

GMO

GENÉTICA DE MICROORGANISMOS

GENETICS OF MICROORGANISMS



GMO 1

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA
COMUNIDAD BACTERIANA ASOCIADA
A DOS LINAJES DE LA DIATOMEA
INVASORA, *Didymosphenia geminata*,
UTILIZANDO QIIME Y DADA2**

Jara C., A.V. Suescún, L. Cardenas¹. ¹Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Chile. cynthiajaraf@gmail.com

Durante años, múltiples barreras geográficas se han debilitado producto de la actividad antropogénica, generando un aumento en las invasiones biológicas. Las especies exóticas invasoras pueden generar pérdidas significativas en la biodiversidad nativa. Particularmente, las invasiones por microorganismos son complejas de detectar, por ende, difíciles de prevenir. Los invasores transportan una microbiota que alberga un conjunto de comunidades microbianas que han sido poco exploradas. Esta microbiota podría jugar un rol importante en el éxito invasor según las interacciones funcionales que ejerzan con su huésped y con el ambiente invadido. Comprender cómo se compone la comunidad microbiana asociada a un ecosistema es el primer paso para determinar interacciones entre organismos y el ambiente. El objetivo del estudio fue determinar la estructura de la comunidad bacteriana asociada a dos linajes de la diatomea invasora *Didymosphenia geminata* y realizar un análisis comparativo de ésta. Se evaluó la hipótesis de que la microbiota bacteriana del linaje americano y europeo de *D. geminata* comparten una microbiota bacteriana central, debido a que existe una estrecha interacción entre los microorganismos y la diatomea. Usando la técnica “metabarcoding” a partir de eDNA extraído de la mata de exopolisacáridos de la microalga, se realizó un análisis de biodiversidad bacteriana utilizando el gen *16S* como marcador genético. Para los análisis de ecología microbiana se escogieron las metodologías informáticas de código abierto, QIIME y DADA2. Se determinó que existe una microbiota bacteriana central compartida entre ambos linajes de la diatomea, principalmente compuesta de bacterias del filo Proteobacterias (40%) y Bacteroidetes (>23%).

FONDECYT 1170591

GMO 2

**A PILOT CASE-CONTROL STUDY:
MICROBIOME ANALYSIS OF FECAL
SAMPLES OF COLORECTALCANCER
PATIENTS FROM CHILE AND ARGENTINA**

Mayordomo A.C.¹, C. Tapia Valladares², H. Wood³, C. Young³, J. Argüero¹, A. Fuentes Balaguer³, J. Fuhr Etcheverry¹, W. Pavicic¹, M. Risk¹, P. Quirke³, L. Contreras Melendez², C. Vaccaro¹, T.A. Piñero¹. ¹Instituto de Medicina Traslacional e Ingeniería Biomédica (IMTIB) - CONICET - Instituto Universitario del Hospital Italiano (IUHI), Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA), Buenos Aires, Argentina; ²Universidad de los Andes, Santiago, Chile; ³Leeds Institute of Medical Research at St James's University Hospital, Pathology & Data Analytics, University of Leeds, UK. tamara.pinero@hospitalitaliano.org.ar

Studies about the colorectal cancer (CRC) associated microbiome have mainly been conducted in developed countries with a high incidence of colorectal cancer. In the present work, we compare the CRC-associated microbiome of two developing countries with intermediate CRC incidence, Chile and Argentina. Faecal samples from 10 healthy volunteers (HV) and 10 CRC patients from each country were collected using bowel cancer screening cards. Hiseq Illumina platform was used for V4 16SrRNA sequencing. Bioinformatics analysis was performed by QIIME2 and data was exported to determine taxa which differed significantly between groups using LEfSe. Alpha diversity was calculated and significance was assessed by the Kruskal-Wallis test. Weighted/Unweighted Unifrac distance was calculated and plotted as principal coordinate analysis plots. The significance of differences in beta diversity between groups was assessed by PERMANOVA analysis performed using the Adonis package for R. No significant differences in bacterial community structure and alpha diversity were detected. Statistical differences were observed in the beta diversity for unweighted UniFrac distances between the HV and CRC groups from each country. No differences at level of phylum in the relative abundance of *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* and *Verrucomicrobia* were detected. No significant differences in the ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* were found. The LEfSe analysis showed significant differences in taxa level independent analysis between HV and CRC groups in each country. The present work is the first comparative study of the faecal CRC-microbiome in South American countries. Local projects are underway to expand the number of patients and validate the present results.

