BV32

**Obtención de individuos genéticamente idénticos por clonado de *Sorghum halepense* y *Amaranthus palmeri* para la identificación de alelos de resistencia a herbicidas del grupo A y B, respectivamente.**

Perotti, V.1; Palmieri, V.1; Martinatto, A.1; Monasterolo, L.1 y Permingeat, H.1-2

1) Laboratorio de Biología Molecular-Facultad de Ciencias Agrarias-UNR-CC 14 (S2125ZAA) Zavalla. 2) Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR-CONICET-UNR).

La aparición de poblaciones de malezas con resistencia a diferentes herbicidas trajo como consecuencia la reducción en la utilidad práctica y económica de estas herramientas químicas, e importantes pérdidas en la producción. Actualmente, la base de datos de malezas resistentes a herbicidas; www.weedscience.com informa que existen 159 especies resistentes a herbicidas del grupo B (inhibidores de ALS) y 48 especies resistentes a herbicidas del grupo A (inhibidores ACCasa), siendo el yuyo colorado (*Amaranthus palmeri*) y el sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) respectivamente, dos de los casos de resistencia más relevantes en nuestro país.

*Amaranthus palmeri* es una planta dioica, muy agresiva que se caracteriza por tener alta tasa de crecimiento, elevada tolerancia a los ambientes adversos, gran variabilidad genética y una prolífica producción de semillas que promedia las 600.000 por planta femenina. Por su parte, *Sorghum halepense* es una gramínea C4 perenne de gran tamaño, robusta y agresiva, difícil de controlar debido a su biología reproductiva por rizomas y por dispersión de semillas de gran longevidad. Ambas malezas afectan principalmente a cultivos estivales, tales como maíz y soja.

Por todo lo expuesto, la generación de herramientas para el estudio de los mecanismos de resistencia involucrados en cada caso resulta de gran importancia para afrontar esta problemática agronómica actual. Con este objetivo, y dada la alta variabilidad alélica hallada en las poblaciones resistentes en experimentos *a priori*, se diseñaron estrategias para obtener plantas genéticamente iguales de cada maleza sobreviviente a la aplicación del herbicida correspondiente, a la dosis de campo, para luego caracterizar individualmente el gen blanco del herbicida (*als* ó *accasa*).

Se optimizó un método de clonado artificial para yuyo colorado, utilizando esquejes, solución de enraizamiento y luz continua por 7 días, para luego continuar el cultivo de los clones en condiciones normales de crecimiento. Los productos de las amplificaciones específicas del gen blanco *als* mediante PCR a partir de ADN genómico de 6 clones de *A. palmeri* fueron enviados a secuenciar, obteniéndose múltiples alelos diferentes a la versión sensible, portadores de 3 mutaciones previamente reportadas (A205V, W574L, S653N) y/o 13 nuevas sustituciones, 3 de las cuales revisten mayor importancia por estar comprendidas dentro de los dominios conservados asociados al fenotipo de resistencia o en regiones contiguas a los mismos.

Para el caso de sorgo de Alepo, la propagación por rizomas facilitó la obtención de los clones bajo estudio. Siete de los mismos fueron sometidos a ensayos de PCR alelo específica para evaluar la presencia de la mutación I2041N, previamente encontrada en esta población. Resultados preliminares muestran que no fue posible hallarla entre los individuos testeados, abriendo la posibilidad de la existencia de un nuevo mecanismo de resistencia a inhibidores del grupo A en la población bajo estudio. La secuenciación completa del gen blanco *accasa* en cada uno de estos clones resistentes resulta ineludible para evaluar esta hipótesis.

De este modo, el diseño experimental abordado permitió comenzar con la dilucidación de las bases moleculares de la resistencia en ambos modelos de estudio, sorteando la complejidad biológica de los mismos, y generando herramientas sistematizadas para futuras investigaciones.