GGM 25

IDENTIFICACIÓN DE VACAS POLLED HEREFORD PORTADORAS DE MSUD C248>T MEDIANTE PCR-HRM Y CONFIRMACIÓN POR SECUENCIACIÓN

Branda Sica A.¹, A. Romero², M.T. Federici¹, C. Briano², M. Dalla Rizza¹, F. Dutra². ¹Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas, Uruguay. ²DILAVE Treinta y Tres, Uruguay.
Email: abranda@inia.org.uy

La enfermedad de la orina con olor a jarabe de Maple (MSUD, OMIA 000627-9913) es autosómica recesiva y causada por una mutación sin sentido (C248>T) en la región líder del gen de la subunidad E1 alfa (BCKDHA, cadena ramificada alfa ceto-ácido deshidrogenasa). Para identificar esta mutación en una población de 86 vacas Polled Hereford de un predio de la región Este de Uruguay se realizó el análisis HRM (*High Resolution Melting*) utilizando PCR en tiempo real (*Rotor-Gene Q*, Corbett) con el intercalante fluorescente *EvaGreen* (kit Type-it® HRM-PCR, QIAGEN, Hilden, Alemania), utilizando un par de *primers* específicos. El programa de ciclado consistió en una desnaturalización inicial de 10 min de 95 °C, 40 ciclos de 10s a 95 °C, 30s a 59 °C y 10s a 72 °C, en un rango entre 65-95 °C con incrementos de 0,1 °C durante 2s. Luego de la amplificación del fragmento 94 pb se normalizaron las lecturas de fluorescencia utilizando el *software Rotor Gene* versión 1.7.28 que permitió identificar las curvas de *melting* en la zona estable de fluorescencia. Luego, se normalizó con respecto a un control homocigota normal y el *software* identificó el genotipo de cada muestra analizada con un porcentaje de confianza >90%. La confirmación del genotipado fue evaluada mediante secuenciación de los productos amplificados por PCR. Se detectó la presencia del alelo mutante recesivo para MSUD C248>T en 3 vacas de la población analizada.

GGM 26

GENES RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN EL VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS *Triatoma infestans*

Grosso C.G.¹, M.M. Stroppa¹, B.A. García¹. ¹INICSA, CONICET y Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
Email: bgarcia@biomed.uncor.edu

Con el propósito de investigar la participación de los citocromos P450 en la resistencia a insecticidas piretroides en *Triatoma infestans* se aisló ADN copia (ADNc) de 3 genes citocromo P450 y del gen NADPH citocromo P450 reductasa (CPR) que codifica para una enzima que actúa en la transferencia de electrones desde la forma reducida de NADPH a los citocromos P450. A partir de las secuencias de ADNc de esos genes se diseñaron *primers* específicos y sondas Taqman para la determinación de su expresión mediante la técnica de PCR en Tiempo Real. Las determinaciones de expresión se llevaron a cabo a partir de ARN total extraído de *pooles* de cuerpo graso de los insectos en distintos intervalos de tiempo después de la aplicación tópica de la dosis letal 50% del principio activo deltametrina. La expresión a nivel de transcripción de los tres genes P450, revelaron que esa expresión fue inducida por deltametrina en poblaciones resistentes y susceptibles. Los niveles de ARNm del gen CPR analizados en una colonia de laboratorio susceptible a deltametrina también se incrementaron después de la aplicación del insecticida. Por otra parte, el análisis comparativo de la expresión de los genes P450 y del gen CPR en insectos provenientes de diferentes poblaciones, reveló sobre-expresión de uno de los genes P450 y del gen CPR en la población que presentó el mayor grado de resistencia al insecticida. Los resultados obtenidos apoyarían la hipótesis que postula la participación de los citocromo P450 en el desarrollo de la resistencia a insecticidas piretroides en *T. infestans*.