

Vacunas. No se les perdona haber salvado vidas

Beatriz S. Méndez

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina

bea@qb.fcen.uba.ar

El mundo de hoy es complejo, siempre hay muchas opiniones sobre un mismo problema. Sin embargo hay problemas clásicos de cierta antigüedad que persisten, como el de las vacunas y su uso. Esta historia comenzó a causa de la viruela. La viruela es una enfermedad cuyo origen se estima alrededor de 10.000 AC. Se originó en sitios en los cuales se desarrollaba actividad agrícola para luego extenderse mundialmente mediante la navegación, traslados durante guerras y descubrimientos de nuevas tierras. El método más antiguo y extendido para combatir la viruela era la **variolización**, que consistía en la inoculación a personas sanas con material proveniente de pústulas de viruela de otra persona.

Edward Jenner, nacido en Inglaterra a principios del siglo XVIII y con formación en medicina y zoología, al observar que las mujeres encargadas de ordeñar vacas desarrollaban formas muy leves de viruela, inoculó personas sanas con material extraído de pústulas de dichas mujeres y las inmunizó. Habían nacido las vacunas (del latín vacca)¹. El éxito de Jenner consistió en usar material de origen no humano y además constatar que las personas vacunadas no contraían la enfermedad. Envió sus resultados a la Royal Society, que no los publicó (era de esperar, N. del A.). Sin embargo, para darlos a conocer, revisó y amplió el número de sus experimentos y costó su publicación [1].

Por supuesto, como cualquier novedad por más útil que fuese, provocó rechazo de buena parte de la población, en este caso en Inglaterra, incluyendo políticos, padres de familia y eclesiásticos. A medida que las autoridades sanitarias de los distintos países implementaban la vacunación obligatoria, los rechazos y las protestas se expandían exhibiendo las más variadas razones, desde considerar que la vacunación no era cristiana hasta que atentaba contra la libertad personal [2,3]. En Argentina los distintos gobiernos entre 1810 y hasta entrado el siglo XX procuraron y al final lograron, tras largas y encendidas luchas, hacer obligatoria la vacunación antivariólica [4]². Sin embargo es de hacer notar que tan temprano como 1803 -1806 la Real Expedición Filantrópica de la Vacuna, financiada por el rey de España Carlos IV y dirigida por el médico Francisco Javier Balmes vacunó niños desde las islas Canarias, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Nueva España hasta las Filipinas y China [5].

La obligatoriedad de la vacunación, en principio fue solo contra la viruela dando como resultado su **extinción**. También se extendió a otras enfermedades por lo cual se espera próximamente dicho logro en referencia a la poliomielitis.

Sin embargo no hay motivos para mantenerse seguros. Por razones difíciles de comprender o tal vez porque son inherentes a la naturaleza humana, siempre existió un rechazo soterrado a la vacunación que en los últimos veinte años ha cobrado una extensión significativa. Fue un médico inglés, Andrew Wakefield, quien en 1998 adjudicó a las vacunas contra sarampión, paperas y rubeola (MMR por sus siglas en inglés) el desarrollo de autismo en niños. Si bien posteriormente se puso en evidencia que Wakefield había recibido dinero de un grupo de abogados que litigaban contra empresas productoras de vacunas, y fue inhabilitado para practicar medicina, el mal estaba hecho [6]. En ese año la trascendencia de esta acción y sus

consecuencias fueron limitadas, mas al poco tiempo, la aparición de Google y de plataformas de redes sociales (Facebook y otras) magnificaron la difusión de temores no justificados sobre las vacunas que pasaron a estar incluidos en las hoy llamadas *fake news* [7].

Algunas voces reclaman que la manipulación de la información en las redes sociales debe ser considerada una amenaza global a la salud pública. Heidi Larson, fundadora y directora del Vaccine Confidence Project, señala las clases de información errónea con respecto a la vacunación y los múltiples intereses que la mueven. La primera la provocada por Wakefield. La segunda el apoyo a la desinformación por grupos interesados en la venta de libros u otros productos. Un tercer grupo está formado por los que provocan discusiones, en este caso sobre vacunas, por motivos políticos. También es necesario incluir a la difusión de noticias en gran escala sobre este tema en las redes sociales y por último a las conversaciones sin sustento científico que tienen lugar entre la población. Larson señala que si una gran epidemia de gripe sucediera ahora como en 1918, el número actual de personas no vacunadas haría que no hubiese que envidiar a la que provocó 10 millones de muertes hace poco más de un siglo. [8]

Mientras tanta la Organización Mundial de la Salud (OMS) sigue trabajando mediante la aplicación de su Plan de Acción Mundial sobre las Vacunas (GVAP sus siglas en inglés) cuyo objetivo es : *"mejorar la salud mediante la ampliación más allá de 2020 de todos los beneficios de la inmunización a todas las personas, independientemente de su lugar de nacimiento, quiénes son y dónde viven"*. Por ejemplo, se estima que si se cumple con los objetivos de cobertura para la introducción y/o la utilización continua de únicamente diez vacunas aplicables a: Hepatitis B, *Haemophilus influenzae*, Virus del papiloma humano, Encefalitis japonesa, Sarampión, Meningococo A, Neumococo, Rotavirus, Rubéola y Fiebre amarilla, se pueden evitar 24 a 26 millones de muertes en 94 países durante el decenio 2011-2020, frente a un escenario hipotético según el cual estas vacunas tendrían una cobertura nula [9].

Paralelamente la OMS ha incluido este año el rechazo a las vacunas entre los 10 riesgos para el planeta, ya que calcula que estos medicamentos salvan varios millones de vidas al año. Un ejemplo de su eficacia está dado por la disminución de los casos de poliomielitis en países asiáticos, lo que probablemente lleve a la extinción de dicha enfermedad.

Indudablemente estamos ante una situación peligrosa que puede llevar a enfermedades y muertes cuyas consecuencias sociales son difíciles de evaluar, pero que evidentemente no serían beneficiosas para la humanidad. Desde el punto de vista individual ¿qué se puede hacer?. Por supuesto se supone que los lectores de Química Viva cumplen con los programas de vacunación, pero tal sea posible esclarecer sus ventajas ante las opiniones sin fundamento de los escépticos ya sea mediante escritos, conferencias o simples conversaciones.

Notas al pie

1. *"In this dairy country a great number of cows are kept, and the office of milking is performed indiscriminately by men and maid servants. One of the former having been appointed to apply dressings to the heels of a horse affected with the grease, and not paying due attention to cleanliness, incautiously bears his part in milking the cows, with some particles of the infectious matter adhering to his fingers. When this is the case, it commonly happens that a disease is communicated to the cows, and from the cows to the dairymaids, which spreads through the farm until the most of the cattle and domestics feel its unpleasant consequences. This disease has obtained the name of the cow-pox."* La observación de Jenner que condujo a la obtención de la vacuna.[1]

2. A pesar de la obligatoriedad de la vacunación, en Buenos Aires se han registrado recientemente casos de sarampión en niños no vacunados.

Referencias:

1. **Jenner E** (1798) An inquiry Into the causes and effects of the Variole Vaccinae, a disease discovered in some of the Western Counties of England, particularly Gloucestershire and known by the name of the cow-pox. *London: Sampson Low*.
2. **The College of Physicians of Philadelphia** (2018) Historia de los movimientos en contra de la vacunación. *Philadelphia, USA*
3. **Durbach N** (2000) They might as well brand us: Working class resistance to compulsory vaccination in Victorian England. *The Society for the Social History of Medicine* 13:45-62.
4. **Di Liscia MS** (2011) Marcados en la piel: vacunación y viruela en Argentina (1870-1910). *Ciência & Saúde Coletiva* 16(2):409-422.
5. **Veiga de Cabo J, Fuente Díez E, Martín Rodero H** (2007) La Real Expedición Filantrópica de la vacuna (1803 - 1810). *Medicina y Seguridad del Trabajo* 53: 71-84.
6. **Retraction** (2010) ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 375:445
7. **Larson HJ, Schulz WS** (2019) Reverse global vaccine dissent. *Science* 364:105
8. **Larson HJ** (2018) The biggest pandemic risk? Viral misinformation. *Nature* 562:309
9. **OMS** (2013) Plan de acción mundial de la salud sobre vacunas 2011-2020.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

¿Con o sin azúcar? Las ignoradas glicoproteínas procariotas

María Julia Pettinari

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. IQUBICEN. CONICET. Buenos Aires. Argentina

jul@qb.fcen.uba.ar

Las glicoproteínas tienen un origen temprano en la evolución y se encuentran en todos los grupos de organismos, tanto eucariotas como procariotas, lo que refleja su rol esencial en múltiples procesos.

Se conocen proteínas glicosiladas en procariotas desde hace muchos años, y hay numerosos trabajos que indican que tanto en bacterias como en arqueas hay diferentes mecanismos de glicosilación de diferentes proteínas. Sin embargo, esto es ignorado por una parte muy importante de la comunidad científica, para quienes la capacidad de glicosilar proteínas es una característica exclusiva de las células eucariotas. En la primera década de este milenio aparecieron muchos trabajos científicos intentando corregir este error. Algunos de estos trabajos tienen nombres muy sugestivos, como “Nunca más digas nunca” (Never say never again)[1], que reflejan cuán extendida está aún entre investigadores de diferentes áreas la noción de que la glicosilación es una característica exclusiva de los eucariotas.

Desde mediados del siglo XX se han estudiado las diversas modificaciones que sufren las proteínas durante su traducción o una vez que han sido traducidas. Estas modificaciones pueden ser de diferentes tipos, y las más comunes involucran el agregado de diferentes grupos químicos. La adición de grupos fosfato (fosforilación) es la modificación más frecuente, y le siguen la acetilación y la glicosilación. Estas y otras modificaciones aumentan enormemente el repertorio de variedades proteicas, ya que expanden la diversidad de grupos funcionales mucho más allá de las cadenas laterales de los aminoácidos, y son esenciales para un gran número de funciones. Por este motivo los tipos de glicosilación y los mecanismos mediante los cuales ocurren han sido objeto de numerosos estudios. La glicosilación proteica tiene su lugar en todos los libros de texto de Bioquímica, en la gran mayoría de los cuales se describe como un proceso que ocurre en el retículo endoplasmático o aparato de Golgi. Quizá sea este uno de los motivos por los cuales se ha asociado este tipo de modificación proteica exclusivamente a las células eucariotas, ya que entre otras diferencias [2], los procariotas no tienen retículo endoplasmático.

A partir de los estudios que llevaron a la producción de la insulina, la primera proteína humana recombinante producida en bacterias en 1983, se desarrollaron métodos para producir muchas otras proteínas en microorganismos. Muchas de las proteínas de interés, sobre todo para la industria farmacéutica, deben ser glicosiladas para poder ser funcionales. Durante mucho tiempo la mayoría de los investigadores que trabajaban con estas proteínas pensaban que las bacterias, normalmente usadas para la producción de diferentes bioproductos, no eran adecuadas para la síntesis de glicoproteínas porque no tenían la capacidad de realizar estas complicadas modificaciones, propias de las organelas eucariotas. La realidad es que los procariotas tienen sistemas de glicosilación al igual que los eucariotas, aunque las diferencias entre ellos hacen que las proteínas eucariotas no sean glicosiladas correctamente al ser expresadas en sistemas procariotas.

La primera proteína glicosilada procariota fue descrita en un miembro del dominio Archaea en 1974 [3], y un par de años después se publicó un trabajo describiendo proteínas glicosiladas en la envoltura de

bacterias [4] (Figura 1). Esto demostró que las proteínas glicosiladas están ampliamente distribuidas entre todos los grupos de organismos, ya que se encuentran en todos los dominios. La mayoría de los estudios de glicosilación en bacterias se centraron en el análisis de los sistemas de glicosilación en bacterias patógenas, demostrando que estas modificaciones son sumamente importantes en los procesos patogénicos, dado que intervienen en los procesos de adhesión, invasión y evasión de la respuesta inmune del hospedador [5]. Es más, las bacterias no sólo glicosilan muchas de sus propias proteínas, sino que también pueden glicosilar proteínas eucariotas como parte de las estrategias de los patógenos para infectar al hospedador [6]. La importancia de la glicosilación en las interacciones de los microorganismos con el hombre también se ha demostrado en el caso de bacterias benéficas, como en el principal simbiote intestinal [7], y en muchas bacterias y arqueas de vida libre [8].

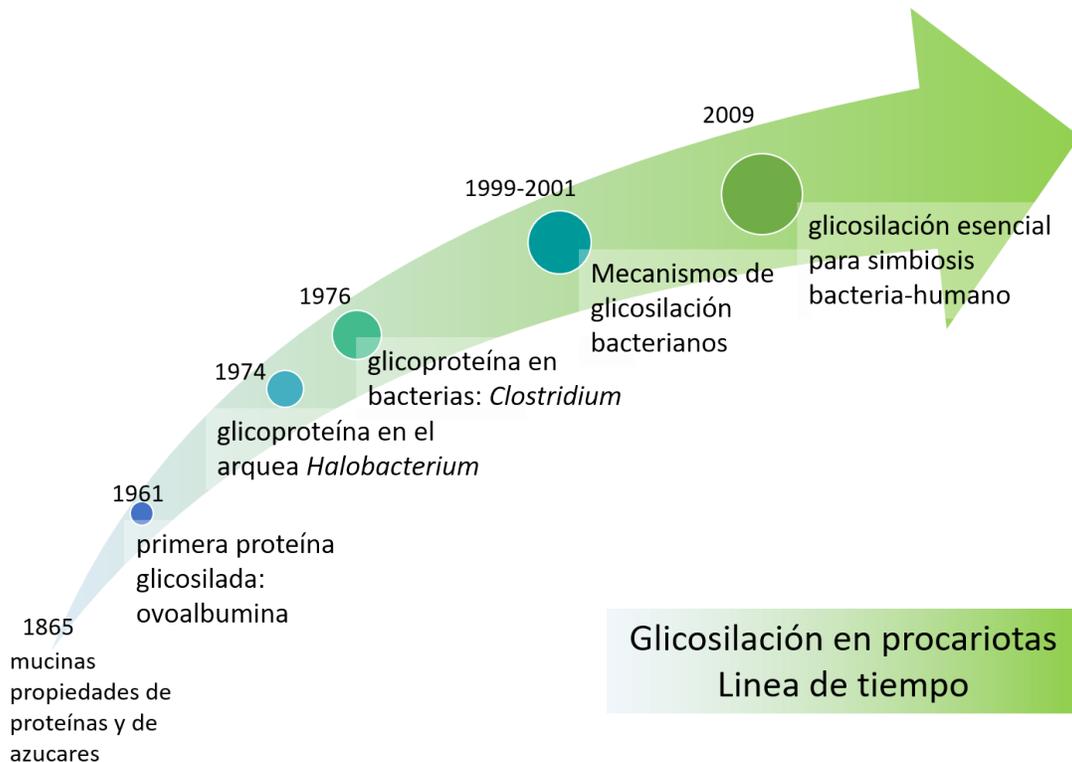


Figura 1: Las glicoproteínas tienen un origen temprano en la evolución y se encuentran en todos los grupos de organismos, tanto eucariotas como procariontas, lo que refleja su rol esencial en múltiples procesos.

Es sorprendente que a pesar de que hace mucho ya que se conoce la abundancia y diversidad de las reacciones de glicosilación que realizan los procariontas, hay muchos investigadores, aun entre aquellos especializados en el estudio de glicoproteínas eucariotas, que siguen pensando (y enseñando) que la glicosilación es una modificación exclusiva de las células eucariotas.

Hoy en día sabemos que hay muchísimas bacterias en nuestro cuerpo, y cada vez se hace más evidente la influencia que tienen sobre diferentes aspectos de nuestra fisiología y su importancia para nuestra salud. A partir de los estudios que muestran la relevancia de la glicosilación bacteriana en la interacción con las células eucariotas, y en particular humanas, sería de esperar que ya nadie pusiera en duda la capacidad de los procariontas de realizar este tipo de modificación proteica.

Referencias:

1- Benz I, Schmidt MA (2002) Never say never again: protein glycosylation in pathogenic bacteria. *Molecular Microbiology* 45(2) : 267-276.
 2- Pettinari MJ (2010) Las bacterias y nosotros, tan diferentes... y tan parecidos. Mitos y verdades de las diferencias entre eucariotas y procariontas. *Química Viva*, 9(1),3-11.

- 3- **Mescher MF, Strominger JL, Watson SW** (1974). Protein and carbohydrate composition of the cell envelope of *Halobacterium salinarum*. *Journal of Bacteriology* 120(2): 945-954.
- 4- **Sleytr UB, Thorne KJI** (1976). Chemical characterization of the regularly arranged surface layers of *Clostridium thermosaccharolyticum* and *Clostridium thermohydrosulfuricum*. *Journal of Bacteriology* 126:377-83.
- 5- **Poole J, Day CJ, von Itzstein M, Paton JC, Jennings, MP** (2018). Glycointeractions in bacterial pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology* 16(7): 440-452.
- 6- **Wang Z, McCloskey A, Cheng S, Wu M, Xue C, Yu Z, Liu X** (2018). Regulation of the small GTPase Rab1 function by a bacterial glucosyltransferase. *Cell Discovery* 4(1): 53.
- 7- **Fletcher CM et al.** (2009) A general O-glycosylation system important to the physiology of a major human intestinal symbiont. *Cell* 137: 321-331
- 8- **Eichler J, Koomey M** (2017). Sweet new roles for protein glycosylation in prokaryotes. *Trends in Microbiology* 25(8), 662-672.

