

# GMO

## GENÉTICA DE MICROORGANISMOS



## COMPARATIVE ANALYSIS OF GUT MICROBIOME IN INDIVIDUALS OF THE OLD CIVILIZATION OF CARAL-SUPE BASED ON DATA FROM 16S rRNA AND ITS REGION

Jaramillo Valverde L.J<sup>1</sup>, A. Vásquez Domínguez<sup>1</sup>, K. Levano Najarro<sup>1</sup>, R. Cano<sup>2</sup>, R. Shady Solís<sup>3</sup>, H. Guio Chunga<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Albiotec, Lima, Perú. <sup>2</sup>The Biocollective, Denver, USA. <sup>3</sup>Zona Arqueológica Caral Unidad Ejecutiva 003 Ministerio de Cultura, Lima, Perú. luisjaramillovalverde@gmail.com

The Caral-Supe civilization (3500 BC) is the oldest in Peru and America, contemporary to the Mesopotamia, Egypt, India and China civilizations. For this reason, the objective was to identify microorganisms and possible diseases that existed in this ancient civilization using coprolites samples. To do this, two coprolites samples were analyzed through high-throughput sequencing data of 16S rRNA gene and an intergenic region (ITS). Prior to DNA extraction using Power Soil DNA Isolation Kit, samples were prepared by discarding the outermost portions of the coprolite samples to eliminate risk of contamination. The V4 variable region of bacterial 16S rRNA genes was targeted and for fungi, ITS analysis was performed. Sequencing was performed using an Illumina MiSeq instrument. The OTUs (operational taxonomic unit) were defined by grouping at 97% similarity. The final OTUs were taxonomically classified using BLASTn against a database derived from RDP II and NCBI. In both coprolites the most representative OTUs at the phylum level for 16S rRNA bacterial genes was Firmicutes, and for ITS was Ascomycota. Firmicutes is one of the most frequent phylum in the human intestinal microbiota and is related to cardiovascular problems. *Virgibacillus* sp. is a well representative genus of this phylum. Further analysis will be carried out with additional coprolites samples to further identify organisms that colonized the gut microbiome of the Caral-Supe ancient inhabitants; and in this way be able to determine the lifestyle (diet) and its influence on the gut microbial communities.

## DISEÑO DE CEBADORES ESPECÍFICOS PARA DOS CEPAS DE *Bacillus altitudinis* PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL AISLADAS DE *Ilex paraguariensis*

Cortese I.J.<sup>1</sup>, M.L. Castrillo<sup>2</sup>, P.D. Zapata<sup>2</sup>, M. E. Laczeski<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Biotecnología "Dra. María Ebe Reca", FCEQyN, UNaM, Misiones, <sup>2</sup>CONICET, Instituto de Biotecnología "Dra. María Ebe Reca", FCEQyN, UNaM, Misiones, Argentina, <sup>3</sup>CONICET, FCEQyN, UNaM, Misiones, Argentina. cortesejulietta@gmail.com

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) poseen importancia comercial y ambiental ya que ejercen efectos positivos sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas de manera directa o indirecta. La generación de ensayos que permitan el monitoreo en la colonización y trazabilidad se presentan como una alternativa prometedora para su aplicación *in vivo*. En el presente estudio se trabajó con dos cepas de *Bacillus altitudinis* aisladas de plantines de *Ilex paraguariensis*, seleccionadas por su capacidad PGPB *in vitro* y en vivero. El objetivo fue diseñar cebadores cepa específicos para *B. altitudinis* 19RS3 y T5S-T4 para su detección en ensayos *in vivo*. Se compararon los genomas de ambas cepas con los genomas de *Bacillus* disponibles, utilizando el visualizador de *Rapid Annotation using Subsystem Technology*. Se seleccionaron secuencias de 200-800 pb y se contrastaron en la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Se seleccionaron las secuencias únicas y se diseñaron cebadores utilizando *Primer3*. Se evaluó la especificidad de los cebadores con la herramienta *In Silico PCR Amplification*. Se obtuvieron dos pares de cebadores específicos para cada cepa. Estos cebadores demostraron especificidad para las cepas en estudio, ya que no se obtuvieron resultados positivos en las amplificaciones por PCR para las cepas de *B. altitudinis* GQYP101 (CP040514), CHB19 (CP043559) y SGAir0031 (CP022319.2) reportadas en el NCBI. Se logró diseñar cebadores cepa específicos para la detección de *B. altitudinis* 19RS3 y T5S-T4 en muestras de suelo y raíz.