Global Challenges Research Fund Networking Grants/100433.

GMO 3

IDENTIFICACIÓN BIOINFORMÁTICA DE LAS INTERACCIONES PROTEÍNA-PROTEÍNA DEL COMPLEJO CYC8-TUP1 EN *Xanthophyllomyces dendrorhous*

Campusano Galdames S.¹, D. Sepúlveda Lillo¹, P. Martínez-Moya¹, M. Baeza Cancino¹, J. Alcaíno Gorman¹, V. Cifuentes Guzmán¹. ¹Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile. s.campusano@hotmail.com

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidiomicete con la capacidad de producir astaxantina, un carotenoide de interés comercial. Recientemente, hemos observado que el complejo correpresor CYC8-TUP1 participa del proceso de regulación de su biosíntesis. En otros organismos, el complejo CYC8-TUP1 está vinculado a la regulación transcripcional de genes relacionados a varios procesos biológicos, y requiere de diversos factores de transcripción para ser reclutado a sus genes blancos. En este contexto, el conocimiento sobre las interacciones proteína-proteína del complejo es fundamental para comprender su función. Sin embargo, en *X. dendrorhous*, la información sobre las interacciones de este complejo y los alcances genéticos de su regulación es escasa. El objetivo de este trabajo fue identificar bioinformáticamente posibles productos génicos que interactuarían con el complejo CYC8-TUP1 en *X. dendrorhous*. Para ello, se secuenció su genoma mediante la tecnología SMRT (*Pacific Biosciences*®), se anotó con el software BRAKER1, identificándose 6.652 genes, y se estimó que su tamaño es de 20,2 Mb distribuidos en 16 contigs. Mediante BLASTp, se identificaron, en el genoma de *X. dendrorhous*, 112 posibles homólogos de 136 genes de *Saccharomyces cerevisiae* que codifican proteínas que interactúan con el complejo CYC8-TUP1 en esta última levadura tomada como referencia. Finalmente, se identificaron 20 factores de transcripción dentro de estos posibles homólogos mediante el software DeepTF. Nuestros resultados sugieren que la red de interacción del complejo CYC8-TUP1 se encuentra bien conservada en *X. dendrorhous* y otorgan una primera aproximación al rol central del complejo en los mecanismos de respuesta de esta especie.

FONDECYT 1180520; Beca ANID 21211983

GMO 4

ESTUDIO DEL EFECTO DE MUTACIONES DE GENES QUE PARTICIPAN EN RESPUESTA A ESTRÉS DE *Xanthophyllomyces dendrorhous* - UN ENFOQUE MULTIÓMICO

Martínez-Moya P.¹, S. Campusano¹, D. Sepúlveda¹, M. Baeza¹, J. Alcaíno¹, V. Cifuentes¹. ¹Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile. pilarmmm@gmail.com