Un artículo publicado hace unos años en QuimicaViva discute las diferencias y similitudes entre procariotas y eucariotas. <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v9n1/pettinari.html>

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Quimica Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

¿Se incluyen contenidos relacionados con las enfermedades transmitidas por alimentos en el nivel secundario de la provincia de Buenos Aires?

Damian Lampert^{1,2} y Silvia Porro¹

¹ Universidad Nacional de Quilmes. ² CONICET

damian.lampert@unq.edu.ar

Recibido: 24/10/2019 - Aceptado: 06/11/2019

Resumen

El presente artículo realiza una revisión cualitativa sobre la presencia de contenidos relacionados con Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA) en los Diseños Curriculares (DC) de la Provincia de Buenos Aires. Se ha encontrado la presencia de dicho contenido en asignaturas de Química, Salud y Adolescencia y Ambiente, Desarrollo y Sociedad. Sin embargo, su inclusión no es explícita y no se aborda en su totalidad.

Palabras clave: Enfermedades Transmitidas por Alimentos, Diseños Curriculares, Escuela Secundaria.

Are contents related to foodborne diseases included in the secondary level of the province of Buenos Aires?

Summary

This article carries out a qualitative review of the presence of contents related to Foodborne Diseases in Curriculum Designs of the Province of Buenos Aires. The presence of this content has been found in subjects of Chemistry, Health and Adolescence and Environment, Development and Society. However, its inclusion is not explicit and is not fully addressed.

Keywords: Foodborne Diseases, Curriculum Designs, High School.

Introducción

En Argentina, a partir del programa curricular de la provincia de Buenos Aires, existen una serie de conceptos emergentes sobre alimentos que se incluyen en diferentes asignaturas como Química, Biología, Salud y Adolescencia y Ciencias Naturales. Estos conceptos se relacionan con la alfabetización en alimentación [1] y el desarrollo de múltiples competencias acordes [2].

La enseñanza de la alimentación se relaciona con diversas competencias que pueden organizarse en siete dimensiones [2]:

1. Los alimentos
2. Funcionamiento del cuerpo con respecto a la nutrición
3. Cocinar
4. Cultivar y elaborar alimentos
5. Comprar alimentos
6. Comer en compañía
7. La actividad física y el descanso

Las dimensiones 3, 4 y 5 tienen en común la manipulación de los alimentos: competencia fundamental a la hora de elaborar y consumir alimentos seguros. En este sentido, dicha competencia se relaciona con las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA). Las ETA son una problemática a nivel global que afectan a millones de personas por año y que suelen conocerse como enfermedades desentendidas en la sociedad [3].

Las enfermedades que pueden transmitirse por los alimentos contaminados pueden tener diferentes agentes causales:

- Agentes biológicos: bacterias (como *Escherichia coli*), hongos (como *Aspergillus*), parásitos (como *Toxoplasma gondii*) y virus (virus de la hepatitis A o E).
- Agentes químicos: metales pesados, agroquímicos, exceso de aditivos-
- Agentes físicos: restos de material particulado, joyas, restos de guantes.

Por su parte, las ETA de origen biológico tienen una estrecha relación con las zoonosis. Las zoonosis son enfermedades que se transmiten recíprocamente entre los seres humanos y los animales. Las mismas pueden tener diferentes vías de transmisión: directa, como una mordedura de un animal, indirecta, a través de los alimentos o del contacto con superficies, y por medio de vectores, como algunos invertebrados. En este sentido, las ETA de origen biológico y las zoonosis de transmisión alimentaria pueden tener ejemplos de enfermedades comunes.

En el presente trabajo, que corresponde a una de las primeras etapas de una tesis doctoral, se realiza un relevamiento sobre la presencia de las ETA en los diseños curriculares de las escuelas secundarias de la Provincia de Buenos Aires.

Metodología

Se utilizó una metodología cualitativa adjudicando a la indagación un carácter exploratorio en tres etapas, de acuerdo a investigaciones realizadas sobre análisis documental y del discurso [4]. La primera etapa consistió en un análisis de aquellas asignaturas del área de ciencias naturales que cuentan con contenidos relacionados a los alimentos. En la segunda etapa, se realizó el análisis documental y análisis del discurso de los diseños curriculares [5] que permite alcanzar una comprensión profunda sobre la presencia de la temática de las ETA [4]. Por último, se clasificó la presencia de los contenidos de las ETA de acuerdo a su origen.

Resultados

En relación a la primera etapa, se encontró que las asignaturas que cuentan con contenidos relacionados a los alimentos son:

- Biología de 4to año secundaria
- Salud y Adolescencia de 4to año secundaria
- Fundamentos de Química de 5to año Orientación Ciencias Naturales
- Ambiente, Desarrollo y Sociedad de 6to año Orientación Ciencias Naturales.

Sin embargo, no todos ellos se relacionan con la competencia de manipular alimentos.

Para el caso de Biología, los contenidos de alimentos se incluyen dentro de la Unidad 1, denominada “La función de nutrición - La nutrición en humanos.” [6]. En esta unidad existe un bloque denominado “*Salud humana, alimentación y cultura*” [6] donde se incluyen los siguientes contenidos:

“Los distintos requerimientos nutricionales en función de la edad y la actividad. Concepto de dieta saludable” [6]. Sin embargo, ningún contenido se relaciona con la prevención de ETA sino, con los aspectos nutricionales.

En el caso de Salud y Adolescencia, no existe una unidad o bloque específico en el cual se mencionen los alimentos. Asimismo, el DC se organiza en problemáticas. Dentro del Problema “Derecho a la Salud” [7] se incluyen “Patologías prevalentes regionales y locales: principales problemas de salud que se registran en el ámbito local. Búsqueda y análisis de la información disponible acerca de los mismos.” [7]. Si bien indirectamente no se mencionan las ETA, al referirse a patologías prevalentes regionales y locales se incluyen patógenos emergentes y re emergentes de transmisión alimentaria [8] u otras asociadas a la contaminación del agua y los alimentos con metales pesados como el Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico (HACRE). Asimismo, ese apartado suele incluir en el abordaje de los libros de texto numerosas zoonosis como Rabia, Leptospirosis, Toxoplasmosis y Triquinosis [9]. Aún cuando las menciones de ETA son casi nulas [10].

Es importante señalar que las ETA y las zoonosis tienen una línea muy fina de división, como se mencionó en la introducción.

En relación a las asignaturas de Química, Introducción a la Química presenta un eje relacionado a la alimentación, denominado “Química y alimentación” [11] en el cual se encuentran dos núcleos que incluyen “Principales grupos de biomoléculas” [11] y “Alimentos, actividad y energía. Dietas y energía necesaria para los procesos vitales de acuerdo a la actividad “ [11]. Sin embargo, no se hace mención acerca de la inocuidad alimentaria a excepción de cuando se nombran a los aditivos y se propone su abordaje desde las ventajas/ desventajas de su empleo. Continuando con el análisis de las asignaturas de química, Fundamentos de Química de 5to año Orientación Ciencias Naturales [12] incluye en el primer eje temático, llamado “Química del Agua”, un núcleo denominado “Agua y soluciones acuosas en la naturaleza” dentro del cual se encuentra la definición de agua potable del Código Alimentario Argentino (CAA).

En el desarrollo de los contenidos se incluye el siguiente texto: *“Los estudiantes podrán medir en el laboratorio la dureza total de distintas muestras de agua, así como analizar el pH, el color y el olor para comparar con los parámetros de calidad de agua potable dispuestos por el Código Alimentario Argentino. Se debatirá acerca de la importancia del acceso al agua potable en términos sanitarios, como problemática social y como problemática ambiental.”* [12].

Con lo cual, continuando con los aditivos de 4to año de Introducción a la Química, se incorporan nuevos contaminantes químicos que pueden generar problemáticas para la salud. Asimismo, se propone un debate sobre la potabilización del agua lo cual, al tratarlo como una problemática social, sanitaria y ambiental permite incorporar el tratamiento de microorganismos que contaminan el agua como *Escherichia coli*.

En 6to año, se presenta la asignatura Ambiente desarrollo y sociedad [13]. La cual tiene una relación fundamental con las ETA. Por un lado, la asignatura se divide en cuatro bloques: suelo, aire, agua y biodiversidad. Si bien, salvo aire, todos los demás pueden relacionarse con las ETA, el eje de agua presenta los siguientes contenidos:

“Agua. El agua potabilizable en el planeta: cuál es, cuánta, dónde se encuentra, a qué procesos debe someterse para poder ser consumida sin riesgos. Disponibilidad y calidad. Eutrofización, uso de agroquímicos. Embalses y sus consecuencias. Tratamiento de efluentes, consumo y uso.” [13].

Asimismo, en las orientaciones didácticas, el DC propone el trabajo de la enfermedad del HACRE:

“Cobra particular relevancia a la hora de pensar el manejo sustentable de los recursos en la Región pampeana, el estudio de contaminantes de origen antrópicos (expresado, por ejemplo, en la contaminación de la cuenca Matanza-Riachuelo y los cursos subterráneos como el Pampa y el Puelche) y los tóxicos naturales como el arsénico, que tiene una gran importancia en la Argentina y la provincia de Buenos Aires expresada en la frecuencia con la que aparece en la población la enfermedad del Hidroarsenismo Crónico Regional Endémico (hacre).” [13].

Por otro lado, la asignatura se propone abordar análisis de casos. En los casos propuestos por el DC se incluye el desmonte en Santiago del Estero donde también, se menciona la importancia de trabajar la enfermedad del HACRE:

“Santiago del Estero pertenece a la llanura pampeano-chaqueña y es una región plana, que mayormente no rebasa los 200 metros sobre el nivel del mar. El suelo se compone fundamentalmente de sedimentos de arcilla y arena, caracterizados por su impermeabilidad, y en muchas áreas por la salinidad que da origen a lagunas salinas. Los sedimentos poseen una alta concentración de arsénico, que es lavado por la filtración vertical de agua y, por ende, las napas de agua contienen una alta concentración natural de este tóxico, dando lugar al Hidroarsenismo Crónico Regional Endémico (hacre), una patología común en grandes regiones del país. Por lo tanto, el agua proveniente de pozos no es apta para consumo humano.” [13].

Por su parte, el estudio de caso de la Cuenca Matanza-Riachuelo, también incluye la contaminación química y microbiológica del agua:

“La cuenca media va desde la afluencia de los arroyos Chacón y Cañuelas hasta el Puente de la Noria. Aunque los niveles de contaminación son menores que en la cuenca baja, no dejan de ser altos, evidenciados a partir de las mediciones de metales pesados, demanda biológica de oxígeno, demanda química de oxígeno, concentración de amoníaco, nitritos, nitratos, oxígeno –en condiciones casi de anoxia–, aparición de bacterias coliformes fecales, etc. Esta cuenca abarca zonas urbanas y periurbanas” [13].

En relación a los resultados obtenidos, se presenta la siguiente tabla resumen:

Aspecto relacionado a las ETA	Asignatura	Contenidos
	<i>Salud y Adolescencia</i>	Patologías prevalentes regionales y locales
	<i>Ambiente, Desarrollo y Sociedad</i>	Bacterias coliformes fecales en el Río Matanza-Riachuelo
Agentes Químicos	<i>Salud y Adolescencia</i>	Patologías prevalentes regionales y locales (Si se incluye las intoxicaciones por metales pesados)
	<i>Introducción a la Química</i>	Aditivos
	<i>Fundamentos de Química</i>	Parámetros de calidad (físicoquímicos) del agua potable dispuestos por el Código Alimentario Argentino

	<i>Ambiente, Desarrollo y Sociedad</i>	Hidroarsenismo Crónico Regional Endémico. Agroquímicos Potabilización del agua.
--	--	---

Tabla 1:: Resumen de contenidos de ETA en las diferentes asignaturas. Fuente: Elaboración propia a partir del análisis realizado.

Conclusiones

Las ETA son una temática primordial para fomentar la alfabetización científica. Sin embargo, su inclusión en los DC es poco clara; no existe, en el nivel medio, ninguna asignatura que las aborde de forma explícita. A partir del análisis de los DC se puede apreciar que las ETA que mayor predominancia tienen son las de origen químico ya que en las diferentes asignaturas de química y ambiente se trabajan en todas sus dimensiones: contaminación por agroquímicos, aditivos y metales pesados.

Otro punto de interés es que, en el caso hipotético que se respete el dictado de los contenidos y con la orientación establecida por el DC, solo la orientación de Ciencias Naturales cuenta con contenidos de ETA. Los que forman parte de otras orientaciones, como Ciencias Sociales o Economía y Administración, solo trabajarían los contenidos de Salud y Adolescencia. Asimismo, esta asignatura describe un panorama muy amplio de enfermedades cuyo abordaje dependerá de las intenciones del profesorado. Sin embargo, al tratarse de patologías locales, no es menor el trabajo de aquellas enfermedades que forman parte del entorno del estudiantado.

En relación a la categorización, se puede apreciar que el contenido con menor grado de aparición en los DC es el de las ETA de origen biológico. Lo cual, es llamativo porque son las principales causas de ETA a nivel mundial y a las cuales, el 100% de la población está expuesta a su adquisición.

Por último, la asignatura Ambiente, Desarrollo y Sociedad es aquella que permite un panorama amplio para que el profesorado trabaje diferentes propuestas en relación a las ETA e incluso también, zoonosis. A modo de ejemplo, se propone el trabajo de las ETA y las zoonosis en relación a los espacios en contacto con animales como Parques Nacionales, Zoológicos y Granjas Educativas [8].

Referencias:

1. **Vidgen HA, Gallegos D** (2014) Defining food literacy and its components. *Appetite* 76,:50-59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2014.01.010>
2. **España E, Garrido AC, López ÁB** (2014) La competencia en alimentación. Un marco de referencia para la educación obligatoria. *Enseñanza de las ciencias: revista de investigación y experiencias didácticas* 32(3):611-629. URL: <https://www.raco.cat/index.php/Ensenanza/article/view/287568/375721>
3. **Revel Chion A** (2015) Educación para la salud: propuestas para el aula. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Paidós

4. **Zacarias N, Manolakis L** (2019) La Educación Sexual en la Legislación Argentina. El Difícil Camino a las Aulas. XIX Congreso Internacional de Investigación Educativa: Investigación Comprometida para la Transformación Social. URL: https://aidipe2019.aidipe.org/files/2019/07/Actas_AIDIPE2019_Vol_I.pdf
5. **Keller R** (2010) El análisis del discurso basado en la sociología del conocimiento (ADSC). Un programa de investigación para el análisis de relaciones sociales y políticas de conocimiento. Forum: Qualitative Social Research, 11(3): 1-24
URL: <https://opus.bibliothek.uniAugsburg.de/opus4/frontdoor/deliver/index/docId/46043/file/1494-5583-1-PB.pdf>
6. **Diseño General de Cultura y Educación** (2010) Diseño Curricular para la Educación Secundaria | 4° año ES. Biología. La Plata: ISBN 978-987-1266-85-2.
URL: http://servicios2.abc.gov.ar/recursoseducativos/editorial/catalogodepublicaciones/disenio_curricular.html
7. **Diseño General de Cultura y Educación** (2010) Diseño Curricular para la Educación Secundaria | 4° año ES. Salud y Adolescencia. La Plata: ISBN 978-987-1266-90-6. URL: http://servicios2.abc.gov.ar/recursoseducativos/editorial/catalogodepublicaciones/disenio_curricular.html
8. **Lampert D** (2019) Espacios con Zoonosis y Alimentos. CABA: Editorial Autores de Argentina.
9. **Lampert D, Porro S** (2018) Análisis del abordaje de las zoonosis y enfermedades transmitidas por alimentos en libros de educación para la salud de escuelas secundarias de la Provincia de Buenos Aires. II Congreso Internacional de Zoonosis IX Congreso Argentino de Zoonosis. URL: <http://www.congresozoonosis.com/libro.pdf>
10. **Russo M, Lampert D** (2018). Abordaje de ETA y Zoonosis en los libros de "Salud y Adolescencia" de la escuela secundaria. III Reunión de Jóvenes en Ciencia y Tecnología realizada en la Universidad Nacional de Quilmes del 30 al 31 de agosto de 2018
11. **Diseño General de Cultura y Educación** (2011) Diseño Curricular para la Educación Secundaria | 5° año ES. Introducción a la Química. La Plata: ISBN 978-987-676-020-1. URL: http://servicios2.abc.gov.ar/recursoseducativos/editorial/catalogodepublicaciones/disenio_curricular.html
12. **Diseño General de Cultura y Educación** (2011). Diseño Curricular para la Educación Secundaria | 5° año ES. Orientación Ciencias Naturales. La Plata. ISBN 978-987-676-013-3. URL: http://servicios2.abc.gov.ar/recursoseducativos/editorial/catalogodepublicaciones/disenio_curricular.html
13. **Diseño General de Cultura y Educación** (2011) Diseño Curricular para la Educación Secundaria | 6° año ES. Orientación Ciencias Naturales. ISBN 978-987-676-041-6. URL: http://servicios2.abc.gov.ar/recursoseducativos/editorial/catalogodepublicaciones/disenio_curricular.html

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	--

El papel de la educación secundaria y del itinerario académico en la alfabetización científica

Joan Josep Solaz-Portolés y Blanca Selfa

Departament de Didàctica de les Ciències Experimentals i Socials. Universitat de València. España

Joan.Solaz@uv.es

Recibido: 27/06/2019 - Aceptado: 19/09/2019

Resumen

A partir de la definición de alfabetización científica y de la justificación de su uso como indicador de avance social, este estudio pretendió analizar los efectos de la educación secundaria y del itinerario académico sobre dicho indicador. Se ha utilizado un diseño factorial con dos factores entre sujetos para investigar la influencia de ambas variables. Han participado 195 estudiantes de secundaria españoles de diferentes niveles académicos, a los que se ha administrado el test de Brossard y Shanahan. El análisis de los resultados obtenidos (por medio de tests ANOVA) parecen indicar, en relación con el nivel de alfabetización científica, que: a) Solamente es satisfactoria al finalizar la educación secundaria posobligatoria (18 años), b) Hay diferencias significativas entre los estudiantes de educación secundaria obligatoria y los estudiantes en el último curso de educación secundaria posobligatoria, y c) El itinerario académico seguido genera diferencias significativas al acabar la etapa obligatoria (16 años), pero no en la posobligatoria.