## PRIMER GENOMA SECUENCIADO DE UNA CEPA ARGENTINA DE *Streptococcus agalactiae* AISLADA DE UN BOVINO CON MASTITIS

Cadona J. S.<sup>1</sup>, L.B. Hernandez<sup>1</sup>, J.R. Lorenzo Lopez<sup>1</sup>, A.V. Bustamante<sup>1</sup>, A.M. Sanso<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CIVETAN, FCV, UNCPBA, Tandil, Argentina.  
jcadona@vet.unicen.edu.ar

*Streptococcus agalactiae* es un importante patógeno causante de mastitis clínica y subclínica en bovinos, lo cual impacta en la salud animal y en la producción láctea. Es también un patógeno humano que causa infecciones graves, principalmente en neonatos, ancianos e inmunosuprimidos. En el marco de un proyecto que comprende el análisis genómico comparativo de cepas de *S. agalactiae* y con el objetivo de identificar regiones genómicas que podrían ser marcadores predictivos de virulencia, se secuenció el genoma completo de una cepa argentina de *S. agalactiae* aislada de un bovino con mastitis. La secuenciación del genoma se realizó mediante la plataforma MiSeq (Illumina). A partir de los datos obtenidos se determinó el secuenciotipo (ST) mediante *Multi locus sequence typing* (MLST). Se halló un nuevo alelo en el locus *sdhA* identificado como *sdhA-153* por la base de datos PubMLST. Consecuentemente, el aislamiento presentó un ST también novedoso, ST-1640. Los datos de secuenciación se cargaron en la plataforma web Galaxy. Las *reads* fueron ensambladas *de novo* usando SPAdes. Como resultado, el genoma se ensambló en 150 *contigs* con un valor N50 de 39.265 pb y una longitud máxima de *contig* de 104.508 pb. El genoma presentó una longitud aproximada de 2,3 Mb con un contenido de G+C de 35,61%. Se utilizó Prokka para la anotación del genoma y se predijeron 2.312 genes que codifican proteínas. Estos resultados constituyen los primeros datos genómicos de una cepa argentina de *S. agalactiae* de origen bovino, e informan de la circulación de un clon exclusivo de Argentina.

## GENÓMICA COMPARATIVA INTRAESPECIE EN BACTERIAS: REVELANDO EL METABOLOMA SECUNDARIO DE *Streptomyces albus*, LA ESPECIE TIPO DEL GÉNERO *Streptomyces*

Dietrich J.<sup>1</sup>, F. Schwab<sup>1</sup>, M.S. Vela Gurovic<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CERZOS UNS-CONICET, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.  
juliandietrich97@hotmail.com.ar

