicado en el cromosoma 2B. El objetivo de este estudio fue analizar el polimorfismo entre las variedades parentales Buck Poncho y Purple Straw de 39 marcadores moleculares SSRs seleccionados por su proximidad al QTL de resistencia a roya de la hoja en el cromosoma 2B. De los 39 marcadores SSRs evaluados, en 26 de ellos (66,7%) no se observó amplificación, 1 (2%) amplificó solo en BP y 2 (5,1%) solo en P. Entre los 10 que amplificaron en ambos parentales, cuatro fueron polimórficos. Estos siete marcadores polimórficos deberán ser evaluados para determinar su ligamiento con el QTL para ser incorporados en los programas de mejoramiento.

GV 3

QTLs PARA CALIDAD DEL FRUTO EN TOMATE DETECTADOS MEDIANTE UN MARCADOR HRM-SNP BASADO EN EXPRESIÓN PROTEÓMICA DIFERENCIAL

Di Mónaco D.¹, P. Cacchiarelli², V. Goytia Bertero³, D. Arce³, G.R. Rodríguez², G.R. Pratta². ¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario (UNR), Santa Fe, Argentina; ²Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario, CONICET – UNR, Santa Fe, Argentina; ³Secretaría de Ciencia y Tecnología, Facultad Regional San Nicolás, Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, Argentina. cacchiarelli@iicar-conicet.gob.ar

El análisis de QTLs para calidad del fruto en poblaciones segregantes puede asistir a la selección por marcadores. Se desarrolló un HRM-SNP basado en la expresión diferencial de *Solyco9g075950* (HSP70, cromosoma 9) en frutos de cv. Caimanta (C) y LA0722 (P). Por ende, el objetivo fue detectar QTLs para caracteres de fruto en una población segregante F₄ (PS) derivada en segundo ciclo de CxP. La PS (n = 93) fue caracterizada para peso (Pe), diámetro (D), altura (A), forma (A/D), vida poscosecha (VP), color (valores a, b, a/b y L), dureza (Du), contenido en sólidos solubles (SS), pH y acidez titulable del fruto. La detección de QTLs se hizo por el método de un único punto y se calcularon los grados de dominancia. Se detectaron QTLs para Pe, D, A, A/D, VP, a, a/b, L, Du y SS. Los porcentajes de variación fenotípica explicados variaron entre 0,10 para L y 0,23 para Du. Los grados de dominancia mostraron una alta proporción de sobredominancia, ya que el grupo con la forma CxP del HRM-SNP mostró valores menores a los grupos con la forma C y P (sobredominancia negativa) para P, D, A, VP, L y Du y mayores (sobredominancia positiva) para a y a/b. Para A/D y SS, se encontró dominancia, pues los valores del grupo C y CxP no difirieron significativamente. El desarrollo de un marcador estructural HRM-SNP en base a diferencias funcionales permitió detectar 10 QTLs de calidad de fruto de tomate.

GV 4

IMPACTO DE LA SALINIDAD EN EL PRE-TRASPLANTE EN GENOTIPOS PARENTALES DEL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO DE TOMATE DE LA FCA-UNR

Baez M.E.¹, L. Schroeder², E. Persichitti², M.V. Moro², D. Settecase², G.R. Rodríguez^{1,2}, V. Cambiaso^{1,2}. ¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario, UNR – CONICET, Santa Fe, Argentina; ²Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Rosario (UNR), Santa Fe, Argentina. baezmariaemilia@gmail.com