Palabras clave: enseñanza de las ciencias, estudio transversal, alfabetización científica, educación secundaria, itinerario académico

The role of secondary education and academic itinerary in scientific literacy

Summary

This study begins by defining scientific literacy and with a justification that scientific literacy may be used as an indicator of social progress. The aim of this study was to analyze the effects of secondary education and academic itinerary on this indicator. A factorial design with two between-subjects factors was used to investigate the influence of both variables. One hundred and ninety-five spanish secondary education students at different educational levels (all from the same high school) have participated in this study. All of them have been administered the Brossard and Shanahan's test. The analysis (by means of ANOVA tests) of the results obtained allow us to conclude with respect to the scientific literacy level that: a) Only at the end of post-compulsory secondary education (18 years old) is satisfactory, b) There are significant differences between compulsory secondary education students and students attending the last year of post-compulsory secondary school; and c) The academic itinerary undertaken lead to significant differences at the end of compulsory secondary education (16 years old), but not in post-compulsory secondary education.

Keywords: science education, cross-sectional study, scientific literacy, secondary education, academic itinerary

Introducción

Nadie duda que la ciencia, la tecnología y la educación son factores decisivos para el desarrollo de un país y, lógicamente, influyen de manera considerable en las transformaciones sociales [1]. Por ello, no son de extrañar los estudios que ponen el acento en la formación científica y tecnológica como catalizadora del desarrollo social [2]. Por otro lado, en las conclusiones del trabajo de Diener y Suh [3] se apunta la necesidad de introducir nuevos indicadores para perfilar con mayor precisión la calidad de vida. En este sentido, y dada la influencia social y económica de la ciencia, el nivel de alfabetización científica de un determinado grupo social puede constituirse en un buen indicador para medir las perspectivas de avance social y económico.

Ha habido múltiples intentos de definir qué es la alfabetización científica, pero parece que la definición más difundida y aceptada por la comunidad científica internacional es la que se presenta en el informe PISA, realizado por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico [4]:

Capacidad de un individuo de utilizar el conocimiento científico para identificar preguntas, adquirir nuevos conocimientos, explicar fenómenos científicos y sacar conclusiones basadas en evidencias respecto de temas relativos a la ciencia, comprender los rasgos específicos de la ciencia como una forma de conocimiento y búsqueda humana, ser consciente de cómo la ciencia y tecnología dan forma a nuestro mundo material, intelectual y cultural, y tener la voluntad de involucrarse en temas relativos a la ciencia y con ideas científicas como un ciudadano reflexivo (p.128).

En cuanto a los estudios realizados en Latinoamérica cuya finalidad ha sido determinar el nivel de alfabetización científica (fuera de los parámetros de las pruebas PISA) destacaremos dos, uno llevado a cabo en Brasil y otro en Chile. En el primero [5], participaron 754 estudiantes de educación secundaria (17 años), a los que se administró el Test de Alfabetización Científica Básica de Laugksch y Spargo [6]. El promedio de porcentaje de respuestas correctas fue del 36,5%. Es decir, los resultados ofrecieron un nivel de alfabetización científica bajo.

En el segundo estudio [7], los autores diseñaron y validaron un cuestionario de alfabetización científica constituido por 20 ítems. Intervinieron en el estudio 674 estudiantes de educación secundaria (15 años), de los cuales un 4% mostró tener un nivel de alfabetización científica en el primer nivel (analfabetismo científico), un 27% en el segundo nivel (alfabetización científica nominal), un 46% en el tercer nivel (alfabetización científica funcional y tecnológica), y un 23% en el cuarto nivel (alfabetización científica conceptual y procedimental).

En España, de acuerdo con Manassero y Vázquez [8], las evaluaciones hechas al alumnado de secundaria y a su profesorado muestran carencias en algunas dimensiones de la alfabetización científica (en concreto, en la influencia de la sociedad en la ciencia y la tecnología, en la comprensión de la naturaleza de la ciencia y en el significado de la tecnología y su papel en relación con la ciencia).

Planteamiento del problema y preguntas de investigación

Se ha visto el plausible papel de la alfabetización científica como indicador de avance social, junto con la existencia de instrumentos que permiten cuantificarla. También se ha comentado que el nivel de alfabetización científica mostrado por los estudiantes de secundaria iberoamericanos no es el más adecuado. Llegados a este punto, se hace necesario determinar, dados los indicios poco esperanzadores, si realmente la educación secundaria está cumpliendo con la función que tiene encomendada en relación a la alfabetización científica de los ciudadanos en una sociedad democrática. En consecuencia, las preguntas a las que se pretende dar respuesta, en primera aproximación, en este estudio exploratorio son:

¿Contribuye la educación secundaria a mejorar el nivel de alfabetización científica hasta ser aceptablemente adecuado?

¿Existen diferencias significativas en el nivel de alfabetización científica al final de la educación secundaria obligatoria (16 años) y la posobligatoria (18 años)?

¿Existen diferencias significativas en el nivel de alfabetización científica entre el tipo de estudios cursados durante la educación secundaria?

Metodología

Diseño experimental

Se trata de un diseño “no experimental” transversal de dos factores, esto es, hay dos variables independientes: el nivel académico y el tipo de estudios cursados. La variable dependiente es la medida del nivel de alfabetización científica.

Sujetos participantes

Han participado 195 estudiantes de un centro educativo público de educación secundaria de Valencia (España), de los cuales 134 son de Educación Secundaria Obligatoria (ESO, período obligatorio de escolarización en España de cuatro cursos, que va desde los 12 a los 16 años; en el 4º curso de la ESO los estudiantes pueden elegir entre un itinerario científico-tecnológico o uno humanístico-ciencias sociales), y 61 son de Bachillerato (período educativo no obligatorio que va de los 16 a los 18 años).

Los estudiantes son de 2º, 3º y 4º de ESO; y de 1º y 2º de Bachillerato. De 4º de ESO (último curso de escolarización obligatoria), 12 cursan el itinerario de ciencias y 18 el de humanidades y ciencias sociales (en adelante, simplemente diremos letras); de 1º de Bachillerato, 11 cursan la modalidad de ciencias y 17 la de letras; y de 2º de Bachillerato, 13 cursan ciencias y 20 letras.

El centro se halla ubicado en una población rural cercana a la ciudad de Valencia. Se trató de una muestra de conveniencia. Por ello, los resultados no pueden ser extrapolados a toda la población estudiantil, esto es, no hay garantías de validez externa.

Materiales

Dada la sencillez de administración y corrección para los investigadores, como por la idoneidad para los estudiantes participantes en este estudio, el instrumento de medida de la alfabetización científica que se ha escogido es el test diseñado y validado por Brossard y Shanahan [9]. Es un test de 31 ítems basado en los conceptos científicos más frecuentes en los medios de comunicación, en donde simplemente se ha de rellenar un espacio en blanco con el concepto pertinente. En el Anexo 1 puede verse el test con las respuestas correctas.

Procedimiento

Se administró el test Brossard y Shanahan en el horario de clase habitual de cada uno de los grupos participantes. Al principio de la clase se les indicó que disponían de todo el período de clase para completarlo (50 minutos), aunque muchos acabaron antes de este período de tiempo.

Para la calificación del test se asignó un 1 punto si la respuesta era la correcta y 0 puntos si era incorrecta o no había respuesta. Así pues, la puntuación máxima posible son 31 puntos. Posteriormente, se llevó a cabo la normalización de la calificación al intervalo 0-10 puntos (multiplicando el número de respuestas correctas por 10 y dividiendo por 31), con lo que la puntuación máxima pasó a ser 10 puntos.

Resultados y discusión

En la Figura 1 se muestran las puntuaciones medias obtenidas por cada nivel académico en el test de alfabetización científica, así como, en el caso de 4º de la ESO, y de 1º y 2º de Bachillerato, las puntuaciones medias de los grupos de ciencias y de letras.

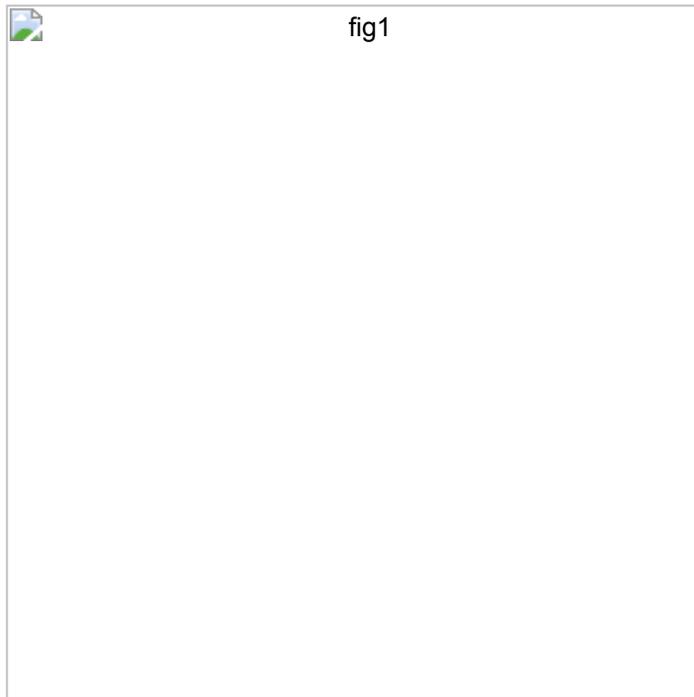


Figura 1: Puntuaciones obtenidas en el test de alfabetización científica en función del nivel e itinerario académico..

Como puede verse hay un crecimiento de la puntuación en el test desde el primer nivel académico (2º ESO) hasta el último (2º de Bachillerato). El crecimiento de la puntuación es moderado durante la ESO, pero el crecimiento es muy elevado en el tránsito de la ESO hasta el final del Bachillerato. Con todo, la puntuación media al final de la ESO (que es 3.3, es decir, se han contestado correctamente un tercio de los ítems del test) no se puede considerar que ponga de manifiesto un nivel de alfabetización científica aceptable. Solamente al llegar al nivel académico del final de Educación Secundaria Posobligatoria (2º de Bachillerato) podría decirse que la alfabetización científica alcanza un nivel admisible (se responden correctamente al menos la mitad de los ítems).

El test de Shapiro-Wilk aplicado a las puntuaciones del test en cada nivel académico conduce a valores de los niveles de significación, p , que siempre están por encima de 0.05. En consecuencia, en todos los casos se puede rechazar la hipótesis nula y puede considerarse que todas las puntuaciones siguen una distribución normal.

Se realizó, en primer lugar, un análisis de varianza simple (ANOVA) tomando como variable intersujetos el nivel académico (con cinco valores: 2º, 3º y 4º de ESO, 1º y 2º de Bachillerato). La variable dependiente fue la puntuación del test de alfabetización científica. Los resultados obtenidos permiten afirmar que la variable nivel académico produce diferencias significativas en la puntuación del test de alfabetización científica (con un tamaño del efecto grande): $F(4,190) = 26.47, p < 0.001, \eta^2 = 0.14$. Pruebas post-hoc ponen de manifiesto que las diferencias de puntuación entre 2º de Bachillerato y 2º, 3º y 4º de la ESO son significativas en un nivel de confianza superior al 99.9%. Sin embargo, si la comparación la hacemos entre 1º de Bachillerato y los de la ESO, sólo aparecen las diferencias significativas hasta 3º de ESO ($p < 0.01$), esto es, no hay diferencias significativas entre 4º de ESO y 1º de Bachillerato. Tampoco las hay entre 1º y 2º de Bachillerato.

Se observa además en la Figura 1 que, como resulta lógico, los estudiantes de ciencias siempre puntúan más alto que los de letras. Además, a medida que se avanza en el nivel académico, la separación de las puntuaciones medias de los estudiantes de los itinerarios de *letras* y ciencias va reduciéndose. Este hecho lo que revela es que el crecimiento del nivel de alfabetización con el nivel académico es mayor en los estudiantes de *letras*.

Finalmente, se volvió a llevar a cabo otro ANOVA pero solamente con los grupos de 4º de ESO, y 1º y 2º de Bachillerato. La variable dependiente fue la puntuación del test de alfabetización científica. En esta ocasión se tomaron como variables intersujetos el nivel académico (con tres valores: 4º de ESO, 1º y 2º de Bachillerato) y el itinerario académico (con dos valores: ciencias y letras). Lógicamente la variable nivel académico vuelve a generar diferencias significativas, pero lo más destacable es que la variable tipo de itinerario no las generó. No obstante, la aplicación de una prueba post-hoc revela que sólo entre el grupo de ciencias y el de letras de 4º de la ESO aparecen puntuaciones significativamente diferentes ($p < 0.01$). Parece, pues, que el Bachillerato posibilita minimizar los efectos del tipo de estudios cursados en la alfabetización científica.

Conclusiones e implicaciones

En primer lugar, se ha querido poner de relieve en este trabajo que el nivel de alfabetización científica es un indicador de avance social de primer orden y, como tal, debería ser tenido en cuenta a la hora de tomar decisiones políticas educativas por parte de los responsables correspondientes. En segundo lugar, se deben señalar las limitaciones de este estudio exploratorio. La principal de estas limitaciones se deriva de la naturaleza y tamaño de la muestra (téngase en cuenta que se ha efectuado un muestreo de conveniencia y ha participado un solo centro educativo). Otra limitación tiene su origen en el instrumento utilizado para medir el nivel de alfabetización científica, el test de Brossard y Shanahan [9], que sólo mide una parte de conjunto de dimensiones que integran la alfabetización científica. Por todo ello, los resultados y las conclusiones de este estudio solamente pueden servir como primera aproximación de los que se obtendrían sin las mencionadas limitaciones.

Teniendo presentes las limitaciones citadas, se está en condiciones de responder a las preguntas planteadas en el trabajo. Respecto de la primera pregunta, se ha visto que a lo largo de la educación secundaria se mejora notablemente la alfabetización científica, especialmente en la etapa posobligatoria. Parece que la formación recibida por los estudiantes en esta etapa de escolarización tiene sus frutos. Sin embargo, no se puede soslayar que al final de la educación obligatoria el nivel de alfabetización científica no se puede considerar aceptable. Únicamente al final de la educación posobligatoria dicho nivel alcanza valores más razonables. Y esto debería ser una clara señal de alarma. Con estos niveles de alfabetización científica no podemos esperar que los estudiantes que sólo cursan la ESO puedan llegar a ser ciudadanos socialmente responsables, capaces de tomar decisiones fundamentadas, y con una formación que les permita implicarse como auténticos activistas ilustrados en problemas sociales, económicos y medioambientales [10]. Tampoco podemos esperar que estén en las mejores condiciones para participar en los cambios de la denominada sociedad del conocimiento [11].

En relación a la segunda pregunta formulada, los análisis estadísticos muestran que las diferencias en el nivel de alfabetización científica al final de la educación secundaria obligatoria y la posobligatoria son estadísticamente significativas. El período de formación de dos cursos académicos a partir de los 16 años resulta decisivo para alcanzar un estadio de alfabetización científica suficiente. Esto podría servir de argumento para extender la escolarización obligatoria hasta los 18 años.

El itinerario académico cursado durante la educación secundaria parece ser relevante en la etapa obligatoria y, de hecho, las diferencias entre los estudiantes de ciencias y letras son estadísticamente significativas. En la etapa posobligatoria, estas diferencias dejan de ser significativas. Este resultado es muy interesante

porque permite afirmar que el Bachillerato, independientemente de la línea formativa, proporciona una alfabetización científica adecuada o los elementos imprescindibles para acceder a ella fuera del centro educativo. Esto posibilita dar cumplida respuesta a la tercera pregunta formulada, y representa una razón más para demandar más y mejor formación científica durante la educación secundaria obligatoria (hasta los 16 años), o bien alargar la educación obligatoria hasta los 18 años.

Se debe tener presente que el papel de la educación primaria sobre el proceso de alfabetización científica es extraordinariamente relevante. Es en este nivel donde se han de concentrar todos los esfuerzos para comenzar a abordar el problema con las mínimas garantías de éxito. Y se debe empezar por una formación adecuada del profesorado de ese nivel educativo. No es admisible que el profesorado de primaria en formación tenga niveles bajos de alfabetización científica [12]. Téngase en cuenta que este profesorado tiene que enseñar sobre todo destrezas procedimentales científicas y generar actitudes positivas hacia la ciencia [13].

