

GMO

GENÉTICA DE MICROORGANISMOS

GENETICS OF MICROORGANISMS

GM0 1

DISEÑO DE PCR MÚLTIPLEX PARA DETECCIÓN DE MENINGITIS BACTERIANA

Ayala Fajardo A.F.¹, A.D. Saucedo Campos¹, A. Carmona González², S.C. Sigrist Flores¹, J.A. Ponciano Gómez¹, M.I. Mendoza Ramos¹, M. Campos Aguilar¹. ¹Laboratorio de Inmunología de la Unidad de Morfología y Función, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México; ²Laboratorios Centrales Microbiología, ISSEMyM, México. angie.fer.ayala@gmail.com

La meningitis bacteriana es una enfermedad grave y común, y actualmente los sistemas médicos nacionales carecen de herramientas de biología molecular adecuadas para su detección precisa y la identificación de los patógenos causantes. La PCR multiplex es una técnica sensible que permite la detección múltiple y simultánea de patógenos. En este estudio, se diseñaron juegos de oligonucleótidos con el objetivo de determinar por PCR la presencia de las bacterias con mayor incidencia en México: *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Listeria monocytogenes*. Cada conjunto de oligonucleótidos fue específico para cada bacteria cuyos genes se seleccionaron del NCBI (X12545.1, AJ560761.1, NZ_CP012480.1, M84012.1, AF268475.1 y HG783030.1, respectivamente). Estos se diseñaron de manera manual y se revisaron con ayuda de Integrated DNA Technologies, presentaron un tamaño de 18 a 22 nucleótidos de longitud, contenido de 40-60% de G-C, Tm de 50-62 °C, y sin presencia de dímeros, heterodímeros y hairpin. Las condiciones de la reacción fueron: 95 °C durante 15 min seguido de 40 ciclos de 95 °C durante 45 s y 60 °C durante 1 min. Las reacciones se llevaron a cabo por triplicado. El desarrollo de una PCR multiplex de detección de meningitis bacteriana como producto nacional facilitará las labores de diagnóstico molecular en México. Esto hará que el proceso no solo sea más económico, sino que también permitirá realizar múltiples reacciones de muestras independientes de forma simultánea, detectando específicamente la especie bacteriana causante de la enfermedad. Esto contribuirá a una detección accesible y precisa, ayudando a monitorear y facilitar el tratamiento de los pacientes con meningitis bacteriana.

GM0 2

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y ENZIMÁTICA PARCIAL DE UN CONSORCIO DE *Bacillus* AISLADO DE UNA SALINERA DE SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO

Arias Del Toro K.¹, M. Martínez García², G. Garduño Solórzano¹, A.C. Monsalvo Reyes², J.E. Campos Contreras². ¹Biología, Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México; ²Unidad de Biología Tecnología y Prototipos, FES Iztacala, UNAM, México. marmartinezgar@hotmail.com

El género *Bacillus* comprende un grupo heterogéneo con más de 100 especies de bacterias Gram-positivas, catalasa positiva, endoesporas altamente resistentes a condiciones extremas. Estas crecen en ambientes alcalinos y son de considerable importancia en aplicaciones biotecnológicas debido a su producción de enzimas como: xilanasas, ciclodextrina glucanotransferasa y las proteasas alcalinas, estas últimas ampliamente utilizadas en la industria de alimentos lácteos y recientemente como probióticos. En el presente trabajo se realizó el aislamiento y caracterización de un consorcio que incluye diferentes especies de *Bacillus* alcalófilos del sedimento de una salinera en San Luis Potosí (México). A partir del plaqueo del sedimento fueron obtenidas seis cepas de *Bacillus* a las cuales se les extrajo el ADN con el kit Bioneer, después se amplificó y secuenció la región del 16S. La determinación molecular permitió seleccionar dos cepas de *B. clausii* para realizar pruebas enzimáticas cualitativas de caseínproteasa en placa y en electroforesis. Los resultados moleculares, contrastados en el GenBank del NCBI, correspondieron a: dos cepas de *B. clausii* (SLP3, SLP5), y cuatro cepas del consorcio, delimitadas como las especies: *B. halotolerans*, *B. axarquiensis*, *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens*. Las cepas SLP3 y SLP5 presentaron una identidad del 99% con *B. clausii* DSM 8716 y KSM-K16, respectivamente. Asimismo, las de *B. halotolerans*, *B. axarquiensis* y *B. subtilis* mostraron una identidad del 99% con CCMM_B1213, ESR7 y CICC10034, respectivamente. Finalmente, la cepa de *B. amyloliquefaciens* presentó una identidad del 98% con X030. Por su parte, las cepas *B. clausii* mostraron actividad caseínproteasa, donde SLP5 fue la de mayor actividad.