Xanthophyllomyces dendrorhous produce astaxantina, pigmento valorado biotecnológicamente. Su biosíntesis está sujeta a represión catabólica por glucosa a través de MIG1, que recluta al complejo correpresor CYC8-TUP1 a sus genes blanco. La actividad de CYC8-TUP1 depende del factor con el que interactúe y de las condiciones metabólicas y ambientales de la célula. En otros organismos, los factores de transcripción ROX1, SKN7 y YAP6 participan de la respuesta a estrés a través de CYC8-TUP1, regulando la expresión de diversos genes frente a una condición determinada. Sin embargo, en *X. dendrorhous* los procesos regulados por estos factores de transcripción y su complejidad son desconocidos. En este trabajo, se caracterizó el efecto de mutaciones en los genes reguladores ROX1, SKN7 y YAP6 mediante el análisis de perfiles transcriptómicos (RNA-seq) y proteómicos (iTRAQ8) en dos fuentes de carbono. Los genes diferencialmente expresados (DEGs) y las proteínas diferencialmente abundantes (DAPs) fueron clasificados funcionalmente de acuerdo a la base de datos KEGG. En ambas condiciones, se observó a nivel transcriptómico en las tres mutantes, que las categorías funcionales más representadas por los DEGs fueron “procesamiento de información genética” y “procesamiento de información ambiental y procesos celulares”. Mientras que, a nivel proteómico, las categorías funcionales más representadas por las DAPs fueron “metabolismo de carbohidratos” y “procesamiento de información genética” en las tres mutantes. Estos resultados mostraron que, a pesar de afectar a diferentes blancos, los factores de transcripción ROX1, SKN7 y YAP6 regulan procesos similares en *X. dendrorhous*, principalmente orientados a la respuesta al componente ambiental.

FONDECYT 1180520; Beca ANID 21211983

GMO 5

CARACTERIZACIÓN DE FPAD, POSIBLE REPRESOR GENERAL DE GENES DE TRANSPORTADORES DE AMINOÁCIDOS DE *Aspergillus nidulans*

Dourron J.¹, C. Scazzocchio^{2,3}, M. Sanguinetti¹, A. Ramón¹.
¹Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República; ²Department of Microbiology, Imperial College London, London, UK; ³Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC), Gif-sur-Yvette, France. anaramon@fcien.edu.uy

Ante la carencia de fuentes primarias de carbono y/o nitrógeno, los hongos utilizan fuentes alternativas (como los aminoácidos), lo cual requiere de la síntesis de transportadores de membrana específicos y de enzimas para su metabolización. El estudio en hongos modelo como *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus nidulans* ha permitido la caracterización estructural y funcional de varios de estos transportadores. Este trabajo propone la caracterización de un posible represor general de la transcripción de genes que codifican para permeasas de aminoácidos de *A. nidulans*. En estudios previos se encontró un mutante en el locus *fpad* (*fpad43*), resistente a D-serina y a para-fluorofenilalanina (análogos tóxicos L-Ser y Phe, respectivamente), siendo la mutación semidominante frente al alelo *wild type*. El mutante *fpad43* presenta alterada su capacidad de transporte de otros aminoácidos y análogos tóxicos. En FpaD se predicen varios motivos de unión al ADN (un homeodominio y tres dedos de Zn de tipo C₂H₂) y dos señales de localización nuclear (NLSs). *fpad43* introduce un cambio de una Ala por un Asp en uno de los dedos de Zn. Este sistema de regulación no descrito previamente, sería diferente del conocido en *S. cerevisiae*, que posee un sistema de inducción general de genes de varias permeasas de aminoácidos. Este trabajo tiene por objetivo verificar el rol de FpaD como represor, identificar sus genes blanco y caracterizar sus sitios de unión en las regiones reguladoras de éstos. Asimismo, se investigará la relevancia funcional de los DBDs identificados y de las NLSs predichas.

PEDECIBA Biología

GMO 6

EFFECTO DE CARBOHIDRATOS Y MUTACIONES DE REGULADORES QUE INTERACTÚAN CON EL COMPLEJO-CYC8-TUP1 EN PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN *Xanthophyllum dendrorhous*

Sepulveda D.¹, S. Campusano Galdames¹, P. Martínez-Moya¹, M. Baeza¹, J. Alcaíno¹, V. Cifuentes¹. ¹Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile. dony@uchile.cl