Por último, señalar que durante la escolarización obligatoria la orientación curricular en las áreas científicas tendría que estar dirigida hacia temas científicos candentes (a saber, con un enfoque Ciencia-Técnica-Sociedad), la metodología en el aula debería ser orientada hacia la interdisciplinaridad, la comprensión y la investigación en equipo [14]. Pero, por encima de todo, deben estar presentes los valores culturales y sociales de la ciencia, el conocimiento de la naturaleza de la ciencia, y el desarrollo de habilidades y valores apropiados para la formación de ciudadanos responsables [15].

Referencias:

1. **Rincón D, Romero MG** (2006) Ciencia, tecnología y educación en Venezuela: Perspectiva de una sociedad emergente. *Revista de Ciencias Sociales* 12(1): 72-83.
2. **Rojas HM** (2008) La importancia de las políticas públicas de formación en investigación de niños, niñas y jóvenes en Colombia, para el desarrollo social. *Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales, Niñez y Juventud* 6(2): 885-906.
3. **Diener E, Suh E** (1997) Measuring quality of life: Economic, social and subjective indicators. *Social Indicators Research* 40(2): 189-216.
4. **OCDE** (2009) PISA 2009. Assessment framework key competences in reading, mathematics and science, Paris, France: OCDE.
5. **Nascimento-Schulze CM** (2006). Um estudo sobre alfabetização científica com jovens catarinenses. *Psicologia: Teoria e Prática* 8(1): 95-106.
6. **Laugksch R, Spargo, P** (1999) Scientific literacy of selected South African matriculants entering tertiary education: a baseline survey. *South African Journal of Science*, 95(10), 427-432.
7. **Navarro M, Förster C** (2012) Nivel de alfabetización científica y actitudes hacia la ciencia en estudiantes de secundaria: comparaciones por sexo y nivel socioeconómico. *Pensamiento Educativo. Revista de Investigación Educativa Latinoamericana*, 49(1): 1-17.
8. **Manassero MA, Vázquez A** (2002) Instrumentos y métodos para la evaluación de las actitudes relacionadas con la ciencia, la tecnología y la sociedad. *Enseñanza de las Ciencias* 20(1): 15-27.
9. **Brossard D, Shanahan J** (2006) Do They Know What They Read? Building a Scientific Literacy Measurement Instrument Based on Science Media Coverage. *Science Communication* 28(1): 47-63.
10. **Gil D, Vilches A** (2006) Educación ciudadana y alfabetización científica. Mitos y realidades. *Revista Iberoamericana de Educación*, 42: 31-53.
11. **Aikenhead G, Orpwood G, Fensham P** (2011) Scientific literacy for a knowledge society. En C. Linder, L. Ostman, D. Roberts, P.-O. Wickman, G. Erickson y A. MacKinnon (Eds.), *Exploring the landscape of scientific literacy* (pp.28-44). New York, USA: Routledge, Taylor and Francis Group.
12. **Verdugo J, Solaz-Portolés JJ, Sanjosé V** (2015) Is digital literacy improving scientific education? A study with pre-service primary teachers in Spain. *The New Educational Review* 40(2): 155-166.
13. **Harlen W** (2007) Enseñanza y aprendizaje de las ciencias. Madrid: Ministerio Educación y Ciencia y Ediciones Morata.
14. **Membiela P** (2001) Enseñanza de las Ciencias desde la perspectiva Ciencia-Tecnología-Sociedad. Madrid: Narcea.
15. **Holbrook J, Rannikmäe M** (2009). The meaning of scientific literacy. *International Journal of Environmental & Science Education*, 4(3): 275-288.

Anexo 1. Test de alfabetización científica de Brossard y Shanahan (2006) con las respuestas correctas entre los corchetes

1. Una estrella que durante un periodo de solo unos pocos días se vuelve 100-1000 veces más brillante de lo que era, se denomina una [**Nova / Supernova**].
2. [**Ingeniería Genética /Modificación Genética**] es la técnica utilizada para alterar los caracteres de un organismo mediante la inserción de genes de otro organismo en su ADN.
3. El dispositivo que es la unidad central de procesamiento de la mayoría de los ordenadores personales más pequeños se llama [**Microprocesador**].
4. Un disco en el cual hay una grabación digital de información sonora, que proporciona una reproducción de alta calidad de música, voz, etc....., se llama [**CD/ Compact Disc**].
5. El [**LSD**] es un derivado químico del ácido lisérgico que tiene propiedades alucinógenas potentes.
6. Una [**Branquia**] es el órgano respiratorio usado por los animales acuáticos para obtener oxígeno del agua circundante.
7. El [**Aluminio/ Al**] es un elemento metálico brillante de color blanco plateado que es altamente reactivo, ligero, fuerte (cuando es una aleación), corrosivo, resistente y conductor eléctrico. Estas características lo hacen adecuado para una variedad de usos, incluyendo la construcción de vehículos y aeronaves, la edificación y el tendido eléctrico aéreo.
8. Los sistemas de [**Fibra óptica**] utilizan hilos que conducen la luz para transmitir información en forma de impulsos codificados o imágenes fragmentadas, desde una fuente a un receptor.
9. El grupo diverso de microorganismos que constan de una única célula que carece de distinta membrana nuclear y tienen una pared celular de composición única se conocen como [**Bacteria**].
10. La invasión de cualquier organismo vivo por microorganismos causantes de enfermedades que se establecen, multiplican y producen síntomas variados en su huésped se conoce como [**Infeción**].
11. El suministro de agua para cultivos por métodos artificiales, por ejemplo mediante la construcción de sistemas de tuberías, acequias y canales se llama [**Riego**].
12. Un movimiento repentino o una fractura en la litosfera de la Tierra que causa una serie de temblores se denomina un [**Terremoto**]. Puede variar desde un ligero temblor a un movimiento de la Tierra a gran escala, causando grandes daños sobre un área amplia.
13. Un ciclón tropical con vientos en superficie superiores a 120 km/h y que normalmente ocurren en el Océano Atlántico Norte, Mar del Caribe o el Golfo de México es un [**Huracán**].
14. Este es un mineral fibroso que tenía un amplio uso comercial por su resistencia al calor, su inactividad química y su elevada resistencia eléctrica. Las fibras pueden ser hiladas y tejidas en tela antiincendios para usar en ropa y cortinas protectoras, o también moldeadas en bloques. En 1970 se descubrió que la fibra corta de este mineral puede causar trastornos pulmonares graves, lo que ha limitado su uso. Este mineral es [**Asbesto/ Amianto**].
15. El único satélite natural de la Tierra es la [**Luna**].
16. Toda la vida vegetal presente en un hábitat y momento determinado constituye la [**Flora**] de ese hábitat.
17. Las [**Proteínas**] constituyen un amplio grupo de componentes orgánicos encontrados en todos los organismos vivos. Están compuestas de carbón, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno y la mayoría también contienen azufre. Sus moléculas consisten en una o varias largas cadenas de aminoácidos unidas en una secuencia característica.
18. Las armas con las que se causa una explosión mediante fisión nuclear, fusión nuclear o una combinación de ambas son llamadas [**Nucleares**].
19. Un columna de aire que gira violentamente, visible generalmente como una nube en forma de embudo, que puede alcanzar la superficie de la tierra, se llama [**Tornado**].
20. El [**Rayo**] es una descarga eléctrica luminosa de elevada energía que puede pasar entre una nube cargada y un punto sobre la superficie de la Tierra, entre dos nubes cargadas o entre capas con cargas opuestas de la misma nube.
21. El elemento no metálico amarillo, cuyo símbolo en la tabla periódica de los elementos es S, es el [**Azufre**].
22. La unidad de potencia del "Sistema Internacional" (SI), definida como una energía de un Julio (Joule) por segundo es el [**Vatio / Watt/ W**], ampliamente utilizado en contextos eléctricos.
23. La [**World WideWeb / Red**] es un servicio de información basado en ordenadores. Es un sistema hipermedia distribuido en un amplio número de ordenadores que permiten a los usuarios ver y obtener información de documentos que contienen enlaces.
24. Las personas usan el [**Correo electrónico/ Whatsapp**] para enviar mensaje, documentos, etc....., entre sistemas informáticos.
25. La milésima parte de un kilogramo es un [**gramo/ g**].
26. El [**Petróleo**] es una mezcla natural que se compone principalmente de hidrocarburos. En su forma no refinada se conoce como crudo.
27. Los [**Rayos X**] son radiaciones electromagnéticas de longitud de onda corta. Son usados en medicina e industria para examinar estructuras internas.
28. Un cuerpo natural relativamente pequeño que orbita alrededor de un planeta o una nave espacial hecha por el hombre que da vueltas alrededor de la Tierra, el Sol, la Luna o un planeta se llama [**Satélite**].
29. La energía electromagnética radiada desde el Sol se llama [**Energía Solar**].
30. La propiedad de un cuerpo (o de una región del espacio) que determina si habrá o no un flujo neto de calor desde un cuerpo hacia otro cuerpo (o una región del espacio vecina), se llama [**Temperatura**].
31. La producción de inmunidad en un individuo a través de medios artificiales se denomina [**Vacunación**].



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Resúmenes de SAMIGE 2019:

Asociación Civil de Microbiología General SAMIGE

La Asociación Civil de Microbiología General SAMIGE tiene por propósito unir a microbiólogos que realizan investigación básica y aplicada en el estudio de bacterias, arqueas, hongos y levaduras. El objetivo de SAMIGE es, y fue desde su creación en 2004, promover el intercambio de información científica y de materiales, favorecer la formación de recursos humanos a través de la realización de pasantías y contribuir a la actualización de sus miembros por medio de congresos, jornadas y seminarios.

Las reuniones científicas organizadas por SAMIGE tienen por objetivo fomentar la interacción entre jóvenes investigadores (estudiantes de grado y posgrado) con científicos formados tanto nacionales como internacionales. En ese sentido, en los congresos SAMIGE se presentan trabajos de investigación de calidad en diferentes áreas como Biodiversidad, Biorremediación y Biocontrol, Biotecnología y Fermentaciones, Fisiología Microbiana, Interacción Procariota-Eucariota, Microbiología Ambiental y del Suelo, Microbiología Molecular, y Educación en Microbiología. Fiel a su espíritu, una comisión *ad hoc* evalúa los trabajos presentados y selecciona aquellos resúmenes que califiquen para ser presentados como comunicaciones orales por estudiantes de grado, doctorado o investigadores jóvenes en cada área temática. También, como incentivo a las nuevas generaciones de microbiólogos, se otorgan premios a las mejores comunicaciones orales que son auspiciados por la ASM (American Society for Microbiology) y nuestra asociación, así como numerosas becas de traslado a estudiantes de grado, posgrado y posdoctorado que expongan trabajos y requieran una ayuda económica para asistir al Congreso anual.

Para más informaciones sobre SAMIGE los invitamos a visitar su página web <http://samige.org.ar/>

En esta edición de Química Viva, les traemos los resúmenes del XIV Congreso Anual SAMIGE 2019 que se realizó en conjunto con la Asociación Argentina de Microbiología (ASM), el V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos (CAMA) y el V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos (CLAMME)

Laura J. Raiger lustman. Prosecretaria Asociación SAMIGE. Dto. Química Biológica.FCEN. UBA.

EL ROL DE LOS HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN LA INVASIÓN DE UNA ESPECIE ARBÓREA EXÓTICA

ABARCA, Camila 1 | BARRERA, Marcelo Daniel² | BO, Clara¹ | VALDÉS, Fabricio Emanuel¹ | CABELLO, Marta Noemí¹ | VELAZQUEZ, María Silvana¹

INSTITUTO DE BOTÁNICA SPEGAZZINI (FCNYM-UNLP-CICPBA) 1; UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA 2

Introducción y Objetivos:

La asociación con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) puede ser un factor determinante para la composición y estructura de las comunidades vegetales. El rol que ejercen estos microorganismos en el establecimiento de plantas exóticas ha sido ampliamente documentado. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto que la invasión de la especie arbórea exótica *Ligustrum lucidum* ejerce sobre las asociaciones micorrícicas en los bosques nativos de *Celtis ehrenbergiana*, evaluar la colonización de ambas especies y determinar cuál es el rol que cumplen los HMA en este proceso de invasión.

Materiales y Métodos:

El estudio se llevó a cabo por medio de un ensayo de invernáculo de seis meses de duración, entre mayo y octubre de 2018. Se inocularon plántulas de *L. lucidum* y *C. ehrenbergiana* con suelo proveniente de parches de bosque con vegetación nativa típica y parches completamente invadidos sin presencia de árboles nativos. Para reducir la colonización micorrícica arbuscular en los tratamientos control se utilizó un fungicida comercial con benomyl. Al finalizar el ensayo se midieron porcentajes de colonización micorrícica de las raíces y parámetros de crecimiento vegetativo. Además se realizó un recuento e identificación de las esporas de HMA presentes en las macetas. Los datos de colonización para ambas situaciones fueron analizados mediante un test ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis y los parámetros de crecimiento se sometieron a un ANOVA bifactorial ($P=0,05$). Con los datos obtenidos del recuento de las especies fúngicas se realizó un análisis de componentes principales (PCA).

Resultados:

Los valores de colonización total de *L. lucidum* fueron significativamente mayores en las plantas inoculadas con suelo del bosque invadido ($h=13,36, P=0,0037$), mientras que la colonización total de *C. ehrenbergiana* fue mayor en las plantas inoculadas con suelo del bosque nativo ($h=7,70, P=0,0502$). Los parámetros de crecimiento no mostraron diferencias entre tratamientos. Se recuperó un total de 12 especies fúngicas. El PCA agrupó a las muestras por especie vegetal y por fuente de inóculo, indicando que existen diferencias tanto en las especies de HMA presentes en ambos sitios como en las especies fúngicas con las que cada árbol establece simbiosis.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos indican que *L. lucidum* tiene la capacidad de establecer simbiosis con los HMA nativos en etapas tempranas de la invasión, y su establecimiento desencadena cambios en la microbiota del suelo que a largo plazo favorecen la micorrización de la exótica e interfieren con la micorrización de la especie nativa. Los datos aquí reportados contribuyen a la comprensión de los complejos mecanismos que operan en los fenómenos de invasión, demostrando que los HMA pueden tener un rol en estos procesos, no solo beneficiando a la especie invasora sino también actuando como una barrera que dificulta la regeneración de las plantas nativas.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES QUITINASA Y β -1,3-GLUCANASA DE AISLAMIENTOS DE TRICHODERMA SPP. COMO POTENCIALES BIOCONTROLADORES

ALDERETE, Jose Alejandro | LOPEZ, Ana Clara | ALVARENGA, Adriana Elizabet | ZAPATA, Pedro Darío | VILLALBA, Laura Lidia

LAB. BIOTECNOLOGIA MOLECULAR-INBIOMIS-FCEQYN-UNAM

Introducción y Objetivos:

Los hongos del género *Trichoderma* son activos contra una amplia gama de fitopatógenos, y se utilizan exitosamente como bioplaguicidas en aplicaciones agrícolas. Estos hongos emplean el micoparasitismo como uno de sus mecanismos para ejercer el control biológico, penetrando la pared celular del hongo hospedante y utilizando su contenido celular, mediante enzimas hidrolíticas tales como las quitinasas, glucanasas y proteasas, las cuales se inducen, al menos parcialmente, ante el contacto directo con el hospedante. El objetivo de este trabajo fue determinar cuantitativamente la producción de quitinasa y β -1,3- glucanasa en cuatro cepas de *Trichoderma* spp. nativas de la provincia de Misiones.

Materiales y Métodos:

Para esta investigación se seleccionaron cuatro hongos aislados de diferentes regiones de la provincia de Misiones que pertenecen a la Colección de cultivos de INBIOMIS. Los aislamientos utilizados fueron *Trichoderma atroviride* LBM112, *Trichoderma koningiopsis* LBM116, *Trichoderma stilbohypoxyli* LBM120 y *Trichoderma koningiopsis* LBM 219. Para la determinación de quitinasa y β -1,3-glucanasa, se inocularon 20 ml de medio sintético de quitina coloidal o medio Mandels, respectivamente, con una suspensión de esporas de 1×10^6 esporas/ml de cada cepa por triplicado. Los cultivos se incubaron a 28°C con una agitación de 100 rpm durante 8 días. Se recolectaron los sobrenadantes de cultivo por centrifugación cada 24 horas. Se determinaron las actividades con el método del ácido dinitrosalicílico (DNS), utilizando quitina coloidal como sustrato para la actividad quitinasa y laminarina para la actividad β -1,3-glucanasa.

Resultados:

El mayor valor de actividad quitinasa fue registrado a los cinco días de cultivo en el sobrenadante de cultivo de LBM 219 (43 U/L), seguido por los valores de actividad detectados para los sobrenadantes de LBM 112 (41 U/L) y LBM 116 (40 U/L) a los seis días de cultivo. Con respecto a la actividad β -1,3-glucanasa, el mayor valor de actividad enzimática se registró a los ocho días de cultivo en el sobrenadante LBM 116 (410 U/L).

