

## **Desarrollo de poblaciones mutagenizadas: identificación y caracterización de mutantes de genes candidatos involucrados en la resistencia a la podredumbre húmeda del capítulo**

Fass M.<sup>a</sup>, Vera P.<sup>a</sup>, Puebla A.<sup>a</sup>, Di Rienzo J.<sup>c</sup>, Alvarez D.<sup>d</sup>, Hopp E.<sup>a,b</sup>, Heinz R.<sup>a</sup>, Lia V.<sup>a,b</sup>, Paniego N.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA, CONICET, Buenos Aires, Argentina;* <sup>b</sup> *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina;* <sup>c</sup> *Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agrarias, Córdoba, Argentina;* <sup>d</sup> *Estación Experimental Agropecuaria Manfredi, INTA, Córdoba, Argentina*

Las poblaciones mutagenizadas son valiosas herramientas de genética reversa utilizadas en la validación de genes candidatos para el mejoramiento de caracteres complejos y permiten la generación estable de mutantes agrónomicamente importantes. En este estudio se propuso validar la intervención de un set de genes candidatos en la resistencia a la podredumbre húmeda del capítulo (PHC) y evaluar su contribución a la respuesta de defensa a través del análisis fenotípico de mutantes.

Se realizó una búsqueda de mutaciones en dos poblaciones mutagenizadas de girasol, HA89-EMS y B91-X. Para la identificación de variantes en cada una de estas poblaciones se optimizaron dos técnicas de genotipificación masiva que permiten la búsqueda de mutantes a gran escala: la detección de heteroduplex por medio de la enzima endonucleasa CEL1 mediante electroforesis capilar (HA89-EMS) y la secuenciación de amplicones mediante PCR *multiplex* basada en microfluídica (B91-X).

En la población HA89-EMS, el examen de fragmentos de ADN de diez genes candidatos (1146 plantas, 7989552 bp) permitió la identificación de dos mutaciones puntuales en dos genes candidatos. Por otro lado, análisis iniciales sobre la población B91-X (188 plantas, 3262552 bp) permitieron identificar 28 mutaciones puntuales localizadas en 15 de los 48 genes evaluados.

La respuesta a PHC de las mutantes identificadas en la población HA89-EMS fue evaluada en ensayos de desafío con el hongo en condiciones de campo. Una de las mutantes, que tiene una alteración en la secuencia de un gen que codifica para una proteína mitocondrial de captación de calcio y se expresa en estambre y polen, presentó mayor resistencia a PHC relativa al control ( $p < 0.05$ ).

En conclusión, los resultados presentados ofrecen nuevas perspectivas para el mejoramiento eficiente a través de la generación de variantes alélicas nuevas para la resistencia a PHC y el apilamiento de genes candidatos validados.

Agradecemos a Mariano Bulos y Emiliano Altieri de Nidera Semillas por proveer el material vegetal de la población HA89-EMS y por su colaboración.