

GMO

GENÉTICA DE MICROORGANISMOS

GENETICS OF MICROORGANISMS

GMO 1

USO DE SECUENCIAS DE *TEF1* PARA LA IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS DEL GÉNERO *Trichoderma*

Cornejo G.A.¹, J.G. Valdez². ¹FCEN-Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; ²EAA La Consulta INTA, Mendoza, Argentina. E-mail: anyelencornejo2014@gmail.com

Trichoderma (*Hypocreales*, *Ascomycota*) es un género muy común en suelos, donde establece asociaciones con plantas. Tiene un gran uso como biocontrolador. Presenta cinco secciones filogenéticas diferenciadas y más de 490 especies. El uso de secuencias de genes selectos es la forma más certera y ágil de identificación. Entre estas, las del factor de elongación de la transcripción (*tef*), son muy utilizadas por su nivel de resolución interespecífica. A partir de 20 aislados de *Trichoderma spp.* obtenidos de la rizosfera de plantas nativas, se realizó extracción de ADN por el método CTAB. Se amplificó por PCR con *TrichEF1*. *Fwd* (5'- AAGCTCAAGGCCGAGCGT -3') y *TrichEF2*. *Rev* (5'- CCAGCCTTGGTCTCCTTCTC -3') diseñados *ex profeso*. Los amplicones obtenidos se secuenciaron por Sanger. Las secuencias curadas y de referencia se alinearon en *MEGA* y se analizaron en *W-IQ-TREE* para la inferencia filogenética de máxima verosimilitud, con arranque ultrarrápido de mil repeticiones *bootstraps*. Se realizó el cálculo de similitudes por pares entre secuencias incógnitas y de referencia con la herramienta *ClustalOMEGA*. Los aislados se ubicaron en tres secciones del género: *Trichoderma* (dos aislados), *Longibranchiatum* (tres aislados) y *Harzianum* (15 aislados), con apoyo de similitud por pares. *Harzianum* resultó el clado más diverso. El análisis de las secuencias del gen *tef* permitió la resolución de la filogenia del género.

GMO 2

AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE BACTERIAS LÁCTICAS A PARTIR DE UVAS DE UN VIÑEDO EN TUPUNGATO

Zisa A.¹, R. Montiel¹, N.T. Olguin². ¹Universidad de Morón, Buenos Aires, Argentina; ²CONICET. E-mail: ramiro.montiel5@hotmail.com

Las bacterias lácticas (BL) son importantes en la elaboración del vino cuando se desea llevar a cabo la fermentación maloláctica (FML). En Argentina, es usual dejar que la FML ocurra de forma espontánea durante o luego de la fermentación alcohólica. Sin embargo, diferentes especies y cepas pueden otorgar al vino características organolépticas diferentes, por lo que resulta de interés investigar cuáles se desarrollan en el viñedo y en los vinos para que los enólogos puedan tener un mayor control de la FML. En este trabajo se aislaron bacterias con características de BL a partir de seis muestras de diferentes variedades de *Vitis vinifera* L. La morfología celular se observó al microscopio óptico con tinción de Gram. Se evaluó su resistencia al etanol (12% y 14%), en medio de cultivo, se realizó la prueba de catalasa y se tipificaron mediante la técnica de RAPD-PCR con los cebadores M13 y Coc. Como control, se utilizó la cepa ATCC 27310 de *Oenococcus oeni*. Encontramos similitudes morfológicas en las seis cepas, todas Gram positivas, catalasa negativo y resistentes a las condiciones de estanol estudiadas, aunque con diferencias en la biomasa generada. Se obtuvieron patrones similares y diferentes de bandas utilizando el cebador M13 y una sola de las bandas coincide con el control. Los resultados de la amplificación con el cebador Coc resultaron inconsistentes. El siguiente paso, será el de enviar a secuenciar un fragmento específico del gen 16S ribosomal para asegurar la correcta identificación a nivel de especie.