GM0 3

ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *IN VITRO* DE *Bacillus* spp. Y *Pseudomonas putida* M5 AISLADAS DE LAS HECE DEL COLIBRÍ *Ramosomyia violiceps*

Raygoza Alcantar L.¹, L. Díaz-Pérez², V.C. Rosas-Espinoza², C.V. Sánchez-Hernández³, J. Hernández-Zulueta^{2,4}, F. Rodríguez-Gómez⁵, F.A. Rodríguez-Zaragoza². ¹Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara (UdeG), México; ²Laboratorio de Ecología Molecular, Microbiología y Taxonomía, Departamento de Ecología Aplicada, CUCBA, UdeG, México; ³Laboratorio de Marcadores Moleculares, Departamento de Producción Agrícola, CUCBA, UdeG, México; ⁴Departamento de Biología Celular y Molecular, CUCBA, UdeG, México; ⁵Laboratorio de Biodiversidad y Genómica, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, UdeG, México. lizeth.raygoza@alumnos.udg.mx

El microbioma intestinal de las aves silvestres participa en la aptitud del huésped por medio de la absorción de nutrientes, procesamiento de toxinas, función inmunitaria y actúa directa o indirectamente contra patógenos bacterianos por exclusión competitiva y producción de metabolitos antimicrobianos. El objetivo fue analizar la actividad antagónica *in vitro* de bacterias aisladas de las heces del colibrí corona violeta (*Ramosomyia violiceps*) frente a cepas de *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y *Acinetobacter baumannii*. En tres parques de la Zona Metropolitana de Guadalajara se colocaron redes de niebla. A los colibríes capturados se les tomaron muestras de heces. Las bacterias de las heces fueron aisladas y crio-preservadas. Para evidenciar la actividad antibacteriana de las cepas aisladas, se realizaron pruebas de antagonismo cualitativas (*cross-streak* y *radial streak*) y cuantitativas con microplaca de poliestireno contra *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *S. enterica* y *A. baumannii*. Las cepas que presentaron actividad antagónica se identificaron utilizando el gen ARNr 16S. Se aislaron 134 cepas intestinales, solo seis presentaron actividad antagónica: *Bacillus* sp. 1 S4, *Bacillus* sp. 2 M21, *B. altitudinis* M15, *B. thuringiensis* C8 y *B. subtilis* S6 contra *Bacillus cereus*, *B. tequilensis* y *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas putida* M5 frente a *Bacillus* spp., *E. coli*, *S. enterica* y *A. baumannii*. Este resultado indica que algunos *Bacillus* y *Pseudomonas* del ensamblaje bacteriano cultivable del intestino del colibrí producen metabolitos secundarios que inhiben el crecimiento de cepas patógenas Grampositivas y Gramnegativas.

Financiamiento: Beca de Doctorado en Biosistemática, Ecología y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas, Centro Universitario de Ciencias Biológicas; Proyecto P3E y PROSNI, UdeG 2021–2025

GM0 4

ANÁLISIS DEL GENOMA COMPLETO E IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS DE GENES BIOSINTÉTICOS EN CEPAS DE *Streptomyces* AISLADAS DE *Vitis vinifera*

Montes-Montes G.¹, R. González-Escobedo¹, L.N. Muñoz-Castellanos², G.D. Avila-Quezada³, A. Borrego-Loya², I. Ortiz-Aguirre¹, Z.Y. Muñoz-Ramírez². ¹Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, México; ²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, México; ³Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. romangize@hotmail.com

Las bacterias del género *Streptomyces* son reconocidas por su capacidad para producir una amplia variedad de metabolitos secundarios bioactivos. En este estudio, se utilizó la secuenciación del genoma y el análisis bioinformático para explorar el potencial biosintético de dos cepas de *Streptomyces* aisladas de la rizósfera de *Vitis vinifera* en Chihuahua, México. Se secuenciaron los genomas completos de estas cepas, seguidos del ensamblado, anotación, análisis filogenómico y pangenómico, así como la búsqueda de grupos de genes biosintéticos. Se encontró que la cepa *Streptomyces* sp. LM32 posee un genoma de 8,1 Mb con un contenido de GC del 72,14%, mientras que la cepa *Streptomyces* sp. LM65 tiene un genoma de 7,3 Mb y un contenido de GC del 71%. Los análisis filogenómicos, pangenómicos y de Identidad Nucleotídica Promedio (ANI) indicaron que la cepa LM32 está estrechamente relacionada con *S. coelicoflavus*, mientras que la cepa LM65, con *S. achromogenes* subsp. *achromogenes*. En la cepa LM32 se identificaron 14 grupos de genes codificantes/implicados en la producción de metabolitos secundarios con más del 80% de similitud con genes de referencia utilizando antiSMASH. Estos grupos incluyen genes que codifican para enzimas involucradas en la biosíntesis de la undecilprodigiosina, coelichelina, germicidina, 5-dimetilalilindol-3-acetonitrilo, coelibactina, ectoína, naftomicina A, hopeno, diastafenazina/izumifenazina C, entre otros. Por otro lado, en la cepa LM65 se encontraron nueve grupos de genes que codifican para enzimas involucradas en la biosíntesis de geosmina, albaflavenona, livipeptina, ectoína, desferrioxamina B/desferrioxamina E, flaviolina/1,3,6,8-tetrahidroxinaftaleno, entre otros. Estos resultados proporcionan información valiosa sobre el perfil genómico de las cepas de *Streptomyces* de la rizósfera de vid, destacando su potencial para aplicaciones biotecnológicas en la biosíntesis de metabolitos secundarios bioactivos.