La salinidad afecta significativamente el desarrollo temprano de las plantas, y la incorporación de diversidad genética en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) podría mejorar su adaptación. El objetivo del trabajo fue evaluar la tolerancia a la salinidad durante el pre-trasplante en el cultivar 'Caimanta' (CDG32) y la accesión silvestre LA0722 (SLV02) de *Solanum pimpinellifolium* L., genotipos parentales del programa de mejora genética de la FCA-UNR. Los tratamientos (TS) incluyeron riegos con agua destilada como control (T0) y soluciones con diferentes concentraciones de NaCl, 50, 100 y 150 Mm, denominados T50, T100 y T150, respectivamente. A los 30 días desde la siembra se determinó, por genotipo y tratamiento, el índice de velocidad de emergencia (IVE), el peso fresco (PF) y seco (PS), el área foliar (AF) y la longitud radicular (LR) de las plántulas. Se calcularon diferenciales respecto a T0 y se realizaron pruebas de normalidad y t-test ($p < 0,05$), bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial de genotipos y TS. Para IVE, CDG32 presentó diferencias significativas negativas a partir del T100, mientras que SLV02 lo hizo en T150. Respecto a PF, PS y AF, CDG32 mostró efectos negativos a partir de T50 y SLV02 de T100. Para LR CDG32 y SLV02 no presentaron diferencias significativas respecto de T0 en los TS evaluados. Así, CDG32 mostró sensibilidad temprana mientras que SLV02 mayor tolerancia a TS altos. La tolerancia a la salinidad entre estos genotipos permitirá estudiar la segregación de los determinantes genéticos en poblaciones derivadas de cruzamientos entre ellos.

GV 5

PARENTALES DE UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO DE TOMATE Y SUS HÍBRIDOS RECÍPROCOS CARACTERIZADOS MEDIANTE UN PANEL DE SNPS

Perez Marder H.¹, D. Vazquez^{1,2}, J.H. Pereira Da Costa^{1,2}, G.R. Rodríguez^{1,2}, V. Cambiaso^{1,2}. ¹Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario, CONICET, Santa Fe, Argentina; ²Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina. perezmarder@iicar-conicet.gob.ar

Los genes silvestres de tomate representan una reserva de interés agronómico para el cultivo. Para estudiar la base genética de los efectos recíprocos en cruzamientos interespecíficos, es esencial la caracterización molecular de parentales e híbridos. Se utilizó un panel de 384 SNPs para caracterizar tres réplicas biológicas del cultivar Caimanta (C) de *Solanum lycopersicum* L., la accesión silvestre LA0722 (P) de *S. pimpinellifolium* L. y sus híbridos recíprocos (F₁CxP y F₁PxC). Se estimó la similitud entre réplicas y se generó un consenso según la presencia de alelos. El 97% de los SNPs fueron informativos y 57% polimórficos entre C y P. Los genotipos parentales mostraron una mayor similitud entre réplicas (93%) que las F₁ (87%). Entre C y P la proporción encontrada de cada alelo fue semejante diferenciándose por la presencia de un 3% de sitios heterocigotas en P. Las F₁ tuvieron ~45% de loci en heterocigosis distribuidos en todo el genoma. Las diferencias entre F₁ se detectaron mayoritariamente de manera aislada y distribuidas en todo el genoma menos en el cromosoma 9 y 10. El 22% de las diferencias se debieron a la heterocigosis de F₁CxP, pese al monomorfismo entre C y P mientras que el 65% y 13% respectivamente a que F₁CxP y F₁PxC fueron iguales a C a pesar del polimorfismo en los progenitores. La mayor cantidad de diferencias (35%) se encontraron en el cromosoma 3. Se concluye que los perfiles genómicos diferencian parentales e híbridos, revelando regiones clave para la selección y loci asociados a posibles efectos recíprocos distribuidos en el genoma.

GV 6

DIME TU SECUENCIA DE ADN Y TE DIRÉ QUIÉN ERES: IDENTIFICACIÓN DE LEGUMINOSAS ARBÓREAS NATIVAS DE MISIONES

Rojas A.¹, M.E. Barrandeguy^{1,2}, M.A. Maciel², M.V. García^{1,2}. Laboratorio de Genética de Poblaciones y del Paisaje, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina; ²Instituto de Biología Subtropical - Nodo Posadas, UNaM - CONICET, Misiones, Argentina. rojasalfredo306@gmail.com

Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan, *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan y *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. (Subfam. Caesalpinioideae) son especies forestales nativas de Misiones y sus poblaciones presentan impacto antrópico. El objetivo de este trabajo es identificar estas especies mediante sus secuencias de ADN. Se extrajo ADN desde madera y hoja en nueve individuos. Se amplificaron dos loci: el espaciador intergénico *trnL-trnF* cloroplástico y el espaciador transcrito interno (ITS) nuclear. Se alinearon las secuencias obtenidas junto con secuencias similares disponibles en la base pública Genbank empleando BLAST. Se estimó la distancia genética en cada locus a partir de las secuencias que mostraron elevada cobertura y similitud para cada especie. Se construyó un árbol *ML* por locus usando el alineamiento total, la secuencia de *Sthyphnolobium japonicum* como *outgroup* y 1.000 *bootstrap*. Para *trnL-trnF* la distancia genética interespecífica promedio fue mayor a la distancia intraespecífica promedio en las tres especies mientras que, para ITS la distancia interespecífica promedio fue menor a la distancia intraespecífica en dos de las tres especies analizadas. El dendrograma obtenido con *trnL-trnF* generó dos grupos principales, uno de los cuales reunió a *A. colubrina* y el otro definió dos subgrupos que se correspondieron con las especies restantes, mientras que para ITS los grupos generados no se correspondieron con las especies. La secuencia *trnL-trnF* podría emplearse para identificar a estas especies a partir del ADN de su madera.

GV 7

VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y FENOTIPOS ATÍPICOS ASOCIADOS A LA ANEUPLOIDÍA EN HÍBRIDOS INTERPLOIDES DE *Solanum*

Calise C.¹, C. Valdez², C. Kozub¹, R. Masuelli^{1,3}, C. Nicolas³.
¹Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Mendoza, Argentina; ²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; ³Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. caliseclaudio2017@gmail.com

La hibridación interploide puede desencadenar *shocks* genómicos que generan aneuploidías, inestabilidad cromosómica y nuevos fenotipos. En este trabajo, mediante cruzamientos controlados, se obtuvieron híbridos sintéticos entre dos especies silvestres de papa: *Solanum microdontum* (2x y 3x) y *S. kurtzianum* (2x). Con el objetivo de analizar los efectos de la aneuploidía en la morfología y estabilidad genómica, se compararon híbridos artificiales interploides y euploides con el híbrido natural *S. × rechei*. De 222 cruzamientos se establecieron ocho híbridos interploides y 13 intraploides. La caracterización morfológica incluyó 40 caracteres cualitativos y cuantitativos en hoja, tallo, flor y tubérculo. El análisis de componentes principales explicó un 25,8% de la variación fenotípica en la primera dimensión (Dim1) y un 14,7% en la segunda (Dim2), y reveló una mayor dispersión en los híbridos interploides, asociada a una amplia variabilidad fenotípica. Se identificaron anomalías morfológicas exclusivas de este grupo, como aborto floral, hojas rizadas y formación de anteras rudimentarias. El conteo cromosómico y el análisis de dosificación por secuenciación confirmaron la presencia de aneuploidía en siete de los ocho híbridos interploides, portando entre uno y tres cromosomas extra. La coexistencia de euploides y aneuploides en la descendencia y en poblaciones naturales sugiere una posible transición hacia la euploidía, asociada a mecanismos de estabilización durante la reproducción agámica. La variabilidad observada ofrece la posibilidad de descubrir rasgos útiles y fortalecer el acervo genético destinado al mejoramiento de la papa.