*Streptomyces* es un género ubicuo y tradicionalmente conocido por su gran capacidad en la producción de antibióticos y otras moléculas bioactivas, típicamente asociadas al metabolismo secundario. El desarrollo de nuevas herramientas bioinformáticas ha hecho posible la bioprospección de metabolitos secundarios a nivel genómico, lo que evita el re-aislamiento de metabolitos conocidos y permite conocer el potencial metabólico de una cepa. Recientemente, nuestro grupo ha reportado el primer genoma completo de *S. albus*, lo que facilitó la realización de un estudio genómico comparativo intraespecie. Se realizaron alineamientos de 9 genomas de *S. albus* disponibles en GenBank con MAUVE (v20150226). Para predecir *clusters* genómicos de biosíntesis de metabolitos secundarios (CGBs) se utilizó ANTISMASH (v. 5.1.2). El metaboloma secundario central incluyó los metabolitos ectoína, geosmina, desferrioxamina E, hopeno y pseudouridimicina, junto con otros metabolitos que presentarían similitud estructural con sapB, isorenierateno e ibomicina. Adicionalmente se detectaron dos *clusters* no asociados a ningún CGB conocido que codificarían proteínas asociadas a la síntesis de dos terpenos y un ciclodepsipéptido. Los resultados sobre el metaboloma auxiliar y único de cada cepa revelaron que la mayoría de los *clusters* de la especie *S. albus*, la cepa tipo del género *Streptomyces*, son huérfanos, es decir, aún no tienen asignado un metabolito. Así, este estudio refleja que la diversidad metabólica de algunas especies extensamente estudiadas aún permanece oculta.

## ELEMENTOS REGULADORES DE GENES QUE CODIFICAN $\beta$ -1,3-GLUCANASAS EN LA CEPA *Trichoderma koningiopsis* POS7

Castrillo, M. L.<sup>1</sup>, N.S. Amerio<sup>1</sup>, I.J. Cortese<sup>1</sup>, G.A. Bich<sup>1</sup>, M.C.N. Saparrat<sup>2</sup>, P.D. Zapata<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María Ebe Reca”, FCEQyN, UNaM, Misiones, Argentina. CONICET. <sup>2</sup>Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE) Centro Científico Tecnológico CONICET, La Plata, Argentina. mlc\_827@hotmail.com

Las enzimas  $\beta$ -1,3-glucanasas han sido propuestas como agentes claves en la degradación de la pared celular de diferentes hongos fitopatógenos. La caracterización de las secuencias génicas que codifican para estas enzimas son herramientas prometedoras para el diseño de un biocontrol eficaz. El objetivo fue analizar las secuencias reguladoras de los genes que codifican para las enzimas  $\beta$ -1,3-glucanasas de la cepa *Trichoderma koningiopsis* POS7. A partir de las 10 secuencias génicas glucanólíticas del aislamiento *T. koningiopsis* POS7, se localizaron los elementos de respuesta utilizando el software Geneious 9.1.5. Los software Clustal Omega e IGV se utilizaron para analizar la región reguladora de los genes. Se logró identificar que los 10 genes analizados poseen regiones TATA, CAAT y ATTG. Además, 8 de ellos revelaron estar regulados por elementos de respuesta relacionados a la represión catabólica por nitrógeno, 7 de ellos por la represión catabólica por carbono y el estrés fisiológico y, en menor medida, también están regulados por elementos de respuesta asociados a la represión transcripcional de factores de conidiación y unos con sitios putativos para la interacción con proteínas reguladoras expresadas durante el micoparasitismo. Estos resultados sugieren la existencia de diferentes estrategias para modular el potencial biocontrolador de la cepa *T. koningiopsis* POS7 y sus  $\beta$ -1,3-glucanasas sobre hongos fitopatógenos.

## IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE TRES CEPAS DE *Ganoderma* spp. MEDIANTE ANÁLISIS MULTILOCUS

Viceconte, F.R.<sup>1</sup>, M. Díaz<sup>2</sup>, D. Soresi<sup>3</sup>, A. Carrera<sup>4</sup>, M.S. Vela Gurovic<sup>5</sup>. <sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CONICET) Centro de Recursos Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-UNS-CONICET) Bahía Blanca, Buenos Aires. Argentina, <sup>2</sup>CIC- Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBByF), Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca. Buenos Aires. Argentina, <sup>3</sup>DBByF UNS, Bahía Blanca. Buenos Aires. Argentina, <sup>4</sup>CONICET, CERZOS-UNS-CONICET, Departamento de Agronomía, UNS, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina, <sup>5</sup>CONICET, CERZOS-UNS-CONICET, DBByF, UNS, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. viceconte@cerzos-conicet.gob.ar