Conclusiones:

Se concluye que estas cepas nativas de la provincia de Misiones presenta un alto potencial para ser utilizadas en la producción de bioinsumos para su aplicación como biocontroladores

Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EVALUACION DEL POTENCIAL TECNOLOGICO DE BACTERIAS LACTICAS AISLADAS DE DISTINTOS NICHOS ECOLOGICOS

ALLENDEZ, Gastón | TABOADA, Natalia | ROSAS, Domingo | NEME, Héctor | LOPEZ ALZOGARAY, Soledad

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SANTIAGO DEL ESTERO

Introducción y Objetivos:

Las bacterias lácticas (BL) han estado íntimamente asociadas a la cultura humana y a su bienestar a lo largo de la historia. Tienen numerosas aplicaciones industriales, tales como cultivos iniciadores en la industria láctea, probióticos en suplementos dietarios y agentes de bioconversión. Los objetivos fueron aislar y caracterizar BL provenientes de diferentes fuentes y estudiar sus propiedades tecnológicas.

Materiales y Métodos:

Las fuentes de BL fueron jugos de tunas (*Opuntia ficus indica*) (frutos de pulpa verde y morada) fermentados espontáneamente (25°C a 7 días) y sueros naturales usados como iniciadores en la elaboración de quesos caprinos de pasta blanda. Las BL se aislaron en medio de cultivo MRS agar (con 0,075% de azida sódica) (35°C, 48-72 h, microaerofilia); se realizó la caracterización bioquímica y molecular (a partir de la extracción del DNA genómico, con posterior amplificación, secuenciación del ARNr 16S y comparación de las secuencias en la base de datos GenBank).

Resultados:

A partir de los jugos fermentados, se aislaron en total 28 BL: *Weissella cibaria* (*W. cibaria*) (20), *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) 4 y *Pediococcus pentosaceus* (*P. pentosaceus*) 4. Todas las cepas fueron capaces de crecer en caldo MRS suplementado con etanol al 4% (v/v) (25°C, 24 h), mientras que se observó crecimiento nulo al 8% (v/v) de etanol. Se midió la capacidad de liberar la enzima β -glucosidasa (en MRS agar + 5% de arbutina, 2 a 6 días a 35°C, microaerofila), fuerte actividad se detectó en todas las cepas de *W. cibaria* y nula en las cepas de *P. pentosaceus*; esta actividad contribuye a las cualidades nutricionales de los alimentos fermentados. A partir de 4 muestras de suero natural, se aislaron en total 19 BL: *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) 6, *E. faecium* 10 y *P. pentosaceus* 3. La capacidad de acidificación es un criterio muy importante en la selección de cepas para cultivos starters, siendo las cepas de *L. plantarum* (~ 0,7% de ácido láctico, 16h a 37°C en leche descremada) las más acidificantes. Las 10 cepas de *E. faecium* presentaron la mayor capacidad proteolítica en medio FSDA (fast and slow differential agar). Las 3 cepas de *P. pentosaceus* metabolizaron citrato (en medio sólido con citrato de calcio) y liberaron diacetilo-acetoína en leche descremada, propiedades que contribuyen al aroma de los productos lácteos. De los perfiles enzimáticos obtenidos con el sistema API ZYM, se destacaron los lactobacilos, con altos valores de fosfatasa ácida (30 nmoles) y de peptidasas (36 nmol de leucina, 35 nmol de valina and 32 nmol de cistina aminopeptidasas) (expresado en nmoles de cromóforo liberado); propiedades responsables de hidrolizar fosfopéptidos y de contribuir a la textura del queso.

Conclusiones:

Las BL aisladas y caracterizadas en este estudio tienen potencial para ser usadas en la elaboración de alimentos fermentados, por su capacidad de contribuir a las características sensoriales, de calidad y de seguridad de los mismos.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

CAMBIOS GENÉTICOS QUE SUSTENTAN UN FENOTIPO DE MOVILIDAD AUMENTADA EN BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS

ALTHABEGOITI, María Julia | LOZANO, Mauricio | MENGUCCI, Florencia | DARDIS, Carolina | LÓPEZ GUERRA, Gabriela | QUELAS, Ignacio | MONGIARDINI, Elias | LODEIRO, Anibal

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos:

Bradyrhizobium diazoefficiens es capaz de establecer simbiosis con soja y permitir la fijación del N₂ atmosférico cuando el suelo está desprovisto de formas asimilables de N, siendo la soja un cultivo con una alta demanda de N. Existe un fenómeno de competición para la nodulación entre la cepa del inoculante y la población naturalizada, donde la cepa del inoculante ocupa como máximo un 10% de los nódulos, resultando en una fijación no exitosa. Sin embargo se ha observado que una cepa de mayor movilidad seleccionada sin emplear técnicas de ADN recombinante, *B. diazoefficiens* LP 3008, ha ocupado más nódulos que la cepa silvestre y ha provocado un aumento en el rendimiento del cultivo de soja (Althabegoiti et al., 2008; López Garcia et al., 2009). Por otra parte, se ha probado la desrepresión del flagelo lateral de LP 3008 en condiciones en las cuales su cepa parental LP 3004 no lo expresa. No obstante hemos demostrado que además hay otros factores en juego independientes de la movilidad (Althabegoiti et al. 2011).

Materiales y Métodos:

Se realizó la secuenciación completa de los genomas de *B. diazoefficiens* LP 3004 y LP 3008 empleando la tecnología Illumina HiSeq2000. El análisis se realizó con el programa Snippy (Semman T. 2015) a partir del cual se alinearon las secuencias crudas fastQ de ambas cepas con el genoma de referencia de USDA 110 (Davis-Richardson et al. 2017). Posteriormente se obtuvieron mutantes con el objetivo de reproducir los cambios hallados.

Resultados:

La cepa LP 3004 es una derivada de *B. diazoefficiens* USDA110 resistente natural a estreptomicina obtenida en nuestro laboratorio. Entre las cepas USDA 110 y LP 3004 fueron encontrados 52 cambios en el genoma, 45 inserciones (INS) de 1 pb, 6 cambios puntuales (SNPs) y 1 delección (DEL) de 1 pb. Entre la cepa LP 3004 y LP 3008 se han encontrado 9 cambios: 8 SNPs (7 en regiones codificantes y 1 en una región intergénica, pero ninguna en genes relacionadas a la movilidad o la quimiotaxis) y una única DEL de 11 pb en el gen *blr6743*. Por su característica de alterar el marco de lectura del gen esta delección resultó la mejor candidata a estudiar. *Blr6743* codifica para la subunidad alfa de un ferredoxina (Fd) oxidorreductasa, y *Blr6744* la subunidad beta de la misma. Esta enzima es capaz de transformar α -cetoglutarato en succinil-CoA o piruvato en acetil-CoA, en ambos casos produciendo CO₂ y Fd reducida, representando vías alternativas a los complejos de la piruvato deshidrogenasa y la α -cetoglutarato deshidrogenasa. Hemos realizado una delección de *blr6743/6744* manteniendo el marco de lectura en la cepa LP 3004, y de forma contraria, hemos transferido el alelo salvaje de *blr6743* a la cepa LP 3008. En ninguna de las estrategias hemos observado que el fenotipo de movilidad y expresión del flagelo revierta.

Conclusiones:

Con estos resultados podemos concluir que el fenotipo de LP 3008 no reside únicamente en esta mutación, sino que será un efecto sinérgico de una/s o todas las mutaciones en su conjunto.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ENCAPSULACIÓN DE DROGAS EN NANOPARTICULAS DE POLIHIDROXIBUTIRATO (NANOPHB)

ALVAREZ, Daniela Soledad 1 | DÍAZ PEÑA, Rocio1 | MICHELINI, Flavia1 | GARCIA, Cybele2 | WETZLER, Diana2 | MARTÍNEZ, Karina Dafne3 | PÉREZ, Oscar2 | MEZZINA, Mariela Paula1 | PETTINARI, Maria Julia2

IQUIBICEN 1; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET 2; DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS, FCEN-UBA 3

Introducción y Objetivos:

Los polihidroxicanoatos son polímeros biodegradables sintetizados por algunas bacterias como reserva de carbono y energía. El más conocido de estos biopolímeros, y el más frecuentemente encontrado en la naturaleza, es el polihidroxibutirato (PHB). El PHB es un compuesto biocompatible y no inmunogénico, por lo que resulta apropiado para usos en medicina. En este trabajo nos propusimos desarrollar nanopartículas de PHB (nanoPHB) para la liberación de drogas antivirales. Hemos logrado poner a punto las condiciones para la obtención de nanoPHB con dimensiones definidas y reproducibles mediante la técnica de emulsificación. El objetivo de esta etapa del trabajo fue completar la caracterización del sistema y lograr la encapsulación de drogas.

Materiales y Métodos:

Para la preparación de nanoPHB cargadas con compuestos hidrofóbicos, se los disolvió junto con el PHB en el solvente orgánico y luego se procedió con la emulsificación promovida por aplicación de ultrasonidos de alta intensidad. El tamaño de las nanopartículas se determinó por dispersión dinámica de luz (DLS). La concentración de PHB y de los compuestos encapsulados se determinó mediante GC. La caracterización estructural de las nanoPHB se realizó mediante dos técnicas de microscopía. Por un lado, se tiñó la suspensión de nanopartículas en agua con 2% de ácido fosfotungstico, y se la visualizó utilizando un Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM). Por otro lado, se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM). Para estudiar la internalización de nanoPHB en células eucariotas, se prepararon nanopartículas cargadas con el fluoróforo FITC y se las incubó durante 1 hora con dos líneas celulares: Vero y THP-1. Luego de lavados con tripsina, se analizaron las células por citometría de flujo.

Resultados:

Al visualizar las nanopartículas mediante las técnicas de SEM y TEM, se observaron tamaños similares a los obtenidos mediante DLS. Adicionalmente, se realizaron mediciones de DLS de una suspensión de nanoPHB durante un mes. Los resultados demuestran que las nanopartículas no modificaron su tamaño durante ese tiempo, presentando una gran estabilidad coloidal. Por otro lado, se estudió por citometría la internalización de nanoPHB en células eucariotas. Se observó que las células incubadas con nanopartículas cargadas con FITC presentaron mayor intensidad de fluorescencia que el control celular y que las células incubadas con nanoPHB sin fluoróforo (quienes, entre sí, no presentaron diferencias). Finalmente, encapsulamos estigmasterol en nanoPHB, una molécula precursora de uno de los antivirales que queremos analizar. El análisis por DLS de estas nanopartículas demostró que la encapsulación no produjo diferencias en el tamaño de las mismas.

Conclusiones:

En conjunto, los resultados obtenidos en este trabajo han permitido la caracterización completa de las nanoPHB. Además, los ensayos preliminares de internalización y encapsulación muestran un gran potencial para la utilización de las nanoPHB como sistema de liberación de drogas antivirales.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

DIFERENCIACION DE CÉLULAS THP-1 INDUCIDA POR BIFIDOBACTERIAS

ASSAD, Sabrina¹ | MINNAARD, Jessica² | PÉREZ, Pablo Fernando²

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (CONICET-LA PLATA)¹; CIDCA (CONICET, CICPBA Y UNLP) / CÁTEDRA DE MICROBIOLOGIA GENERAL (FCE, UNLP)²

Introducción y Objetivos:

Los probióticos modulan la respuesta inmune del huésped. Las cepas de Bifidobacterium utilizadas en este trabajo han demostrado estimular diferencialmente la fagocitosis y expresión de HLADR y TLR2 en células THP1 diferenciadas con acetato de forbol miristato (PMA) (THP1PMA). El objetivo de este trabajo fue caracterizar las células estimuladas con bifidobacterias a través del estudio de la expresión de marcadores de superficie.

Materiales y Métodos:

Se utilizaron dos cepas: B bifidum CIDCA 5310 y B adolescentis CIDCA 5317 crecidas en anaerobiosis (MRS, 24 h, 37°C) y monocitos en cultivo THP1 diferenciados durante 48 hs con PMA 200 nM. Luego, en las mismas condiciones de cultivo, las células se estimularon 18 hs con cada una de las cepas en una multiplicidad de infección de 10, y LPS 0,5 µg/ml e IFN gamma 7500 U/ml, o IL-4 para realizar la marcación con anticuerpos anti CD16, CD64, CD163 o CD206. La expresión se evaluó por citometría de flujo y se calculó el índice de fluorescencia media (IFM)= Porcentaje de células positivas (FITC o PE) x media de intensidad de fluorescencia. Se incluyeron los controles de isotipo y el basal.

Resultados:

Los resultados obtenidos en las células THP1PMA estimuladas con IFN gamma y LPS y la cepa CIDCA 5310 mostraron un aumento del valor de IFM para la expresión de CD16 ($10795,03 \pm 863,27$, $P < 0,05$) respecto al control sin bacteria ($5457,87 \pm 400,18$); cuando se evaluó CD64 ambas cepas disminuyeron los valores de IFM respecto al control ($3532,04 \pm 14,42$), con valores de $2455,04 \pm 222,94$ para la cepa CIDCA 5317 ($P < 0,05$) y $2511,02 \pm 378,00$ para la cepa CIDCA 5310 ($P=0,06$). Para este último marcador, en ausencia de la diferenciación previa con PMA, no se encontraron diferencias entre el control de IFN gamma + LPS ($7511,72 \pm 1092,05$) y la estimulación con la cepa CIDCA 5310 ($6820,32 \pm 345,28$) o la cepa CIDCA 5317 ($7665,94 \pm 68,19$). Cuando las células THP1PMA se estimularon con IL-4, el valor de IFM para CD163 fue de $3982,77 \pm 153,01$ y para CD206 fue de $265,78 \pm 83,73$. El estímulo con la cepa CIDCA 5310 produjo un aumento de los valores de IFM ($P < 0,05$) ($4740,94 \pm 272,40$ y $799,17 \pm 96,78$, respectivamente para cada marcador). La cepa CIDCA 5317 mostró el mismo comportamiento ($4613,41 \pm 285,38$, $P < 0,05$ y $414,17 \pm 54,18$, respectivamente para CD163 y CD206). Cuando se evaluó CD206 en ausencia de diferenciación con PMA, sólo la cepa CIDCA 5310 aumentó la expresión ($2921,89 \pm 32,00$, $P < 0,05$) respecto al control sin cepa ($1630,85 \pm 29,48$).

Conclusiones:

Los resultados muestran un perfil de diferenciación de las células THP1 dependiente de la cepa: CIDCA 5310 potencia la expresión de marcadores M1 y M2 mientras que la cepa CIDCA 5317 sólo potencia la expresión de marcadores M2.

Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

DECOLORACIÓN DE AZUL DE METILENO EMPLEANDO AL HONGO AUTÓCTONO DE MISIONES: PHLEBIA BREVISPORA BAFC 633

AYALA SCHIMPF, Alan Rolando | GIORGIO, Ernesto Martín | ZAPATA, Pedro Darío | FONSECA, María Isabel

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES – UNIVERSIDAD NACIONAL

Introducción y Objetivos:

Los colorantes presentes en efluentes textiles se consideran compuestos altamente recalcitrantes por su resistencia a la luz solar, temperatura y ataque microbiano. Además, pueden causar diversos efectos adversos en los ecosistemas acuáticos, demostrándose un efecto carcinogénico y mutagénico en diferentes organismos. Por ello, han sido tratados con diferentes tecnologías fisicoquímicas y biológicas, siendo las últimas menos costosas y de mayor eficiencia. Se ha demostrado que las enzimas ligninolíticas producidas por hongos de pudrición blanca poseen la capacidad de decolorar efluentes textiles conteniendo colorantes como azul de metileno en distintas concentraciones. Sin embargo, el rendimiento del proceso sigue siendo un factor limitante para su aplicación. El objetivo del trabajo fue evaluar la habilidad del hongo de pudrición blanca *Phlebia brevispora* BAFC 633 en la remoción del colorante azul de metileno en su forma libre e inmovilizada.

Materiales y Métodos:

P. brevispora se activó en medio MEA (12,7 g/L extracto de malta y 20 g/L agar); para obtener los inóculos se cortaron tres tacos (Ø 5 mm) de micelio joven y se cultivaron en medio ME (12,7 g/L de extracto de malta y 5 g/L de extracto soluble de maíz) durante 9 días a 29°C. Para los experimentos de remoción se utilizó el colorante azul de metileno a concentración de 150 ppm, realizándose tratamientos con micelio libre e inmovilizado en soporte de acero inoxidable (SAI, 1,6 g/L) con y sin el agregado de sulfato de cobre a una concentración de 0,5 mM. Los tratamientos controles consistieron en medio ME suplementado con colorante y la presencia de biomasa muerta con o sin soporte. La actividad lacasa fue monitoreada en espectrofotómetro a 496 nm utilizando 2,6 dimetoxifenol (DMP) 5 mM en BUFFER acetato de sodio pH 3,6. El perfil isoenzimático y la estimación del peso molecular de la lacasa se realizó por zimografía utilizando DMP como sustrato. La determinación cuantitativa de la remoción del colorante se realizó por espectrofotometría a 669 nm, utilizando una curva patrón como estándar.

Resultados:

El mayor porcentaje de remoción se obtuvo al 7mo día de incubación, siendo de 99,9% para el micelio inmovilizado y del 98% para el micelio libre. La máxima actividad lacasa se observó al 6to día de incubación con 1592 U/L para el micelio inmovilizado en SAI adicionada con cobre mientras que para la biomasa libre con cobre se registró una actividad aún mayor, siendo de 2371 U/L ($p < 0,001$). Se observó la presencia de una isoenzima constitutiva de 60 kDa en todos los tratamientos, mientras que una isoenzima de 75 kDa se registró únicamente en los tratamientos adicionados con cobre.