GV 8

ESTUDIOS DE LAS BARRERAS REPRODUCTIVAS DE *Solanum vernei* PARA SU INTROGRESIÓN EN LA PAPA CULTIVADA

Ispizúa V.¹, M.C. Bedogni^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina; ²EAA Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina. bedogni.maria@inta.gob.ar

Las especies silvestres de papa son una fuente de genes de interés para el mejoramiento genético de la papa cultivada (*Solanum tuberosum* sp. *tuberosum*) (tbr). *Solanum vernei* Bitter & Wittm. (vrn), es una especie silvestre de papa, diploide (2n=2x=24, 2NBE), que se distribuye en el noroeste argentino en las provincias de Jujuy, Salta, Tucumán y Catamarca y presenta genes de resistencia a *Phytophthora infestans* y a distintos virus y nematodos que son adversos al cultivo de papa. El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento reproductivo de vrn en cruzamientos controlados intra e interespecíficos. Se realizaron 55 combinaciones genotípicas y se evaluaron las relaciones de compatibilidad polen-pistilo empleando dos introducciones de vrn provenientes de Salta (18 genotipos) y 11 variedades comerciales de papa. Siete combinaciones intraespecíficas fueron compatibles a nivel polen-pistilo aunque solo dos produjeron frutos uno con más de 200 semillas y el otro con menos de 20 y semillas vacías. En los cruzamientos interespecíficos se detectó la inhibición del crecimiento de los tubos polínicos en diferentes sitios (estigma, primer, segundo y tercer tercio del estilo), así como barreras postcigóticas en combinaciones en que la relación polen-pistilo fue normal. Se obtuvo un fruto con 250 semillas en un cruzamiento entre vrn x tbr (variedad Araucana INTA), lo que demostró la posibilidad de introgresión de germoplasma silvestre al pool genético de la papa cultivada.

GV 9

POTENCIAL DE APOMIXIS EN DOS NUEVAS ACCESIONES DE *Paspalum equitans* Mez DIPLOIDE

Bruno Dellepiane M.¹, A.I. Honfi¹, M.C. Perichon¹. Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, Instituto de Biología Subtropical nodo Posadas, CONICET – Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina. maudellepiane95@gmail.com

Paspalum equitans Mez es una especie perenne cespitosa que se distribuye en el noreste de Argentina, Brasil y Paraguay. Habita pastizales sub-palustres de suelos arcillosos y presenta citotipo diploide y reproducción sexual. El objetivo de este trabajo fue caracterizar cromosómica y reproductivamente accesiones provenientes de Misiones (H2859 y H2573, un individuo de la primera accesión y dos de la segunda) cuyos especímenes testigo se encuentran en el herbario MNES. Se realizaron recuentos cromosómicos con Feulgen, análisis citoembriológico mediante clarificado y estimación de viabilidad del polen con lugol. Todos los individuos cultivados de ambas accesiones presentaron $2n=2x=20$ cromosomas. En la accesión H2859, el 92,66% de los óvulos presentó un único saco embrionario de origen meiótico bien desarrollado y tipo *Polygonum* (SEM), el 1,43% presentó un SEM más un saco embrionario apospórico adjunto tipo *Paspalum* (SEA) y los óvulos restantes no presentaron sacos embrionarios (SE). En la accesión H2573, un individuo presentó solamente SEM (H2573#9) y en el otro (H2573#11) el 62% de los óvulos presentaron un único SEM, el 2% un SEM y un SEA y los restantes no presentaron SE. Los SEM y SEA se distinguen por la presencia o ausencia de antípodas, respectivamente. Se observó una elevada viabilidad del polen (94,1% en H2859 y 90,7% en H2573), indicando alta fertilidad masculina. El potencial de apomixis en diploides de *P. equitans* es variable individualmente y por accesión (0-2%). Los caracteres asociados a apomixis apospórica se encuentran en el nivel de ploidía diploide en *P. equitans*, sin embargo, su grado de expresión varía entre genotipos.