*Ganoderma* spp. incluye a una variedad de especies de hongos medicinales mundialmente apreciados por sus numerosas propiedades medicinales. El género *Ganoderma* es uno de los más complejos dentro de los *Polyporales*, siendo el análisis multilocus el método más aceptado actualmente para su clasificación. CERZOS UNS-CONICET cuenta con un cepario de hongos clasificados en base a su morfología. Se ha comenzado a caracterizar molecularmente alrededor de 50 de sus cepas, seis de las cuales pertenecen al género *Ganoderma*. El objetivo del estudio fue identificar taxonómicamente a tres de estas últimas mediante análisis filogenético multilocus basado en la región nuclear ITS (*Internal Transcribed Spacer*), y en los genes LSU (*Large Subunit ribosomal RNA gene*) y  $\beta$ -tubulina. Las secuencias fueron comparadas con otras disponibles en GenBank previamente empleadas en análisis taxonómicos y con origen geográfico publicado. Para el alineamiento múltiple se usó el algoritmo MUSCLE y las relaciones filogenéticas se infirieron con el método de Máxima Verosimilitud (MEGA 7) realizando 1000 réplicas (*Bootstrap*). Los resultados permitieron clasificar las cepas en tres diferentes taxones, difiriendo con su inicial identificación al momento del depósito. *Ganoderma* sp. E47 fue identificada como *G. sessile*, relacionándose con miembros americanos del complejo *G. resinaceum*. *Ganoderma* sp. CS se identificó como *G. lingzhi*, clado de Asia del Este diferenciado de *G. lucidum sensu stricto* y finalmente *Ganoderma* sp. GO como *G. oregonense*, dentro del complejo *G. lucidum sensu stricto*.

## REVALORACIÓN DE LA INFORMACIÓN FILOGENÉTICA BASADA EN LA REGIÓN ITS1-5.8S-ITS2 EN CEPAS DE *Candida tropicalis*.

Madrassi, L.M.<sup>1</sup>, P.A.N. Álvarez<sup>2</sup>, K. Salvatierra<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Genética Veterinaria, La Plata, Buenos Aires. <sup>3</sup>FCEQyN, UNaM, Misiones, Argentina.

Immadrassi@hotmail.com

El uso de especímenes anotados en banco de datos, ha permitido mejorar y estandarizar la metodología de identificación de especies por su variación genética. En micología, el gen de la subunidad 5.8S es considerado el *locus* estándar por excelencia. Está flanqueado por dos regiones internas espaciadoras (en inglés, ITS), que varían intraespecíficamente. A pesar de su poder como identificador especie-específico, pocos estudios han sido realizados para la mayoría de especies que conforman el género *Candida*, como por ejemplo *C. tropicalis*. Nuestra hipótesis de trabajo es que existen diferencias en cepas de *C. tropicalis* para la región ITS1-5.8-ITS2 de modo que las mismas pueden caracterizarse filogenéticamente. Nos propusimos estudiar la variación intraespecífica dentro de esta región, analizando y comparando la variación existente dentro y entre las cepas en relación a su origen geográfico y el tipo de muestra (ambiental o clínica). Fueron descargadas 1250 accesiones de *C. tropicalis* del banco de datos genéticos de NCBI. Conservamos aquellas que contenían el segmento completo resultando en 795 secuencias finales. Se utilizó como grupo externo una secuencia de referencia de *C. parapsilosis*. Los árboles de haplotipos mostraron al menos tres grupos los cuales evidencian cambios en sitios puntuales entre ellos. Estos resultados concuerdan parcialmente lo obtenido por otros investigadores sobre la diversidad genética del *locus* ITS1-5.8S-ITS2, pero amplía el conocimiento de esta región para *C. tropicalis*.