La levadura basidiomicete *Xanthophyllum dendrorhous* produce astaxantina y otros metabolitos secundarios, que estarían regulados por el complejo correpressor CYC8-TUP1. En esta levadura, al igual que en *S. cerevisiae* se han identificado los genes reguladores *SKN7*, *YAP6*, *ROX1*, *HXK2*, *HOG1* y *OPI1*, involucrados en varios procesos celulares, los cuales interactuarían con el complejo CYC8-TUP1. Para estudiar la regulación genética de la biosíntesis de metabolitos secundarios de *X. dendrorhous*, se identificaron, clonaron, analizaron bioinformáticamente y mutaron dichos genes. Para ello, se diseñaron y elaboraron módulos de delección y se reemplazaron sus ORFs por genes de resistencia a higromicina y zeocina. Se obtuvieron mutantes homocigotos mediante transformación integrativa de la cepa silvestre diploide con los respectivos módulos de resistencia. El complejo correpressor CYC8-TUP1 está implicado en el metabolismo de regulación por glucosa, y como una forma de estudiar la delección de estos genes en la producción de metabolitos secundarios se estudió el crecimiento de ellos en medio mínimo YNB con glucosa o maltosa al 2%. El análisis del mutante *yap6*^(-/-) mostró un crecimiento lento inicial, respecto la cepa silvestre, en ambos medios, alcanzando posteriormente el mismo nivel crecimiento en la fase estacionaria. Respecto a la producción de metabolitos secundarios como pigmentos, micosporina y ergosterol, estos fueron afectados de distinta forma según la fuente de carbono; para la delección *rox1*^(-/-) en maltosa la producción de pigmentos fue similar a la cepa silvestre, siendo mayor que en medio con glucosa. Además, en glucosa los mutantes *skn7*^(-/-) y *yap6*^(-/-) mostraron mayor producción de pigmentos.

FONDECYT 1180520

GMO 7

DIVERSIDAD FÚNGICA ASOCIADA AL “MAL DE LA TELA” EN PLANTACIONES DE *Ilex paraguariensis*

Stachuk M.¹, C. Centeno¹, P. Martina¹, J. Ferreras¹. ¹ Instituto de Biología Subtropical (UNaM-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Argentina. mica.stachuk@gmail.com

El “mal de la tela” es una enfermedad fúngica con gran impacto en yerba mate (*Ilex paraguariensis*), que comenzó a reportarse en los últimos 10 años y que produce el secado de tallos y hojas con la consiguiente merma en la producción. En un principio se determinó a *Rizhoctonia solani* como el agente causal de la enfermedad, aunque con bastante controversia. En los últimos años distintos grupos trataron de resolverla y en 2019 se identificó por métodos clásicos, a *Ceratobasidium niltosouzanum*, una especie que había sido recientemente descrita, como la responsable de la enfermedad. En ese esfuerzo por clarificar el agente causal, nuestro grupo siguió una estrategia de análisis metagenómico usando la región ITS2 para determinar la diversidad fúngica asociada a hojas enfermas. En este trabajo reportamos los resultados del análisis de cuatro muestras aisladas de diferentes lotes y en diferentes años (2019 y 2021) donde, por un lado, se comprueba la presencia mayoritaria de secuencias ITS2 de *Ceratobasidium niltosouzanum* y no de *Ceratobasidium chavesanum*, una especie muy relacionada, y se muestran algunos posibles polimorfismos. Además de esta especie, también reportamos las demás especies fúngicas encontradas, algunas de las cuales ya se conocen como patógenos. Los resultados aquí mostrados son una importante contribución no solo para confirmar el agente etiológico del mal de la tela, sino para aportar datos hacia el estudio de la evolución de la patogenia, donde el grado de incidencia o severidad, podría estar afectada, además de *Ceratobasidium niltosouzanum*, por la diversidad fúngica asociada.