GV 10

CERAS EPICUTICULARES DE TRIGO CANDEAL Y GENES ASOCIADOS A SU BIOSÍNTESIS EN RESPUESTA A LA INFECCIÓN POR *Fusarium graminearum*

Díaz M.L.^{1,2}, D. Soresi^{1,3}, A. Miravalles², A. Carrera^{1,3}. ¹Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida, Universidad Nacional del Sur (UNS) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina; ²Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, Buenos Aires, Argentina; ³Departamento de Agronomía, UNS, Buenos Aires, Argentina. mldiaz@criba.edu.ar

En el transcriptoma de la espiga de trigo candeal frente a *Fusarium graminearum* se identificaron dos genes relacionados con la síntesis de ceras cuticulares: *O-aciltransferasa* (*WSD1*, 2A) y *Resurrection1* (*RST1*, 3A) presentes en el segmento que confiere la resistencia. *WSD1* presentaba expresión diferencial entre el genotipo susceptible Langdon (LN) y el resistente Langdon (Dic-3A)¹⁰ (LND) mientras que *RST1* resultó no diferencial. Los objetivos fueron: i) evaluar la expresión de *WSD1* en cuatro tiempos post inoculación (0, 6, 48 y 72 h), ii) analizar la secuencia de *RST1*, iii) estudiar la deposición de ceras cuticulares en glumas y hoja bandera de plantas inoculadas. Las reacciones de qRT-PCR demostraron una inducción significativa de *WSD1* en LND a las 6 h y luego un descenso a las 48 y 72 h. En todos los tiempos excepto en tiempo 0, LND tuvo mayor nivel de expresión. La comparación de las secuencias de transcritos *RST1* de LN y LND y con sus genomas de referencia (Svevo y Zavitan) demostraron que el resistente LND posee seis polimorfismos no sinónimos que podrían modificar la funcionalidad de la proteína. Las imágenes de microscopía electrónica de barrido demostraron cambios en la cantidad de ceras cuticulares entre 0 y 72 h post inoculación siendo el más marcado el incremento en la cara abaxial de la hoja en LND. La capa protectora de ceras cuticulares modifica su patrón de deposición frente al hongo en menos de tres días y dos genes involucrados en la biosíntesis poseen diferencias entre el genotipo susceptible y el resistente.

GV II

CARACTERIZACIÓN *IN SILICO* Y DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES ZAT SUBCLASE C1-2I BAJO ESTRÉS SALINO EN *Chenopodium quinoa*

Álvarez-Vásquez A.¹, L. Lima-Huanca¹, R. Bardales-Álvarez¹, M. Valderrama-Valencia¹, S. Condori-Pacsi¹. ¹Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Perú. scondorip@unsa.edu.pe

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es un pseudocereal altamente nutritivo por su contenido de aminoácidos esenciales y es reconocido por su tolerancia al estrés salino. Sin embargo, aún se desconocen a fondo los procesos moleculares subyacentes a esta adaptación. El presente estudio se centró en caracterizar *in silico* los genes *CqZAT* de la subclase C1-2i y en evaluar la expresión génica bajo condiciones de estrés salino. A partir de la base genómica de Phytozome se obtuvieron secuencias que fueron caracterizadas por sus propiedades fisicoquímicas, dominios conservados, agrupamiento filogenético y motivos cis-reguladores que permitieron identificar a ocho genes *CqZAT* correspondientes a la subfamilia C2H2. Los ensayos de germinación y cultivo bajo condiciones hidropónicas permitieron identificar dos introducciones contrastantes, UNSA_VP033 (halotolerante) y UNSA_VP021 (halosensible), en tanto que los ensayos de expresión relativa identificaron a los genes *CqZAT4* y *CqZAT6*, que mostraron alta expresión en la introducción UNSA_VP033 a 300mM de NaCl. Esta característica estuvo correlacionada con el aumento de la materia seca, longitud de raíz y retención de agua. Además, el análisis enzimático mostró que esta introducción presentó alta actividad SOD y POX y bajos niveles de malondialdehído (MDA) en contraste con la introducción UNSA_VP021. Estos resultados indican que las isoformas *CqZAT4* y *CqZAT6* desempeñan un papel importante en la respuesta al estrés salino. Estos hallazgos contribuyen con la caracterización del germoplasma de quinoa para la sostenibilidad agrícola en suelos salinos, una vez que se incorporen introducciones caracterizadas a programas de fitomejoramiento.