

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2014

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: Di Rocco

NOMBRES: Florencia

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: City Bell CP: 1896 Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información): fdirocco@imbice.gov.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

Estudio de genes candidatos para el color de capa en llamas (Lama glama)

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Asistente Fecha: : 9/08/2010

ACTUAL: Categoría: Asistente desde fecha: 9/08/2010

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: IMBICE

Facultad:

Departamento:

Cátedra:

Otros: Laboratorio de Genética Molecular

Dirección: Calle: 526 y 11 N°: s/n

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 221-4210112

Cargo que ocupa: Investigador

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres: Vidal Rioja Lidia Beatriz

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica: lvidalrioja@imbice.gov.ar

¹ Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

Firma del Director (si corresponde)

Firma del Investigador

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Los genes ASIP y MC1R son los principales responsables de la determinación de los colores básicos de capa en mamíferos. Otros genes, actúan como modificadores, produciendo así fenotipos diversos. La ausencia de coloración (blanco) puede tener dos orígenes: que no se sintetizan pigmentos en los melanocitos por bloqueo de la ruta de síntesis de melanina, o la ausencia de melanocitos causada por bloqueo del desarrollo o migración de los mismos. El gen KIT tiene un rol central en la melanogénesis y en la migración y proliferación del melanoblasto (precursor del melanocito). Otro gen asociado con color de capa blanco no albino es MITF (factor de transcripción asociado a microftalmia). MITF es un regulador clave en la pigmentación que actúa sobre la diferenciación de los melanocitos por medio de la regulación de la expresión de proteínas del melanosoma. Mutaciones en este gen y también en KIT, han sido asociadas gran variedad de fenotipos diluídos, manchados y completamente blancos. La llama (*Lama glama*) presenta una amplia variedad de colores de distinto valor comercial. Sin embargo, con excepción de un trabajo realizado en Laboratorio de Genética Molecular del IMBICE (manuscrito en preparación), no se han descrito los genes que controlan la pigmentación en esta especie. Durante el año 2014, se concluyó la caracterización de los genes MC1R y ASIP, en el marco de una tesis doctoral. Mediante la secuenciación de la región codificante completa de ambos genes, se identificaron tres variantes alélicas principales. Una de ellas, MC1R*2, estuvo asociada a la ausencia de pigmentación en la capa ($p < 0.0001$). Actualmente, se está trabajando en el desarrollo de una metodología que permita detectar esa variante a bajo costo.

Sin embargo, la presencia de este alelo no explica la totalidad de los fenotipos blancos. Por ello, se comenzó también con la caracterización de KIT. Se tomaron biopsias de piel (4 mm de diámetro) y muestras de fibra de distintos colores y se almacenaron en RNAlater® para su traslado al laboratorio, donde se conservaron a -80 C. hasta el momento de procesarlas. El ARN se obtuvo por homogenización en Trizol (Invitrogen) y a partir del mismo se realizó una reacción de PCR de fase reversa para obtener el cADN total. Mediante el uso de 4 pares de primers diseñados sobre secuencias conservadas en otras especies, se amplificó el gen c-KIT en llamas y se secuenció. Hasta el momento, se obtuvieron aproximadamente 1500 pb en 5 individuos diferentes, donde se identificaron 2 polimorfismos de tipo SNP. Uno de ellos, resultó no sinónimos produciendo la sustitución de un aminoácido Valina por una Leucina. La obtención de la secuencia completa en un número mayor de animales permitirá la identificación de polimorfismos adicionales y el estudio de su asociación con el color de capa en las llamas

La principal dificultad encontrada en el plano metodológico estuvo en principio relacionada a la obtención de muestras. De todas maneras, esto pudo ser solucionado. En los últimos años el número de establecimientos dedicados a la cría de llamas en la provincia de Buenos Aires ha aumentado considerablemente y en general los criadores muestran interés en el tema de investigación. Se espera en un futuro poder transferir los resultados al sector productivo, pero para ello, la principal limitación es la falta de financiación para acelerar los tiempos de concreción de este proyecto.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 PUBLICACIONES. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

Daverio MS, Lorenzo Y, Rigalt F, Vidal Rioja L, Di Rocco F (2014) "Genetic diversity of GH1 and LEP genes in Argentine llama (Lama glama) populations" Small Ruminant Research 120 20-26

Abstract:

Compared to other domestic species, little is known about variability of genes related to energetic metabolism and growth in camelids. Here, we have analyzed leptin (LEP) and growth hormone (GH1) genes and characterized their variability in three local llama (Lama glama) populations from the Argentine Northwest. Eleven novel SNPs and one indel were identified in the Lep gene. In total, eight haplotypes were found for LEP and seven for GH1. Although geographical origin clustering was not observed, SNP and haplotype frequencies varied significantly among populations. Based on variation of both loci, we detected significant genetic differentiation measured through Fst values.