INYM (Instituto Nacional de la Yerba Mate)

GMO 8

UTILIZACIÓN DE AISLADOS NATIVOS CHILENOS DE *S. eubayanus* PARA LA GENERACIÓN DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS

Zavaleta V.¹, F. Cubillos¹. ¹Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Chile. vasni.zavaleta@gmail.com

La fermentación de mosto de cerveza lager ha sido llevada a cabo por el híbrido *S. pastorianus* (*S. cerevisiae* x *S. eubayanus*), el cual posee una alta capacidad fermentativa y un elevado consumo de azúcares del mosto, entre ellos maltotriosa. No obstante, *S. pastorianus* posee una diversidad genética estrecha, lo cual incide en las propiedades organolépticas de las cervezas lager producidas globalmente. Desde la identificación de la levadura criotolerante *S. eubayanus*, nuevos enfoques se han desarrollado para ampliar el repertorio genético de las cepas lager. Mediante la hibridación interespecífica se pueden mejorar características ausentes en aislados de *S. eubayanus*, como la incapacidad de fermentar maltotriosa. En este trabajo, evaluamos la heterosis de híbridos *S. cerevisiae* x *S. eubayanus* generados a partir de cepas de *S. cerevisiae* aislados desde distintos entornos de actividad humana y que crecen eficientemente en maltotriosa, y cepas nativas chilenas de *S. eubayanus* con alta capacidad fermentativa. La hibridación se realizó mediante el método espora-espora y los híbridos fueron confirmados por la amplificación de los marcadores *FSY1* y *MEX67*, correspondientes a *S. eubayanus* y *S. cerevisiae* respectivamente, y por RFLP sobre el amplicón del ITS. Finalmente, determinamos la capacidad fermentativa y consumo de maltotriosa a bajas temperaturas de los híbridos generados. Mediante el presente trabajo verificamos la viabilidad de utilizar aislados nativos chilenos de *S. eubayanus* en la generación de híbridos interespecíficos estableciendo la heterosis como un fenómeno clave en la diversificación del repertorio genético de levaduras usadas en la producción de cervezas lager.

GMO 9

INFLUENCIA DE VARIACIONES NATURALES EN CEPAS NATIVAS DE *Saccharomyces eubayanus* EN LA ADAPTACIÓN A MEDIOS FLUCTUANTES GLUCOSA-MALTOSA

Quintrel Poblete P.A.¹, F. Cubillos¹, J. Molinet Parada¹.

¹Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Chile. paquintrel@gmail.com

Levaduras del género *Saccharomyces* son utilizadas en cervecería por su capacidad de fermentar distintos azúcares presentes en el mosto, como glucosa y maltosa. La presencia de glucosa arresta la expresión de genes involucrados en el consumo de otros azúcares, así como de genes involucrados en la respiración, fenómeno conocido como 'represión por glucosa'. El agotamiento de glucosa activa un recableado metabólico en la levadura permitiéndole metabolizar otros azúcares, proceso llamado 'shift diaúxico', el cual varía en tiempo entre cepas. Actualmente se han aislado en la Patagonia Chileno-Argentina nuevas cepas de *S. eubayanus* con potencial de fermentación de cerveza a bajas temperaturas. Análisis de dos cepas nativas de esta especie (CL467.1 y QC18) presentan diferencias en su perfil fermentativo, destacando la existencia de diversidad genética intraespecie. La cepa QC18 presenta un mal desempeño fermentativo y mayor tiempo de adaptación en medios fluctuantes Glucosa-Maltosa, sin embargo, se desconocen las bases genéticas de este fenotipo. Análisis transcriptómico entre estas cepas revelaron un enriquecimiento de genes diferencialmente expresados que son regulados por los factores de transcripción *HAP4*, *HAP5*, *CIN5* y *PUT3*; y estarían involucrados en las diferencias por 'shift diaúxico' entre cepas. Cepas mutantes para *HAP5* y *CIN5* demostraron diferencias en las cinéticas de crecimiento en medios fluctuantes, respecto a las cepas *wild type*, indicando de que estos genes podrían influir en la adaptación glucosa-maltosa. Nuestros resultados demuestran la existencia de variaciones naturales en levaduras nativas de *S. eubayanus* involucradas en la represión por glucosa y 'shift diaúxico', probablemente debido a diferencias en disponibilidad de azúcares en ambientes naturales.

iBio ICN17_022 ICM-ANID

GMO 10

OBTENCIÓN DIRECTA POR SECUENCIACIÓN MASIVA DEL GENOMA COMPLETO DEL VIRUS DISTEMPER CANINO

Condon E.¹, S. Grecco¹, E. Fuques¹, R. Pérez¹, Y. Panzera¹.