GMO 3

VARIABILIDAD BIOQUÍMICA Y CAPACIDAD PROMOTORA DE CRECIMIENTO DE CEPAS NATIVAS AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PEPERINA (*Minthostachys verticillata*)

Meneguzzi R.¹, C.J. Mójica², L. Cappellari¹, T. Palermo¹, S. Gil¹, J. Palermo¹, E. Banchio¹. ¹INBIAS- Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud (CONICET - Universidad Nacional de Río Cuarto), Río Cuarto, Córdoba, Argentina; ²Facultad de Agronomía y Veterinaria -Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. E-mail: rmeneguzzi@exa.unrc.edu.ar

En la provincia de Córdoba, se ha observado un preocupante aumento en la extracción de *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epling 1936 (peperina) con fines de uso y comercialización, lo que ocasiona una pérdida significativa de su diversidad genética. El objetivo de este trabajo fue caracterizar cepas nativas aisladas de la rizósfera de la peperina, que muestran propiedades de promoción de crecimiento vegetal (PGPR). Se analizaron 10 variables bioquímicas y seis variables PGPR. Con los datos cualitativos obtenidos se realizó un análisis multivariado de correspondencia. El agrupamiento para variables bioquímicas permitió clasificar las cepas en tres grupos principales. El primer grupo formado por nueve cepas caracterizadas por no hidrolizar caseína, almidón, lecitina y lípidos y no crecer a baja temperatura, el segundo grupo formado por cuatro cepas que hidrolizan caseína y crecen a baja temperatura y un tercer grupo constituido por dos cepas que hidrolizan almidón y lípidos. Para las variables PGPR se formaron dos grupos principales, un grupo formado por siete cepas que solubilizan fosfatos y producen ácido indol acético (AIA), y un segundo grupo con seis cepas caracterizadas por tener efecto antibiosis. Conocer la variabilidad de las cepas en cuanto a propiedades bioquímicas y PGPR es importante para poder seleccionar cepas que reúnan la mayor cantidad de propiedades con posibles efectos beneficiosos para el cultivo de la peperina y realizar una posterior caracterización genotípica de las mismas.

GMO 4

CONSECUENCIAS DEL USO DE VIRGINIAMICINA SOBRE LA MICROBIOTA CECAL EN POLLOS Y SU RELACIÓN CON PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS

Bovetti M¹, Iglesias B^{1,2}, Díaz Carrasco J^{3,4}. ¹Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Buenos Aires, Argentina; ²Sección Avicultura, Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Pergamino, Buenos Aires, Argentina; ³Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina; ⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). E-mail: malebovetti@gmail.com

Los antibióticos han sido ampliamente utilizados en la producción aviar para promover un crecimiento más rápido. Sin embargo, los mecanismos por los cuales los antimicrobianos contribuyen al crecimiento no han sido completamente dilucidados. El objetivo de este estudio fue investigar el impacto de la virginiamicina (VG) en la microbiota cecal de pollos de engorde, comparado con un grupo control sin antibiótico, y su relación con los parámetros zootécnicos. Se distribuyeron 420 pollitos Cobb 500 de un día en 20 corrales a piso, los cuales se asignaron a dos tratamientos dietarios en un diseño de bloques completos al azar. Los parámetros zootécnicos se monitorearon semanalmente. A los 21 días se sacrificó un ave de cada corral, se colectó el contenido cecal y se formaron dos *pools* (5 aves por *pool*) para cada tratamiento. A partir de cada *pool*, se extrajo ADN total, se amplificó la región V3-V4 del gen rRNA 16S y se realizó la secuenciación de alto rendimiento de los amplicones en la plataforma Illumina MiSeq. El análisis bioinformático de los perfiles de microbiota se realizó con el software QIIME2. El uso de VG indujo una mejora en los parámetros zootécnicos y cambios significativos en la composición de la microbiota cecal. Se observó una marcada disminución de la diversidad microbiana y un aumento de la abundancia relativa de grupos como Rikenellaceae ($p=0,043$), Alistipes ($p=0,043$), Bacteroides dorei ($p=0,040$) y Eubacterium ($p=0,030$). Este estudio proporciona información relevante para futuros esfuerzos que busquen replicar estos efectos utilizando enfoques alternativos.