Conclusiones:

A partir de los resultados obtenidos se vislumbra que *P. brevispora* BAFC 633 posee una prometedora capacidad de remoción del colorante tiazina azul de metileno, tanto en su forma libre como inmovilizada, característica que podría ser aprovechada en aplicaciones biotecnológicas como la decoloración de efluentes textiles.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 3G A PARTIR DE LA HIDRÓLISIS DE BIOMASA ALGAL UTILIZANDO CÓCTELES ENZIMÁTICOS DE TRICHODERMA HARZIANUM BADER, Araceli 1 | SÁNCHEZ RIZZA, Lara2 | CONSOLO, Verónica Fabiana3 | CURATTI, Leonardo4 INBIOTEC-CONICET Y FIBA 1; INBIOTEC-CONICET Y FIBA 2; INBIOTEC-CONICET Y FIBA 3; INBIOTEC-CONICET Y FIBA 4

BADER, Araceli 1 | SÁNCHEZ RIZZA, Lara2 | CONSOLO, Verónica Fabiana3 | CURATTI, Leonardo4

INBIOTEC-CONICET Y FIBA 1; INBIOTEC-CONICET Y FIBA 2; INBIOTEC-CONICET Y FIBA 3; INBIOTEC-CONICET Y FIBA 4

Introducción y Objetivos:

En los últimos años, la necesidad de reemplazo de los combustibles fósiles ha favorecido la búsqueda de alternativas para explorar otras fuentes de energía. Las microalgas acuáticas son un recurso promisorio para la producción de bioetanol y pueden ser utilizadas como materia prima para la elaboración de productos de alto valor agregado. La ventaja de su uso radica en su gran eficiencia fotosintética y productividad y la independencia de tierras fértiles. Uno de los desafíos para maximizar la producción de bioetanol, es explorar alternativas económicas y prácticas para sustituir total o parcialmente los actuales procesos de pretratamiento de la biomasa. Uno de los métodos más eficientes es la hidrólisis físico-química, sin embargo el uso de grandes volúmenes de ácidos y el alto requerimiento energético incrementan los costos de producción y sobre todo resultan en un alto impacto ambiental. La hidrólisis enzimática puede ser una alternativa económica e inocua pero debe ser mejorada. El objetivo de este trabajo fue generar un cóctel enzimático, a partir de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum*, capaz de hidrolizar y sacarificar biomasa algal.

Materiales y Métodos:

Se cultivó el hongo en salvado de trigo y se determinó y optimizó su capacidad de sacarificar biomasa y otras actividades enzimáticas. Se cultivaron las microalgas *Chlamydomonas reinhardtii* cc125 (wt) y cw15 (deficiente en pared celular). Se optimizaron las condiciones de hidrólisis y sacarificación de los carbohidratos de la biomasa de ambas cepas y se determinaron los azúcares fermentables así como la conversión a etanol por fermentación con *Saccharomyces cerevisiae*.

Resultados:

Ambas microalgas acumularon carbohidratos totales hasta el 50% de su peso seco, presentando niveles similares de almidón y azúcares solubles. En cambio, la cepa cw15 presentó menos de un tercio del contenido de celulosa. Las mejores condiciones de hidrólisis fueron: 55°C, pH 5 con tiempo de incubación de 0,5 a 24 h. De esta manera se determinó una actividad amilolítica de $0,5 \pm 0,2$ UA/ml de enzima, definida como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 mol de glucosa por minuto. La actividad proteolítica, celulolítica y amilolítica estimada fue de 20, 110 y 750 ug/ml respectivamente sobre 10 mg/ml/h de incubación. Se determinó un 100% de sacarificación de los carbohidratos de la biomasa de ambas cepas con 0,1 UA de enzima/mg de biomasa. De la sacarificación se obtuvieron jarabes azucarados de hasta 22 g/L que fueron convertidos a etanol por fermentación con una eficiencia mínima del 30%. Contrariamente a lo esperado, no se observaron diferencias significativas en la sacarificación con la cepa deficiente en pared.

Conclusiones:

Estos resultados sugieren el potencial de la bioprospección de cepas fúngicas en la producción de un complemento de enzimas hidrolíticas para la sacarificación de sustratos complejos como la biomasa

algal, para una diversidad de aplicaciones industriales, tales como la producción de bioetanol de tercera generación (3G).

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

RELEVANCIA DE LA HISTIDÍN QUINASA CHEA1 DE HALOMONAS TITANICAE KHS3 EN LA RESPUESTA QUIMIÓTACTICA GENERAL Y SU EFECTO EN LA FORMACIÓN DE BIOFILM

BALMACEDA, Rocio 1 | HERRERA SEITZ, María Karina2 | STUDDERT, Claudia1

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA DEL LITORAL 1; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN 2

Introducción y Objetivos:

En los últimos años, se ha planteado la importancia de la quimiotaxis en los procesos de biodegradación de contaminantes ambientales dado que ésta le permitiría a la bacteria encontrar sustratos con mayor eficiencia. *Halomonas titanicae* KHS3 es una bacteria halófila aislada del Puerto de Mar del Plata, capaz de crecer usando hidrocarburos poliaromáticos como única fuente de carbono y muestra quimiotaxis hacia estos compuestos. La secuenciación del genoma permitió la identificación del Cluster 1 relacionado a quimiotaxis, muy similar al cluster che de *E. coli*. El presente trabajo busca comprender la relevancia del Cluster 1 en el comportamiento quimiotáctico.

Materiales y Métodos:

Se generó una mutante de delección en el gen de la histidín quinasa cheA1. La construcción implicó el clonado de las regiones flanqueantes del gen a deleccionar en un vector suicida, su incorporación en el locus correspondiente por recombinación homóloga y la posterior escisión de las secuencias plasmídicas tras una segunda recombinación. La mutante obtenida fue confirmada por Reacción en Cadena de la Polimerasa, y por otra parte complementada con su propio gen faltante. El comportamiento quimiotáctico de la cepa mutante y salvaje se ensayó en placas de agar blando, y la movilidad fue observada en microscopio óptico de campo oscuro. El crecimiento de ambas cepas en medio líquido se determinó por densidad óptica. Adicionalmente, se realizaron ensayos de formación de biofilm por el método de coloración con cristal violeta, capacidad de autoagregación, macrocolonias en distintos medios y producción de exopolisacáridos por el método de rojo Congo.

Resultados:

La delección del gen cheA1 destruyó por completo la respuesta quimiotáctica. La ausencia de anillos de quimiotaxis se debe sólo a deficiencias en quimiotaxis ya que ambas cepas presentaron movilidad similar. La expresión del propio gen cheA1 no restauró el fenotipo de la mutante obtenida. Un análisis detallado de la misma mostró que el gen inmediatamente río abajo, que codifica para la proteína acopladora CheW1, tendría alteraciones en el sitio de unión a ribosoma. Un ensayo de Western Blot con anticuerpos anti-CheW confirmó una notable disminución en la expresión de CheW1. En un medio con fenantreno como única fuente de carbono y en ausencia de agitación la mutante en cheA1 mostró un crecimiento más lento respecto a la cepa salvaje, apoyando así el papel de la quimiotaxis en la eficiencia de la utilización del sustrato en esas condiciones. La mutante evidenció un incremento notable en su capacidad de formación de biofilm y autoagregación. Este aumento no puede explicarse por diferencias en la producción de exopolisacáridos. La morfología de macrocolonias de ambas cepas presenta diferencias que varían en diferentes medios.

Conclusiones:

Los resultados evidencian el rol fundamental de la histidín quinasa CheA1 en la quimiotaxis de *H. titanicae*. Revelan un efecto inesperado en la formación de biofilm que podría resultar beneficioso para la degradación de contaminantes dado que facilitaría la interacción del microorganismo con las partículas de suelo y los contaminantes hidrófobos.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

UNA NUEVA NAD(P)H DESHIDROGENASA DE XANTHOMONAS CITRI SUBSP. CITRI INVOLUCRADA EN LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO Y OXIDATIVO

BARCAROLO, María Victoria | GARAVAGLIA, Betiana | GOTTIG, Natalia | OTTADO, Jorgelina

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

cítricos, enfermedad mundial que afecta a variedades cítricas provocándoles una disminución en la producción y calidad de los frutos. Durante el ciclo de vida de Xcc como epífita sobre la superficie del tejido vegetal, está expuesta a condiciones ambientales desfavorables entre ellas, baja disponibilidad de agua y estrés osmótico. En un estudio de proteómica realizado previamente evaluamos la adaptación de Xcc en condiciones de estrés salino generado por NaCl 0,25 M. Una proteína homóloga a una NAD(P)H deshidrogenasa (DH), presentó una abundancia de 30 veces en bacterias sometidas a estrés salino. El objetivo de este trabajo consiste en dilucidar la función de la proteína DH en la interacción planta-patógeno y en la adaptación de Xcc en condiciones de estrés salino y oxidativo.

Materiales y Métodos:

Mediante qRT-PCR evaluamos los niveles de expresión de la DH y, para caracterizar la funcionalidad de esta proteína generamos una mutante, XccDH- por doble evento de recombinación y se complementó conjugando pBBR1MCS-2:DH, XccDH-c. A través de curvas de crecimiento evaluamos el comportamiento de las bacterias en NaCl 0; 0,25 y 0,5 M. Para analizar la participación de la DH en la tolerancia a estrés oxidativo, incubamos las bacterias en H₂O₂ 25 mM. La acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS) en los extractos bacterianos luego del tratamiento con H₂O₂ 25 mM, NaCl 0,25 y 0,5 M, se cuantificaron utilizando la sonda fluorescente diacetato 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (H₂DCFDA) y mediante el ensayo de "sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico" (TBARS).

Resultados:

Al evaluar los niveles de expresión de la DH en NaCl 0,25 M observamos una inducción de 3.3 veces ($p < 0,05$) respecto al control. Por otra parte, analizamos el crecimiento bacteriano de Xcc, XccDH y XccDH-c y observamos que disminuyó con el aumento de la concentración de NaCl, sin observar diferencias significativas entre las cepas en estudio. Al caracterizar la participación de esta proteína en el proceso de patogenicidad, no observamos diferencias en las lesiones de la enfermedad producidas por las cepas en estudio. Sin embargo, cuando se evaluó la sobrevida epifítica, XccDH- presentó una tasa de sobrevida menor sobre el tejido vegetal con respecto a Xcc ($p < 0,05$). En condiciones de estrés oxidativo XccDH- mostró mayor sensibilidad al oxidante ($p < 0,05$), y al cuantificar ROS en los extractos bacterianos, XccDH- mostró un aumento significativo de los niveles de ROS ($p < 0,05$), sugiriendo que la proteína DH estaría involucrada en el control de la acumulación de ROS intracelular.

Conclusiones:

Con los resultados obtenidos hasta el momento, se logró caracterizar la enzima NAD(P)H deshidrogenasa, una nueva proteína involucrada en los mecanismos de adaptación bacteriana frente a condiciones ambientales desfavorables, que determinan el éxito del proceso de patogenicidad.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

MECANISMOS DE TOLERANCIA A METALES PESADOS EN BACTERIAS POLIEXTREMÓFILAS AISLADAS DE ESTROMATOLITOS VIVOS EN LA PUNA ANDINA

BARRIENTOS AVILA, Lia Marisel¹ | ALBARRACÍN, Virginia Helena² | FARIAS, María Eugenia¹ | ORDOÑEZ, Omar Federico ¹

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. 1; CENTRO DE INVESTIGACIONES Y SERVICIOS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA (CISME), CCT-CONICET²

Introducción y Objetivos:

El creciente contenido de compuestos de metales pesados y metaloides como contaminantes antropogénicos, especialmente de las especies Cr (VI), Cd (II), Cu (II), Pb (II), Ni (II), Co (II) y As (III, V) se ha convertido en un problema grave debido a su toxicidad hacia los organismos vivos. Estos compuestos deben eliminarse mediante tratamientos eficientes. La biosorción de metales pesados por microorganismos es un proceso efectivo y ecológicamente seguro para retirar o inmovilizar iones en medio líquido o sólido. El análisis genómico de las cepas *Exiguobacterium* sp. S17 y *Salinivibrio* sp. S34, aisladas a partir de estromatolitos en Laguna Socompa Salta, Argentina (3.570 m.a.s.l.), mostró una amplia variedad de genes de resistencia a diferentes metales pesados y metaloides. Por lo tanto estos microorganismos son excelentes candidatos para estudios de remoción de metaloides y metales pesados de ambiente contaminados. En este trabajo se estudió la respuesta de S17 y S34 frente a metales pesados y metaloides estudiando los mecanismos involucrados en dicha resistencia y la presencia de eventos de adsorción, bioacumulación o bioespeciación con el fin de proponer su utilización en procesos de remediación de metaloides y/o metales pesados.

Materiales y Métodos:

La tolerancia frente a Cr, Cd, Co y As se evaluó en medio LB y MGM (sólido y líquido). Posteriormente se estudio el crecimiento celular con y sin la adición de Cr(VI) al medio y la capacidad de reducción de Cr(VI) mediante la técnica colorimétrica de 1, 5-Diphenylcarbazide. La concentración de Cr total se analizó por espectroscopia de absorción atómica a las 24, 48 y 72hs.

Resultados:

Ambas cepas crecieron en presencia de los metales ensayados, se observó mejor respuesta por parte de la cepa S34 [Cr(5mM), As (5mM), Cd (1.5mM) y Cu (20mM)] respecto a S17 [Cr (4mM), As (5mM), Cd (0,14mM) y Cu(24mM)]. El crecimiento celular no fue afectado por la adición de Cr al medio en S34, mientras que S17 disminuyo su crecimiento por abajo del 50%. El análisis de los resultados mostró que ambas cepas presentaron excelentes perfiles para la remoción de Cr(VI) durante las 72hs de cultivo. Se observaron valores de remoción del metal presente en el medio de entre 60-80% en S34 y del 45-55% en S17. Cuando se analizó Cr total en los sobrenadantes, este prácticamente se mantuvo constante durante todo el cultivo. En los ensayos no se observó cambios en la concentración de Cr(VI) para los controles abióticos.

Conclusiones:

Podemos inferir que el mecanismo de resistencia a Cr(VI) involucrado en las cepas de altura, estaría principalmente ligado a procesos de bioespeciación de Cr(VI), mediante la reducción del metal a su especie menos tóxica Cr(III) y no a la bioacumulación en las células. Estos son los primeros avances realizados en nuestro grupo enfocados en la aplicación directa de microorganismos extremófilos en estrategias de remediación de metales pesados.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EXOPOLISACÁRIDO PRODUCIDO POR LACTOBACILLUS FERMENTUM Lf2: OPTIMIZACIÓN ESTADÍSTICA DE LA PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL COMPUESTO OBTENIDO

BATISTELA, Virginia A.1 | CORREA OLIVAR, Gabriela1 | ALE, Elisa1 | FERRADO, Joana Belén2 | REINHEIMER, Jorge A. 1 | VERA CANDIOTI, Luciana3 | BINETTI, Ana G.1

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL/ INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL 1; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA (UNL) 2; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL 3

Introducción y Objetivos:

Algunas bacterias lácticas (BAL) son capaces de producir exopolisacáridos (EPS), moléculas que pueden mejorar las propiedades reológicas de ciertos productos lácteos y a la vez, ejercer efectos benéficos para la salud del consumidor. La cepa autóctona *L. fermentum* Lf2 es capaz de producir 1 g/L de EPS con propiedades tecnológicas y funcionales demostradas, rendimiento elevado en comparación con otras BAL. Por lo tanto, se planteó como objetivo optimizar su producción y realizar su caracterización química a los fines de proponer su aplicación como ingrediente alimentario.

Materiales y Métodos:

Se realizó una selección de factores mediante modelos D-Optimal para un medio de cultivo semi-definido (SDM), con el fin de determinar las concentraciones de las fuentes nitrogenadas que optimicen la producción, como así también el tipo de fuente de carbono y el tiempo de fermentación. Luego se realizaron fermentaciones variando el pH (de 5 a 7) y la concentración de sacarosa (1 a 8% m/v) aplicando un modelo central compuesto. Se utilizó 0,53% m/v bacto casitona, 0,63% m/v base nitrogenada de levadura y 0,53% m/v citrato de amonio según las proporciones obtenidas previamente. Las fermentaciones se realizaron en un biofermentador de 2 L Sartorius Biostat A plus a 30°C por 48 h. Se tomaron muestras de 200 mL para realizar recuentos y extraer EPS por precipitación alcohólica. A partir del EPS purificado, se realizó un análisis estructural aplicando espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) 1H. Además, se determinó el peso molecular, el tamaño de partícula y la carga superficial de la molécula por espectroscopía de dispersión estática (SLS) y dinámica (DLS) de luz.

Resultados:

La mayor producción del EPS se obtuvo con 6,25% m/v sacarosa y pH 6,5, logrando un rendimiento de $1,8 \pm 0,2$ g/L EPS crudo, duplicando el obtenido en condiciones no optimizadas. El recuento celular fue de 8,5 log(UFC/mL). Mediante SLS se determinó que la solución de extracto de EPS presenta un PM promedio de $(2,53 \pm 0,03) \cdot 10^3$ kDa. El valor del índice de polidispersidad (Pdl) fue cercano a 0,4 (por DLS), lo que sugiere una distribución del tamaño de partícula polidispersa, probablemente debido a la presencia de diferentes poblaciones de EPS con distintos tamaños de partícula, y se evidenció la presencia de dos poblaciones principales de EPS con diferentes tamaños. El valor potencial obtenido fue de -18 ± 2 mV (a una concentración de EPS de 0,75 mg/mL), por lo que se puede decir que el EPS tiene una carga neta negativa en una solución de NaNO₃ 0,1 M. Finalmente, se analizó el espectro unidimensional 1H RMN obtenido a 300 MHz. Se observaron 3 resonancias de protones en la región anomérica (δ 5,50-4,50 ppm). Los valores de δ (desplazamiento químico) obtenidos para las 3 señales sugieren que los protones H1 corresponden a carbonos anoméricos en configuración alfa. Debido a que el espectro fue obtenido a 293 K, no se pudo inferir sobre la presencia de protones en carbonos en configuración β .