¹Biología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. econdon@fcien.edu.uy

El virus distemper canino (CDV) es el agente etiológico del moquillo o joven edad, una de las enfermedades infecciosas de mayor relevancia en cánidos. CDV (Paramyxoviridae, Morbilivirus) presenta una distribución mundial con un amplio rango de huésped, infectando carnívoros, roedores, suinos y primates no homínidos. Posee un genoma ARN simple hebra de polaridad negativa de 15,7 kb. El análisis de este genoma es fundamental para entender la evolución y aportar al control del virus. En este trabajo, se estandarizó una metodología para obtener el genoma viral completo de CDV directamente de una muestra biológica, sin necesidad de previo enriquecimiento por cultivos celulares. La técnica se aplicó sobre una muestra de orina diagnosticada como positiva para CDV, colectada en Uruguay en el año 2017. El genoma fue extraído, retrotranscrito y sometido a amplificación por desplazamiento múltiple. Posteriormente se realizó la construcción de una librería Illumina y se secuenció en un MiniSeq (Illumina) en la Plataforma Genómica Facultad de Ciencias-UdelaR. Para el ensamblado y la anotación de la secuencia se utilizó el *software* Geneious empleando como referencia la cepa 5804P (GenBank ID: AY386316.1). El genoma completo presentó una cobertura promedio de 127,3× y una homología del 95% con la cepa de referencia. Análisis filogenéticos basados en el gen de la hemaglutinina indican que esta variante agrupa con las secuencias uruguayas del linaje EU1/SA1. La aplicación de esta metodología en muestras uruguayas y latinoamericanas permitirá profundizar en el análisis de los patrones de variabilidad genética de este patógeno.

FCE_1_2019_1_155660

GMO 11

ANOTACIÓN FUNCIONAL DE PROTEÍNAS HIPOTÉTICAS DENTRO DEL GENOMA DE *Mycobacterium microti* POR MEDIO DE HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS

Opazo Luna M.², V. D' Afonseca¹, S. Cuadros Orellana².
¹Ingeniería en Biotecnología, Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Chile; ²Centro de investigaciones de estudios avanzados del Maule, Vicerrectoría de investigación y posgrado, Universidad Católica del Maule, Chile. Melanyopazo@outlook.es

Mycobacterium microti es miembro del complejo MBTC (complejo *Mycobacterium tuberculosis*) junto con otras especies como *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. canetti* y *M. bovis*. Todas pueden desencadenar la enfermedad tuberculosis en los mamíferos. *M. microti* presenta su información genómica desactualizada en los repositorios públicos en comparación con los otros miembros. El presente estudio tiene como objetivo actualizar la información sobre el genoma de *M. microti* y ayudar a comprender mejor la biología de los patógenos pertenecientes al complejo MBTC mediante anotación funcional de las proteínas hipotéticas dentro del genoma de *M. microti*. Además, se pretende predecir *in silico* islas de patogenicidad, islas de resistencia e identificar pseudogenes en ese genoma. Como resultado, se predijo una nueva función al 65,05% de las 1.217 proteínas anotadas como hipotéticas. Parte de las hipotéticas proteínas de *M. microti*, son productos de genes asociados a la virulencia, resistencia a metales y antibióticos. Fueron identificadas 18 islas de patogenicidad y 11 islas de resistencia, ambas con elementos clásicos observados en islas de este tipo como diferencia en el contenido G+C y desvío en el uso de codones. Dentro de las proteínas hipotéticas, 14 se predijeron como pseudogenes, un dato que no estaba reportado anteriormente. En conclusión, este estudio bioinformático sobre el genoma de *M. microti* refuerza el conocimiento sobre la resistencia y patogenicidad de esta micobacteria. El estudio ofrece un nuevo atlas genómico de *M. Microti* con nuevas anotaciones genómicas, información útil que permite una mejor comprensión del comportamiento de virulencia y patogenicidad de las micobacterias.