Sin financiamiento.

GM0 5

DESARROLLO DE MARCADORES MICRO Y MINISATÉLITES PARA EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD Y DIFERENCIACIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Nosema ceranae*

Lannutti L.^{1,2}, J.I. Saborit^{1,3}, A. Leenen⁴, M. Basualdo⁵, G. Rodríguez⁶, S. Gisder⁴, E. Genersch⁴, M. Florin-Christensen^{1,2,7}, L. Schnittger^{1,2,7}.
¹CONICET, Argentina; ²Universidad de Morón, Argentina; ³Universidad Nacional de San Martín, Argentina; ⁴Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf e. V., Brandeburgo, Alemania; ⁵Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina; ⁶INTA-Hilario Ascasubi, Argentina; ⁷Instituto de Patobiología Veterinaria, INTA-Hurlingham, Argentina. llannutti@unimoron.edu.ar

El microsporidio *Nosema ceranae* es un parásito intracelular obligado que infecta a las abejas melíferas. En los últimos años se ha observado un aumento en su prevalencia. Esto ha despertado interés en el impacto de *N. ceranae*, en la salud de las colmenas, así como en la diversidad y diferenciación de sus poblaciones. Los micro- y minisatélites o STR (siglas en inglés de *short tandem repeats* (STR), son marcadores codominantes adecuados para captar la diversidad genética de *Nosema*. Se diseñaron *primers* para la amplificación de 112 STRs identificados en el genoma de *N. ceranae*. Después de una verificación de su especificidad *in silico*, 89 pares de *primers* fueron testeados experimentalmente por PCR utilizando ADN de *N. ceranae* de diferente origen geográfico, seguida de electroforesis en geles de agarosa de alta resolución y electroforesis capilar. Se analizaron los patrones de bandas, considerando tres criterios principales: generación de amplicones de diferentes tamaños por muestra para un determinado STR, diferencias en el tamaño de los amplicones entre muestras y consistencia entre tres réplicas de la misma muestra. Se identificaron seis STRs como marcadores adecuados. Se determinaron la temperatura de hibridación óptima y la sensibilidad de detección para cada marcador. Además, se secuenciaron los amplicones generados de diversas muestras para verificar su identidad. La aplicación de los marcadores a muestras de ADN genómico aislado de abejas positivas para *N. ceranae* por microscopia, que provienen de otras regiones del mundo, está en curso. Resultados preliminares sugieren que es posible diferenciar con este sistema poblaciones geográficamente distantes y/o de diferentes apiarios de *N. ceranae*.

Financiamento: INTA, 2023-PE-L01-I069, UM, 80020220100013UM

GM0 6

Saccharomyces eubayanus NATURAL VARIATION IN MALTOSE ADAPTATION AND CONSUMPTION

Quintrel Poblete P.A.^{1,2}, F. Muñoz Guzman^{1,2}, C. Muñoz Tapia^{1,2}, F. Cubillos Riffo^{1,2}. ¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Chile; ²Millenium Institute for Integrative Biology, Chile. paquintrel@gmail.com

In beer fermentation, yeast adapt their metabolism for each sugar available using diverse regulatory mechanisms. In wort, glucose arrests the expression of maltose consumption genes, despite that this disaccharide is the most abundant in it. Glucose depletion leads to a metabolic rewiring in yeast, allowing it to metabolize maltose. This process, called 'diauxic-shift', can cause extensive lag-phase, slowing down fermentation speed and impacting in the final product. *Saccharomyces eubayanus* exhibits a diauxic-shift natural variation during glucose-maltose consumption. QC18 strain shows long diauxic-lag in media containing high maltose concentration, while CL467.1 strain exhibits a faster diauxic-shift. Interestingly, this phenotype is specific for maltose. Through QTL-analysis, two candidate regions were identified in chromosomes V and XVI. Each region contains a copy of the MAL locus (MALChrV and MALChrXVI), which includes three genes involved in maltose utilization (*MAL31*, *MAL32*, *MAL33*). Reciprocal-hemizyosity assay were employed to validate candidate QTLs revealing phenotypic differences between the Reciprocal Hemizygotes (RH). RH lacking the CL467.1 MALChrV allele were unable to grow in maltose; RH carrying only the QC18 MALChrXVI allele had lower growth compared to those who only carry the CL467.1 allele. Additionally, bioinformatic analysis revealed the existence of a premature stop codon in the transcriptional activator gene *MAL33* within the MALchrV of QC18 strain. By performing a heterologous complementation strategy, we analyze the maltose utilization in QC18 strain by expressing the *MAL33* gene from CL467.1. These results demonstrate that natural variants influence sugar consumption in wild yeasts. This work revealed potential genetic targets for novel beer strains.

Funding: Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile; ANID BECAS/DOCTORADO NACIONAL 21201057