Conclusiones:

Se ha logrado optimizar el rendimiento de EPS de la cepa *L. fermentum* Lf2, duplicando el valor obtenido en condiciones no optimizadas y se pudo dilucidar que está principalmente formado por dos

poblaciones de distinto tamaño, presenta carga neta negativa, un PM promedio de $(2,53 \pm 0,03)103\text{kDa}$ y se ha identificado la presencia de carbonos anoméricos alfa en su estructura.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

CEPAS FÚNGICAS TOLERANTES AL ARSÉNICO PARA REMOCIÓN EN AGUA

BEDOGNI, Giselle Rocio | PELLIZZARI, Esther Edith

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA GENERAL. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL

Introducción y Objetivos:

En la provincia del Chaco, parte del agua disponible para la población se encuentra en forma subterránea, mayoritariamente contaminadas con arsénico. El objetivo de este trabajo fue cuantificar la cantidad de arsénico removido utilizando biorreactores con cultivo flotante de biomasa fúngica, consorcio de As.

Materiales y Métodos:

Las cepas fueron aisladas de agua de pozos, perforaciones y aljibes de uso doméstico, de la localidad de Presidencia Roque Sáenz Peña, Chaco. Se aisló mediante siembra en superficie de 500 µl de las muestras de agua en Sabouraud Cloranfenicol Agar (SCA). Se incubó a 3°C y 48 horas. Se generaron cultivos monospóricos en Papa Dextrosa Agar (PDA) a partir de las colonias desarrolladas en SCA. Se calculó el Índice de Tolerancia (TI) de las cepas aisladas con los valores de crecimiento radial de las colonias en PDA suplementado con 1000 ppm de arseniato de sodio a los 7 días de incubación a 37°C. Se utilizaron las cepas con valores de TI mayores a la media.

Resultados:

A partir del desarrollo microbiológico en SCA, se generaron 15 cultivos monospóricos. Las cepas fúngicas tolerantes al As correspondieron a: *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium sambucinum*, *Penicillium italicum* y *Fusarium poae*. Para el estudio de remoción, se preparó caldo (%p/v): glucosa 0.4 %, peptona microbiológica 0.2 %, cloruro de sodio 0.2 %) empleando soluciones de Arseniato de sodio a concentraciones de 1 ppm y 1000 ppm, se esterilizó en autoclave a 120°C por 15 minutos. Se inocularon los caldos con conidios monospóricos tolerantes, a 37°C, se tomaron muestras a las 24, 72, 96, 120 y 360 horas. Para determinar la concentración de As⁺⁵ en la biomasa después de cada tiempo de incubación, se adicionó una mezcla oxi-acídica de ácido nítrico, ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno, en proporción 4:1:1, se calentó a 80°C, durante 3 horas. Se enfrió y adicionó 20 ml de agua destilada, se calentó a 140°C, durante 4 horas, se adicionó agua destilada hasta volumen final de 25 ml. Los porcentajes finales de remoción, a las 360 horas fueron: 70% *A. niger*, 10% *R. oryzae*, 10% *F. oxysporum*, 60% *F. avenaceum*, 50% *F. sambucinum*, 23% *P. italicum* y 20% *F. poae*. Las determinaciones de As⁺⁵ en biomasa fueron 0.10 mg/l para *R. oryzae*, 0.70 mg/l para *A. niger* y 0.25 mg/l para *P. italicum*. La remoción se produce en la biomasa utilizando mecanismos de acumulación en el citoplasma y de reducción extracelular detoxificante. En las cepas que no se pudo detectar la presencia de As⁺⁵, el posible mecanismo puede ser labiovolatilización.

Conclusiones:

Al comparar los porcentajes de remoción obtenidos se pudo determinar que *A. niger* es el mejor candidato, dentro de las especies analizadas, para futuras aplicaciones en procesos de remoción de arsénico en aguas subterráneas mediante técnicas de bioadsorción. Mientras que si el objetivo, por razones de bioseguridad, es la obtención de enzimas resulta de interés el estudio de las enzimas responsables de labiovolatilización presentes en las cepas de *Fusarium*. Los resultados obtenidos por biovolatilización, concuerdan con trabajos, donde se indican que algunas especies de *Fusarium* realizan principalmente la volatilización de As⁺⁵, pudiendo ser este el mecanismo utilizado en la remoción de As. Mientras que *Penicillium* producen labiometilación y acumulación intracelular. *R. oryzae* realiza una reducción a As⁺³ y luego lo inmoviliza generando la acumulación de arsénico. *A. niger* realiza la bioadsorción de arsénico, 2017, permitiendo remover grandes cantidades del arsénico en solución.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EFECTO PROTECTOR DEL GLUTATIÓN SOBRE OENOCOCCUS OENI FRENTE A CONDICIONES DE ESTRÉS RELACIONADAS AL PROCESO DE VINIFICACIÓN

BENTENCOURT, Emilse | RAYA, Raúl | MENDOZA, Lucía M.

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos:

Durante el proceso de vinificación al finalizar la fermentación alcohólica puede tener lugar una fermentación secundaria denominada fermentación maloláctica (FML). La FML consiste en la conversión del ácido L-málico en L-láctico y es un paso importante para obtener vinos de mayor calidad sensorial. Entre las bacterias lácticas de vino, *Oenococcus oeni* es la especie mejor adaptada y es casi exclusivamente usada como cultivo iniciador de la FML. Sin embargo, la viabilidad y actividad maloláctica de *O. oeni* en el vino dependen de su resistencia a diferentes factores de estrés como bajos valores de pH y elevadas concentraciones de etanol. El glutatión (GSH) es un tripéptido no-proteico que actúa como antioxidante y es considerado un agente protector frente a condiciones adversas. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la adición de glutatión al medio de cultivo protege a *O. oeni* durante su crecimiento frente a factores de estrés como pH ácido, sulfitado y etanol.

Materiales y Métodos:

Se estudiaron 7 cepas de *O. oeni* (5 autóctonas y 2 de colección), las cuales se cultivaron a 30 °C en medio MRS con y sin adición de GSH (5mM). El efecto protector del GSH frente a la acidez se estudió usando medios con pH 4 y 3,7 mientras que la protección al sulfitado y etanol se determinó agregando al medio de cultivo 50 mg/L de metabisulfito y 6 % de etanol, respectivamente. El crecimiento bacteriano se evaluó por lecturas de densidad óptica (DO600nm). En los vinos, la viabilidad de *O. oeni* se evaluó por recuento de células viables y el consumo de ácido L-málico con un kit enzimático.

Resultados:

En presencia de GSH, todas las cepas de *O. oeni* presentaron mayor crecimiento cuando se inocularon en los medios con pH 4 y 3,7. El efecto positivo fue más marcado a mayor acidez, obteniéndose el doble de biomasa celular por la adición de GSH. En presencia de etanol, las cepas crecieron mejor cuando se adicionó GSH con un incremento del 40-50 % de la densidad celular. Al evaluar el efecto del sulfitado, las cepas solo crecieron en el medio adicionado con GSH después de 72 h de incubación. Durante la inoculación secuencial en vinos, se observó mejor viabilidad y FML cuando las cepas fueron previamente cultivadas con GSH.

Conclusiones:

En base a los resultados se podría concluir que la adición de GSH al medio de cultivo mejora el crecimiento de diferentes cepas de *O. oeni*. Además la pre-adaptación cultivando la bacteria en condiciones de estrés con GSH permitió obtener células más resistentes que al ser inoculadas en vinos presentaron mayor viabilidad y actividad maloláctica. Por lo tanto, este paso de pre-adaptación podría ser una estrategia para mejorar la producción de biomasa de cultivos iniciadores que conduzcan exitosamente la FML.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE UNA CEPA AUTÓCTONA EN UN MEDIO FORMULADO A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES: VIABILIDAD Y ACTIVIDAD METABÓLICA

BERET, Victoria¹ | PERALTA, Guillermo ¹ | VERA-CANDIOTI, Luciana² | HYNES, Erica¹ | BERGAMINI, Carina¹

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL/ INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL 1; FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS- UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL 2

Introducción y Objetivos:

La producción industrial de concentrados y aislados de proteínas provenientes de la harina de soja genera grandes cantidades de residuos líquidos, los cuales contienen una gran cantidad de nutrientes que podrían ser aprovechados por la industria de fermentos para la formulación de medios de cultivos económicos. En el presente trabajo se optimizó mediante la metodología de superficie de respuesta la producción de biomasa de *Lactobacillus paracasei* 90 (L90) en un medio de cultivo formulado principalmente con el residuo líquido resultante de la separación de proteínas/fibras de la harina de soja. Una vez optimizado el medio (MO), se evaluó la actividad metabólica de las células de L90 desarrolladas en el mismo.

Materiales y Métodos:

La optimización se realizó mediante un diseño experimental central compuesto fraccionado con 4 factores (permeado de suero de queso, extracto de levadura, Mg y Mn), un total de 22 puntos experimentales, 6 de los cuales son puntos centrales, y fueron realizados en 2 bloques. La cepa L90 se inoculó al 2% en cada combinación de variables propuestas por los puntos experimentales del diseño y se incubó 24h a 34°C. La respuesta del diseño (biomasa) se evaluó mediante recuentos en placa, peso seco y densidad óptica (DO). Para evaluar la influencia del medio de crecimiento en la actividad del fermento, en el MO se evaluó pH, producción de ácidos y consumo de azúcares por L90, y se comparó con el comportamiento en el medio comercial MRS. Además, la actividad de L90 se evaluó por otros dos ensayos. En el primero se analizó la actividad lactato dehidrogenasa (LDH) en extractos libres de células obtenidos mediante disrupción celular. En el segundo ensayo, las células crecidas en MO y en MRS fueron inoculadas al 2% en leche e incubadas a 37°C durante 24h; en la leche fermentada (LF) se analizó el perfil de fermentación y el recuento de L90. Todas las experiencias se realizaron por triplicado.

Resultados:

En el MO se alcanzaron elevados niveles de biomasa de L90 ($9,4 \pm 0,1$ log, $1,39 \pm 0,1$ de peso seco y $4,3 \pm 0,2$ de DO), aunque los valores fueron significativamente ($p < 0,05$) menores que los obtenidos en el MRS ($9,8 \pm 0,1$ log, $2,49 \pm 0,1$ de peso seco y $6,8 \pm 0,2$ de DO). La glucosa es el principal carbohidrato en el MRS, la cual fue consumida casi totalmente por L90 durante la incubación, mientras que los azúcares presentes en el MO y que disminuyeron por la presencia de L90 fueron sacarosa/lactosa (que coeluyen en los cromatogramas). La producción de los ácidos láctico y acético en el MO fue menor que en el MRS, aunque el pH fue más bajo, lo que sugiere una menor capacidad buffer en el MO. Los recuentos de L90 en la LF alcanzaron 9 log UFC/mL, independientemente del medio de cultivo empleado. Se observaron diferencias en la producción de ácidos orgánicos en leche según el medio de crecimiento. Los niveles de láctico y acético en la LF inoculada con las células provenientes del MRS (LF-MRS) fueron mayores que en la LF-MO. Contrariamente, en LF-MO se observó mayor concentración de ácido pirúvico que en la LF-MRS. Estos resultados se correlacionaron con menores niveles de LDH en las células crecidas en el MO.

Conclusiones:

El medio de cultivo optimizado resultó adecuado para obtener elevados niveles de biomasa de L90

requeridos para la producción industrial de la misma. El bajo costo de este medio, sumado a que podría reducir la capacidad acidificante del fermento, lo convierten en un medio industrial alternativo de interés

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

DESARROLLO DE UN SISTEMA POINT OF CARE PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS

BERGIER, Julián 1 | MARCHETTA, Nicolas2 | BORIO, Cristina1 | CORTHEY, Alberto2 | GHIRINGHELLI, Pablo Daniel1 | BILEN, Marcos1

LIGBCM - UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES 1; LEBYM - LABORATORIOS DE ESTUDIOS BIOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS 2

Introducción y Objetivos:

Actualmente existe un gran desarrollo de sistemas de detección molecular rápidos y de bajo costo denominados (POC). Una etapa importante en el proceso de detección de ácidos nucleicos es la amplificación de los mismos. Las metodologías más utilizadas están asociadas a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Sin embargo, existen tecnologías de amplificación isotérmicas más eficientes y económicas. En nuestro laboratorio desarrollamos una tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos acoplada a sondas fluorescentes, que le confieren alta especificidad y sensibilidad al sistema. Esta tecnología fue acoplada a un dispositivo POC capaz de leer y almacenar los resultados. El objetivo del presente trabajo fue utilizar esta plataforma para el desarrollo de un sistema POC de diagnóstico molecular de Chlamydia trachomatis y evaluar su desempeño.

Materiales y Métodos:

A partir del análisis bioinformático de genomas de, se diseñaron oligonucleótidos y sondas específicas de los genotipos más representativos de Argentina (D, E, F, G, H, I, J, K). Se analizaron los parámetros de reacción para estudiar la eficiencia del sistema. Luego de obtener las condiciones óptimas, se analizó la sensibilidad y especificidad del sistema utilizando muestras con ADN sintético de Ct. Los resultados fueron analizados utilizando un equipo de real time PCR y electroforesis en gel de agarosa. Por otro lado, las muestras fueron evaluadas en un dispositivo POC, construido, basado en la detección de una reacción colorimétrica acoplada a la amplificación del ADN. Por último se analizaron muestras de pacientes, previamente evaluadas por real time PCR y microscopía.

Resultados:

Se optimizaron todos los componentes de reacción analizando parámetros cinéticos (Ct y amplitud de la señal) en un equipo de real time PCR. Una vez optimizada la reacción, se evaluó la sensibilidad del sistema utilizando una curva patrón de ADN sintético. Se obtuvo una sensibilidad del orden 10-100 moléculas. Para evaluar la especificidad del sistema se utilizó ADN genómico de bacterias relacionadas. Se obtuvo 100 % de especificidad respecto a las muestras ensayadas. Por último, se evaluaron muestras clínicas previamente analizadas mediante real time PCR y microscopía. Se obtuvo 100 % de sensibilidad y 100% de especificidad respecto a la metodología de referencia.

Conclusiones:

Teniendo en cuenta las ventajas que presentan las metodologías de amplificación isotérmica, se desarrolló una nueva metodología que incorpora sondas fluorescentes que confieren mayor sensibilidad y especificidad al sistema. Esta tecnología fue utilizada para el desarrollo de un sistema de diagnóstico molecular para Ct. La validación del sistema demostró parámetros de sensibilidad y especificidad comparables a la metodología de referencia. Los resultados fueron obtenidos en un rango de 30-45 minutos. Actualmente se continúa trabajando en el análisis de un mayor número de muestras, para aumentar la confiabilidad y robustez del sistema.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ESTRÉS AGUDO POR CROMO Y COBRE Y SU RESPUESTA EN MEYEROZYMA GUILLIERMONDII 6N

BERNAL, Anahi Romina | POLITO, Franco Santiago | CRUZ, Elias | FERNANDEZ, Pablo Marcelo | NIETO PEÑALVER, Carlos Gabriel

PROIMI

Introducción y Objetivos:

Los iones de metales pesados ejercen su toxicidad por múltiples mecanismos afectando la síntesis de diversos metabolitos y productos intermedios, generando especies reactivas del oxígeno (EROs) que afectan a componentes celulares e inducen la muerte de la célula. Con la finalidad de entender la repuesta y los mecanismos de defensa contra la toxicidad inducida por estos metales, se estudió la caracterización del estrés oxidativo agudo a la exposición a Cr(VI) y Cu(II) en la levadura endofítica de caña de azúcar *Meyerozyma guilliermondii* 6N.

Materiales y Métodos:

La cepa 6N fue cultivada en medio líquido YM a 25°C con agitación (250 rpm) durante 4 h en ausencia de metal y luego estresadas durante 2 h con Cr(VI) 1 mM y Cu(II) 0,25 mM, solos y combinados. Se obtuvieron mecánicamente los extractos libres de células (ELCs) para cada condición de incubación y su control (sin metal). Se determinaron actividades enzimáticas antioxidantes, capacidad antioxidante total (TCA), EROs y proteínas carboniladas. La viabilidad celular se determinó por conteo de UFC.