GMO 12

GENES DEL SISTEMA T3SS EN LA POBLACIÓN DE *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ASOCIADO AL CEREZO (*Prunus avium* L.) EN CHILE

Beltrán M.F.¹, F. Correa¹, J. Otarola¹, P. Millas², R. Almada³, A. Zamorano⁴, N. Fiori⁴, L. Pizarro⁵, S. Pérez⁵, C. Rubilar⁵, M. Pinto⁵, B. Sagredo¹.
¹Centro Regional Rayentué, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Rengo, Chile; ²Centro Regional Quilamapu, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chillán, Chile; ³Centro de Estudios Avanzados en Fruticultura (CEAF), Rengo, Chile. ⁴Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile; ⁵Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales, Universidad de O'Higgins, San Fernando, Chile. bsagredo@inia.cl

Pseudomonas syringae es un patógeno bacteriano de plantas que es ampliamente usado como modelo en el estudio de la interacción patógeno-hospedero. La especificidad de un patovar de *P. syringae* por un hospedero radica en su repertorio de proteínas efectoras específicas del sistema de secreción tipo III (T3SS), el cual es requerido para la patogénesis. Este consiste en un sistema especializado de translocación de proteínas efectoras al citoplasma de las células de la planta, lo que resulta en supresión de la defensa, muerte celular y liberación de nutrientes que utiliza el patógeno. El estudio de los genes que participan del T3SS en la población de *P. syringae* pv. *syringae* (Pss) asociada al cáncer bacterial en cerezos (*Prunus avium*), permitirá inferir su aporte a la virulencia del patógeno y al desarrollo de la enfermedad. Se secuenciaron y ensamblaron los genomas de 29 aislados de Pss obtenidos de tejidos sintomáticos del cáncer bacterial en Cerezo. La identidad de los aislados fue confirmada mediante análisis MLST (*Multilocus sequence typing*). En los 29 genomas de Pss analizados se encontraron 10 genes del sistema de secreción y tres genes reguladores, los que forman los componentes básicos del T3SS. Todos los genomas presentaron los genes *AVRE1*, *HOPAA1* y *HOPM1*, que codifican para proteínas efectoras conservadas en la infección. Sin embargo, se observaron diferencias en la presencia de algunos genes efectoras (i.e. *AVRPPHB*, *HOPAF*, *HOPH1*). Estos resultados indican que existe diferencia a nivel de genes efectoras que pueden influir en la virulencia de un aislamiento.

Anillo O'Higgins ACTO190001 PIA – ANID; Proyecto Núcleo, Subsecretaría Ministerio de Agricultura de Chile

GMO 13

OCURRENCIA DE GENES DETERMINANTES DE RESISTENCIA AL COBRE EN ENSAMBLE GENÓMICO Y PLASMIDIAL EN POBLACIÓN DE *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

Beltrán M.F.¹, F. Correa¹, P. Millas², P. Hinrichsen³, J. Donoso³, P. Abarca¹, P. Meza³, S. Soto³, R. Bravo⁴, B. Sagredo¹.