Network analysis of LEP gene supported the well-documented history of hybridization in camelids previously identified by mtDNA analysis.

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.

Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.

Anello M, Daverio MS, Romero SR, Rigalt FA, Silbestro MB, Vidal-Rioja LB, Di Rocco F.'Genetic diversity and conservation status of managed vicuña (Vicugna vicugna) populations in Argentina' Enviado a la revista Genética, diciembre de 2014
Abstract:

The vicuña (Vicugna vicugna) was hunted indiscriminately for more than 400 years and, by the end of 1960s, it was seriously endangered. At that time, a captive breeding program was initiated in Argentina by the National Institute of Agricultural

Technology (INTA) with the aim of preserving the species. Nowadays, vicuñas are utilized in captivity and in the wild, to obtain their valuable fiber. However, current genetic status of Argentinean vicuña populations is virtually unknown. Using mitochondrial DNA and microsatellite markers, we studied genetic diversity of vicuña populations managed in the wild and compared it with the captive population from INTA. Furthermore, we examined genetic structure and evidence for bottlenecks. Overall, all populations showed high genetic variability and no evidence of inbreeding was observed in any of them. Genetic diversity was not significantly different between captive and wild populations, although captive population showed the lowest allelic richness, the lowest number of mitochondrial haplotypes and haplotype diversity. Significant genetic differentiation was found between free-living populations of Jujuy and Catamarca provinces, from both microsatellite and mitochondrial data. Moreover, within the Catamarca management area genetic structure could be detected with microsatellite markers. Finally, genetic signatures of past bottlenecks were observed from Garza Williamson test in all populations. Our results underline the necessity of considering genetic data into vicuña management plans to prevent the loss of diversity and alteration of natural flow among populations.

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.

Maria S Daverio, Francisco Rigalt, Sandra R Romero, Lidia B Vidal-Rioja and Florencia Di Rocco.'Polymorphisms in MC1R and ASIP genes and its association with coat color phenotypes in llamas (Lama glama)'

Abstract:

In mammals, MC1R and ASIP are the major genes that control the type and location of pigments produced. In recent years, polymorphisms in these genes have been associated to coat color variation in a number of species. Llamas (Lama glama) are characterized by a great diversity of coat colors. However, genetic basis of coat color determination are still unknown. Here, we sequenced MC1R and ASIP genes in llamas and studied the association between the polymorphisms identified and the coat color. Sequence analysis revealed fourteen SNPs in the MC1R gene, ten of which were nonsynonymous. Within these, we identified a MC1R variant, c.383T>C that perfectly correlated with white coat in homozygous animals and likely represent a loss of function mutation. Furthermore, two polymorphisms in ASIP exon 4, a 57 bp deletion and a c262C>T substitution, were associated to eumelanin coat.

7.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

Las comunicaciones presentadas en congresos están incluidas en el apartado 13.

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles*

de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES. *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO. *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

8.5 Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS. *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

Servicio de Identificación Genética del IMBICE.

Responsable: Dra. Lidia Vidal Rioja

Servicio Tecnológico de Alto Nivel (STAN CONICET)

Porcentaje de dedicación: 30%

Facturación: \$ 50.000

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

10.2 DIVULGACIÓN

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

-Lic. Melina Anello. Co-dirección Beca de estudio CICPBA

Lugar : IMBICE

Tema: "Estudio molecular de genes candidatos para el color de capa en llamas"

Periodo:1-04-14 al 31-03-15

12. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

- Lic. María Silvana Daverio. Co-dirección de Tesis Doctoral,

Tema: "Caracterización de genes vinculados al crecimiento y al color de capa en la llama (Lama glama)" Defendida el 16-09-14, Fac. Ciencias Exactas, UNLP

-Yesica Lorenzo. Dirección de Tesis de Licenciatura Tema:"Identificación de marcadores moleculares diagnósticos para la detección de híbridos en camélidos sudamericanos domésticos" Defendida el 19-12-14, Fac. Ciencias Exactas, UNLP.

- 13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.** *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*
Anello M, MS Daverio, SR Romero, F Rigalt, L Vidal Rioja, F Di Rocco. Diversidad mitocondrial en cinco poblaciones de vicuñas. Comunicación libre. XLIII congreso Argentino de Genética. 19-22 de octubre de 2014
- 14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*
- 15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.** *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*
- 16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.** *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*
- 17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.**
- 18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA.** *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*
- 19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.** *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*
- 20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.** *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*
- 21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.** *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

Condiciones de la presentación:

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
 - a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).
 - b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período"

- c. Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
 - a. Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: ininvest@cic.gba.gov.ar (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
 - b. En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

Nota: El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.