GMO 5

ANÁLISIS METAGENÓMICO DE LA DIVERSIDAD VIRAL QUE AFECTA AL FITOPLANCTON MARINO EN TEJIDO DIGESTIVO DE LA OSTRA *Crassostrea gigas*

Lucero J.E.¹, E.S. Barbieri¹, L.A. Becker². ¹Centro Para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR) – CCT Centro Nacional Patagónico (CENPAT) CONICET, Chubut, Argentina; ²Instituto de Diversidad y Evolución Austral (IDEAUS) – CCT CENPAT CONICET, Chubut, Argentina. E-mail: johalucero.23@gmail.com

Los virus marinos son los agentes biológicos más pequeños y abundantes en los océanos (1×10^6 – 1×10^{11} partículas por mililitro). Aquellos que infectan a microorganismos son la principal causa de mortalidad celular con un total de 10^{23} eventos de infección por día, interviniendo en la dinámica de las comunidades y en el funcionamiento de los ciclos biogeoquímicos. Los bivalvos son organismos filtradores que concentran en su tejido digestivo todas las partículas del medio, incluyendo los virus. En las últimas décadas, la metagenómica es el principal enfoque mediante el cual se explora la virosfera marina y evidenció una enorme diversidad genética inexplorada en el mundo. En este trabajo, se realizó por primera vez una descripción metagenómica de la diversidad de virus que afectan al fitoplancton marino a partir de muestras de tejido digestivo de la ostra *Crassostrea gigas* de Bahía San Blas, Buenos Aires. Se analizaron seis *pools* de tejido digestivo en los que un total de 26.333.008 *reads* mapearon secuencias de virus pertenecientes a las familias Phycodnaviridae, Marnaviridae y Mimiviridae, y a especies de bacteriófagos. Marnaviridae fue la más abundante con el 1,05% de los *reads* y la más diversa con representantes de los géneros *Locarnavirus*, *Bacillarnavirus*, *Sogarnavirus* y *Salisharnavirus*. Este trabajo demostró que el tejido de molusco bioacumula virus en sus tejidos, siendo un buen recurso para el estudio de la diversidad viral y aportó información en la temática, desconocida hasta el momento en la zona de estudio.

GMO 6

DETECCIÓN DEL *Ostreid herpesvirus* (OSHV) MEDIANTE QPCR EN *Crassostrea gigas* EN EL GOLFO NUEVO, CHUBUT

Seiler E.N.¹, C. Frydman², M. Mozgovoij², L.A. Becker³, E.S. Barbieri¹. ¹Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR-CONICET), Chubut, Argentina; ²Instituto de Ciencia y Tecnología de Sistemas Alimentarios Sustentables (UEDD INTA CONICET), Buenos Aires, Argentina; ³Instituto de Diversidad y Evolución Austral (IDEAUS-CONICET), Chubut, Argentina. E-mail: erinanoeseiler@gmail.com

Ostreid herpesvirus (OsHV) es un miembro de la familia *Malacoherpesviridae* y fue detectado por primera vez en la ostra *Crassostrea virginica* en 1972. Desde 2008, ha causado mortalidades en cultivos de ostras en Europa, América y Asia. En Argentina se lo detectó por primera vez en 2018 en la especie *Crassostrea gigas* en el estuario de Bahía Blanca, Buenos Aires. Más tarde, se encontraron individuos de esta especie en un barco hundido en aguas del Golfo Nuevo, frente a las costas de Puerto Madryn. El objetivo de este trabajo fue determinar si el OsHV se encuentra presente en *C. gigas* del Golfo Nuevo. Para ello, se colectaron 32 ostras y se mantuvieron en acuario hasta su procesamiento. Se extrajo una porción de tejido de manto y branquia de cada individuo y se conservó a -80° C. Posteriormente se realizó extracción de ADN con el kit ADN PuriPrep-T (Inbio Highway) y se formaron *pools* que contenían cuatro o cinco muestras cada uno (siete *pools* de manto y siete de branquia). Los *pools* se analizaron mediante qPCR utilizando sondas Taqman y *primers* específicos (OsHV1BF/B4) para la detección del OsHV. De un total de 14 *pools* analizados, 11 resultaron positivos: cinco de manto y seis de branquia. Los resultados confirmaron la presencia del OsHV en tejidos de manto y branquia de la ostra invasora *C. gigas* presente en el Golfo Nuevo. Estos resultados plantean el interrogante de si el virus se encuentra en otras especies de bivalvos de la zona, por lo que resultará pertinente analizar tejidos de la fauna nativa como mejillones y cholgas.