¹Centro Regional Rayentué, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Rengo, Chile; ²Centro Regional Quilamapu, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chillán, Chile; ³Centro Regional La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Santiago, Chile; ⁴Centro Regional Remehue, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Osorno, Chile. mfrancisca.beltrang@gmail.com

El uso de compuestos antimicrobianos basados en cobre (CABC), para el control de enfermedades en la agricultura, ha llevado a una situación de contaminación de suelos y disminución en la eficacia de los CABC por emergencia de bacterias resistentes al cobre. Este es un fenómeno ampliamente observado en patovares de *Pseudomonas syringae*, patógenos que afectan varios cultivos hortofrutícolas. En la enfermedad del cáncer bacteriano del Cerezo en Chile, la alta incidencia del patógeno *P. syringae* pv. *syringae* (Pss), a pesar de las altas aplicaciones de CABCs para su control, nos ha llevado a profundizar en la búsqueda de genes determinantes de resistencia al cobre en la población de Pss. Se secuenciaron y ensamblaron genomas de 29 aislados de Pss obtenidos de huertos comerciales de Cerezo de diferentes zonas y se buscaron genes, del operón *copABCD* y el sistema *cus*, asociados a mecanismos de resistencia en bacterias. La resistencia de las bacterias al cobre fue determinada en medio MGY suplementado con 0,8 mM de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. En todos los aislamientos se observó la presencia de uno o varios genes correspondientes al operón *copABCD* y/o el gen *CUSA*. Más del 70% de los aislados bacterianos muestran resistencia al Cu (>0,8 mM de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Estos resultados indican que en la población de Pss existe una alta frecuencia de determinantes genéticos de resistencia al cobre presentes en su genoma cromosomal y/o en plásmidos. Esta situación llama a reconsiderar el uso de CABC en el control del cáncer bacteriano en Cerezo.

GMO 14

COMPARACIÓN DE GENOMAS DEL GÉNERO *Meloidogyne* PARA EL DESARROLLO DE MARCADORES MOLECULARES SSR ÚTILES PARA ESTUDIOS POBLACIONALES

Correa F.¹, P. Meza², M.F. Beltrán¹, P. Millas³, P. Hinrichsen², J. Donoso², P. Abarca¹, S. Soto², R. Bravo⁴, B. Sagredo¹.

¹Centro Regional Rayentué, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Rengo, Chile; ²Centro Regional La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Santiago, Chile; ³Centro Regional Quilamapu, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chillán, Chile; ⁴Centro Regional Remehue, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Osorno, Chile. fcorreas23@gmail.com

Los nemátodos del género *Meloidogyne* son uno de los más dañinos para la agricultura a nivel mundial. Se ha descrito en Chile la especie *M. ethiopica*, con alta prevalencia en la zona central del país. Contar con marcadores moleculares que permitan la identificación simple y rápida de las especies que componen este género, facilitará el estudio de sus poblaciones, aportando al desarrollo de estrategias integrales para su control y manejo. Se utilizaron ocho genomas de diferentes especies de *Meloidogyne*, disponibles en las bases de datos (NCBI), y se procedió a diseñar SSR altamente transferibles y que discriminen cada una de las especies. Se utilizó como referencia el genoma de *M. incognita* y se buscaron SSR con motivo 2-6 pb con un largo mínimo de 12 pb. El tamaño de los genomas ensamblados varió entre 41 Mbp y 281 Mbp. Se diseñaron partidores flanqueantes, los que se utilizaron para hacer PCR *in silico* en los ocho genomas. Se obtuvieron 3.945 partidores para un total de 5.286 SSR. 1.035 partidores amplificaron en los genomas de *M. luci*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. enterolobii* y *M. floridensis*, los que podrían ser utilizados en sistemática de estas especies. Se observó alta redundancia en los fragmentos amplificados, solo 15 partidores amplificaron una región única. No se obtuvo amplificación de estos partidores seleccionados en los genomas *M. graminicola*, *M. chitwoodi* y *M. hapla*. Al comparar el patrón de amplificación en los seis genomas que generaron amplicones, estos 15 partidores fueron polimórficos. La redundancia en los fragmentos amplificados puede deberse al estado de los ensamblados disponibles y la falta de un genoma de referencia.

Proyecto Núcleo, Subsecretaría Ministerio de Agricultura de Chile