Resultados:

El estrés agudo provocado por la presencia de los metales pesados Cr(VI) y Cu(II), no afectó la viabilidad de la cepa 6N lo cual pudo deberse a que el tiempo de generación de esta cepa sea mayor al tiempo analizado. La respuesta antioxidante a la presencia de los estresantes metálicos no modificó las actividades enzimáticas superóxido dismutasa y tioredoxina reductasa. Solo se observó un aumento de la actividad catalasa del 57% (14,16 U mg⁻¹) como parte del sistema de protección a la toxicidad inducida por Cr(VI). Por su parte, la presencia del Cu(II) atenuó la toxicidad del cromo lo que se reflejó en la caída significativa en la actividad catalasa a valores cercanos a los basales. Adicionalmente se cuantificó la capacidad antioxidante total con radical ABTS^{•+} y se expresó como % Inhibición por µg de proteína. El estrés por Cr(VI) se incrementó (45%) hasta alcanzar un valor de 0,41% I µg⁻¹ frente al control 0,29% I µg⁻¹, mientras que las otras condiciones fueron similares al cultivo no estresado. A su vez, se determinó la presencia de EROs por microscopía de fluorescencia mediante el uso de la sonda dihidrorodamina 123 (DHR123), donde el mayor porcentaje de células marcadas se observó en presencia de cromo (0,86%). En las condiciones restantes los porcentajes de células fluorescentes fueron relativamente bajos. A si mismo los resultados de proteínas carboniladas no mostraron una diferencia significativa en todas las condiciones ensayadas con respecto al control.

Conclusiones:

Estos resultados demuestran que el nivel de estrés oxidativo y la defensa antioxidante juegan un papel importante en los microorganismos, además pudo observarse que el Cr(VI) fue el que más efectos tóxicos provoco y el Cu(II) en mezclas de metales ejerce un efecto protector, esto puede ser útil para futuras investigaciones a fin de poder desarrollar tecnologías de biorremediación más eficaces.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

PRODUCCIÓN DE ENZIMA β -GLUCOSIDASA POR LA LEVADURA ANTÁRTICAMRAKIA SP. 7.1.2016, INDUCIDA POR PECTINA

BEZUS, Brenda 1 | RUSCASSO, Maria Florencia1 | GARMENDIA, Gabriela2 | VERO, Silvana2 | CAVELLO,Ivana1 | CAVALITTO, Sebastián1

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CONICET-UNLP) 1; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, DPTO. DE BIOCENCIAS, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR 2

las levaduras adaptadas al frío, ya que sus enzimas son activas a temperaturas medias y bajas. En consecuencia, muchas reacciones industriales (especialmente en la industria alimenticia) pueden darse a temperaturas menores, disminuyendo costos energéticos y contribuyendo además a la preservación de las propiedades organolépticas de los alimentos. Las enzimas β -glucosidasas poseen la capacidad de liberar precursores aromáticos modificando, de esa forma, las propiedades sensoriales de los alimentos, y son especialmente utilizadas en el área de bebidas fermentadas. En este trabajo se planteó como objetivo el estudio de la producción de β -glucosidasas por la levadura antártica psicrófila *Mrakia* sp. 7.1.2016, a escala de fermentador tipo tanque agitado.

Materiales y Métodos:

Se realizaron cinéticas en Erlenmeyers a 14°C utilizando un medio complejo con 10 g/l de glucosa o pectina como fuente de carbono y energía (FCE), 150 rpm. El medio que obtuvo mayor actividad fue escalado a un fermentador de tipo tanque agitado de 3,5 l (Inceltech LH210), a 14°C, 350 rpm, en un cultivo en sistema Batch. Se monitoreó la producción de biomasa, el consumo de O₂, la producción de CO₂ y la actividad enzimática durante el cultivo.

Resultados:

Para determinar que FCE resulta más eficiente para la producción enzimática, se realizaron cultivos con glucosa o pectina. Los máximos de actividad obtenidos fueron 13,0 \pm 1,0 mU/ml a las 87 h y 26,2 \pm 0,1 mU/ml a las 95 h de cultivo con glucosa y pectina, respectivamente. En base a estos resultados se decidió realizar el escalado utilizando el medio con pectina. Durante el cultivo se observó una fase lag de aproximadamente 24 h, y el crecimiento presentó dos etapas bien definidas, produciéndose la actividad β -glucosídica en la segunda etapa. El cultivo duró 89 h, luego de las cuales se pudo obtener un extracto con 24,2 \pm 0,2 mU/ml de enzima. El consumo total de oxígeno y la producción total de CO₂ durante la primera etapa (0-50 h) fueron de 76,36 mmoles y 67,22 mmoles, mientras que en la segunda etapa (50-89 h) fueron de 102,21 mmoles de O₂ y 133,10 de CO₂. La biomasa final obtenida durante la primera etapa fue de 3,13 g/l de biomasa, mientras que luego de la segunda etapa se obtuvieron 4,13 g/l de biomasa, con una producción enzimática de 5,9 mU/g de biomasa. La velocidad específica de crecimiento durante la primera etapa del cultivo fue 0,06 h⁻¹.

Conclusiones:

Este es el primer reporte del estudio de la producción de enzima β -glucosidasa por parte de una levadura antártica perteneciente al género *Mrakia*, y su posterior escalado a fermentador del tipo tanque agitado. Se observó un crecimiento en dos etapas, lo cual podría deberse al consumo de los diferentes sustratos presentes en el medio (extracto de levadura, peptona, pectina). La enzima sería inducible por el sustrato consumido durante la segunda etapa de crecimiento. Se planea estudiar su potencial aplicación industrial en liberación de aromas en vinos.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EFECTO DE MALTOSA Y LACTOSA COMO AGENTES PROTECTORES DE STAPHYLOCOCCUS VITULINUS ACU-10 DURANTE LA LIOFILIZACIÓN Y ALMACENAMIENTO

BOHACEK, Melisa¹ | GALANTE, Nadia Soledad² | HERMAN, Cristian¹ | SANABRIA, Ernesto¹ | CAYRÉ, María Elisa¹ LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL 1; CONICET/ LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL 2

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL 1; CONICET/ LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL 2

Introducción y Objetivos:

Dentro de los métodos de conservación de cultivos microbianos, la liofilización es uno de los más usados ya que permite mantener un alto porcentaje de células viables y preserva las características morfológicas y bioquímicas del cultivo bacteriano. Sin embargo, durante el proceso las células son expuestas a condiciones de stress que pueden conducir a lesiones en la membrana, desnaturalización de proteínas y daños en el ADN. La composición del medio es uno de los factores más importantes en la supervivencia celular durante la liofilización. Ciertas sustancias protectoras, tales como carbohidratos, proteínas y polímeros, pueden ser incorporadas a los medios de congelación para prevenir o reducir los daños. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia de algunos disacáridos como sustancias protectoras sobre la supervivencia de *Staphylococcus vitulinus* ACU-10, microorganismo componente de un cultivo starter autóctono para la producción de salamines.

Materiales y Métodos:

Las células se cosecharon por centrifugación a 4°C a partir de un cultivo activo en caldo BHI y se lavaron dos veces con solución fisiológica. Alícuotas del pellet resuspendido en solución fisiológica se dispensaron en agua destilada (control) y soluciones protectoras de lactosa y maltosa en dos concentraciones (5 y 15% p/v). Las suspensiones se congelaron a -80°C por 4 horas y se liofilizaron a -30°C y 10 Pa por 48 horas. El número de células viables se determinó antes, inmediatamente después de la liofilización y a 4 meses de almacenamiento a 5 y 25°C mediante recuento en placa. La tasa de supervivencia (TS) fue expresada como porcentaje de la población inicial. Los análisis se realizaron por duplicado y se usó análisis de varianza para comparar los resultados.

Resultados:

Después de la liofilización, la TS fue significativamente más alta en presencia de las sustancias protectoras (53,4±2,8%) que en el control (7,0±2,1%), independientemente del disacárido y la concentración utilizada. Después de 4 meses de almacenamiento la TS disminuyó significativamente en todas las muestras. Sin embargo, el grado de disminución mostró una dependencia del tipo de azúcar, su concentración y, principalmente, la temperatura de almacenamiento. Una drástica disminución de la TS se detectó en todas las muestras almacenadas a 25°C alcanzando valores menores al 0,01%. A 5°C se evidenció un mejor efecto protector de la maltosa. A esta temperatura no se detectó efecto significativo de la concentración de maltosa sobre la TS la cual disminuyó hasta el 31,7±1,5%. Mientras que, en presencia de 5% de lactosa la TS (12,5± 2,0%) fue significativamente más baja que la obtenida a una concentración del 15% (TS= 22,7±1,8%).

Conclusiones:

Estos resultados muestran un mejor comportamiento de la maltosa sobre la viabilidad y estabilidad del cultivo conservado por liofilización.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ESTUDIO DE EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS INTRACELULARES DE APIOTRICHUM LOUBIERI M12 EN PRESENCIA DE CU(II)

BONILLA, José Oscar 1 | CALLEGARI, Eduardo Alberto2 | PAEZ, María Daniela2 | GIL, Raúl Andrés1 | VILLEGAS, Liliana Beatriz1

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. 1; DIVISION OF BASIC BIOMEDICAL SCIENCES, SANFORD SCHOOL OF MEDICINE. UNIVERSITY OF SOUTH DAKOTA. 2

Introducción y Objetivos:

Apiotrichum loubieri M12, un microorganismo resistente a Cu(II), fue aislado a partir de sedimentos de un ambiente afectado por Drenaje Ácido de Mina en la provincia de San Luis. En estudios previos, este microorganismo fue capaz de remover alrededor del 35% de Cu(II) cuando creció en medio líquido con 40 µg mL⁻¹ Cu(II) después de 48h de incubación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la expresión diferencial de proteínas intracelulares de *A. loubieri* M12 en presencia y en ausencia de Cu(II), con el fin de entender los mecanismos homeostáticos de resistencia empleados por este microorganismo.

Materiales y Métodos:

A. loubieri M12 se cultivó en medio EG* (g L⁻¹: glucosa 10,0; extracto de levadura 1,0; K₂HPO₄ 0,5; KH₂PO₄ 0,5), suplementado o no con 40 µg mL⁻¹ Cu(II), durante 48h a 30°C y 200rpm. Las células se recuperaron por centrifugaron a 4.000 xg durante 20min a 4°C (Centrífuga U-320R). Los pellets celulares se lavaron dos veces con PBS (mM: NaCl 124; NaH₂PO₄ 10; KH₂PO₄ 3) y se conservaron durante 24h a -20°C. Luego, se procedió a la ruptura mecánica de los mismos en mortero, utilizando N₂ líquido. El polvo obtenido se recuperó con 5mL de Buffer Tris-Sacarosa y se centrifugó a 8.500 xgdurante 20min a 4°C para eliminar los restos celulares. Los sobrenadantes se utilizaron como fuente de proteínas citosólicas y se conservaron a -20°C. La concentración de proteínas se determinó con el método de Bradford y se liofilizó un volumen correspondiente a 300 µg de proteínas. Las muestras fueron reconstituidas en Buffer Tris-HCl 50mM (pH=8) a 1 µg µL⁻¹. Las proteínas fueron reducidas y alquiladas usando DTT y Iodoacetamida, respectivamente, y digeridas con Tripsina (Promega). El análisis se llevó a cabo a través de nanoUHPLC-ESI-MS/MS y herramientas bioinformáticas, utilizando bases de datos de Swiss-Prot y MASCOT v2.5.1. El estudio comparativo se llevó a cabo por medio de ProteoIQ v2.8. Se trabajó con triplicados biológicos y duplicados analíticos de cada uno de ellos.

Resultados:

Las proteínas que fueron inducidas o sobre-expresadas en presencia de Cu(II) corresponden a proteínas relacionadas a: i) biosíntesis de proteínas, como proteínas ribosomales, factores de iniciación y elongación de la traducción, proteínas de splicing de ARNm y proteínas de plegamiento; ii) degradación de proteínas defectuosas, como proteasas, y proteínas de proteosoma y ubiquitinación; iii) procesos de óxidoreducción; iv) proteínas de unión a ácidos nucleicos; v) proteínas de estrés, como proteínas de choque térmico, y vi) quinasas/fosfatasa que pueden ser claves en la activación o inactivación de vías de señalización intracelulares.

Conclusiones:

Estos resultados indican que la presencia del metal en el medio de cultivo afecta la expresión de proteínas celulares y fundamentalmente estimula la producción de proteínas que le permiten al microorganismo hacer frente al estrés causado por este compuesto tóxico.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

APROXIMACIÓN PROTEÓMICA PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO DE LOS POLIHIDROXIALCANOATOS EN DISTINTAS CONDICIONES DE CULTIVO EN PSEUDOMONAS EXTREMAUSTRALIS: EFECTO DE LA RELACIÓN C/N Y LA AIREACIÓN.

BRITO, María Gabriela | LÓPEZ, Nancy Irene

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQIBICEN CONICET

Introducción y Objetivos:

Los polihidroxicanoatos (PHA) son polímeros de reserva de interés como plásticos biodegradables. Según el monómero que los compone se clasifican en PHA de cadena corta (PHAcc: C3-C5) y de cadena media (PHAcm: C6-C16). *Pseudomonas extremaustralis* puede sintetizar PHAcc, particularmente polihidroxibutirato (PHB), y PHAcm. El objetivo del trabajo consistió en el análisis del efecto de la relación C/N y de distintas condiciones de aireación en el metabolismo de los PHA en *P. extremaustralis* mediante un enfoque proteómico.

Materiales y Métodos:

Los cultivos se realizaron en medio LB y 0.5NE2, que favorece la acumulación de PHA, suplementados con octanoato de sodio (O) con relaciones C/N de 3,7 (LB), 4,5 (LBO) y 8,5 (NEO), en distintas fases de crecimiento (exponencial vs. estacionaria) y condiciones de aireación (aerobiosis vs. microaerobiosis). Las células se cosecharon y se sonicaron. Los extractos proteicos se sembraron en geles de poliacrilamida y las proteínas totales se analizaron en un nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masa EASY-nLC 1000 en el CEQUIBIEM (FCEN-UBA). Las proteínas con expresión diferencial se determinaron utilizando el programa Perseus y otras herramientas informáticas. Se compararon los perfiles proteicos en varias condiciones: 1. LBO vs. NEO, fase estacionaria, aerobiosis; 2. NEO, fase exponencial vs estacionaria, aerobiosis; 3. NEO, fase estacionaria, aerobiosis vs. microaerobiosis y 4. LBO vs LB, fase estacionaria, aerobiosis. La producción de PHA se cuantificó por cromatografía gaseosa previa metanólisis.

Resultados:

Se identificaron entre 1.100 y 1.350 proteínas. El análisis de la expresión diferencial entre condiciones permitió detectar cambios en proteínas involucradas en el metabolismo de los PHA y otras vías relacionadas. Se identificaron alrededor de 200 proteínas con expresión diferencial (sobre-expresadas + reprimidas) en todas las condiciones. En la condición 1 entre las significativamente sobre-expresadas en LBO, se destacan la sintasa de PHB (PhbC), la acetil-CoA acetiltransferasa y la 3-cetoacil-ACP reductasa mientras que las proteínas asociadas a la síntesis de los PHAcm se encontraron reprimidas en LBO. En la condición 2, en fase exponencial no se detectaron proteínas relacionadas con la síntesis de PHA. En la condición 3 en aerobiosis se encontraron diferencialmente sobre-expresadas PhbX, PhaP, PhaF relacionadas con la síntesis de PHAcc, además de una enoil acil-reductasa. En la condición 4 se encontraron sobre-expresadas en LBO a PhbX, PhbC, Pta, como también la 3-cetoacil-CoA tiolasa y la PhaP.

Conclusiones:

El aumento en la relación C/N incrementó la expresión de las proteínas involucradas en la producción de PHAcm. Los niveles de expresión fueron mayores en fase de crecimiento estacionario y aerobiosis para ambos tipos de polímeros. Se observaron pocas proteínas relacionadas con la producción de PHA en microaerobiosis respecto de aerobiosis.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES EMITIDOS POR CEPAS DE BACILLUS SPP. SOBRE ESCHERICHIA COLI

BROUARD URIBURU, Maria Del Rosario 1 | ASENSIO, Claudia Mariana² | AYOUB, Ibrahim¹ | LUCINI, Enrique Iván¹ | MERLO, Carolina²

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA 1; INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE BIOLOGÍA VEGETAL (IMBIV-CONICET)

Introducción y Objetivos:

Escherichia coli es una bacteria patógena causante de numerosas enfermedades, incluso de la muerte en humanos, que puede estar presente en numerosos alimentos. Por tal motivo, encontrar métodos para lograr la inocuidad alimentaria resulta de importancia. La biopreservación es un método que utiliza cultivos microbianos y sus productos para la conservación de los alimentos. Los compuestos orgánicos volátiles (COV) bacterianos han adquirido relevancia en este último tiempo gracias a su gran bioactividad. Sin embargo, su efecto sobre las bacterias está poco investigado por lo que su uso como agentes antibacterianos resulta novedoso. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de los COV producidos por cepas aisladas del género *Bacillus* spp. sobre *E. coli* ATCC 25922.

Materiales y Métodos:

A partir de muestras de suelo agrícola provenientes del cultivo de soja y de maní, se aislaron 15 y 18 cepas de bacterias del género *Bacillus* spp., respectivamente. Para evaluar la actividad antibacteriana de los COV producidos por las cepas aisladas, se utilizaron placas divididas en dos hemisferios por un septo para evitar el contacto directo entre las cepas. Se sembraron en un hemisferio con agar nutritivo, previa incubación en caldo nutritivo a 30 °C durante 24 h, 10 µl de las cepas aisladas en 6 puntos y se incubaron durante 48 h a 30°C. Posteriormente se sembró, previa incubación por 24 h en caldo nutritivo a 30°C, 5 µl de la cepa de *E. coli* ATCC 25922 en el otro hemisferio con agar nutritivo. Se sembraron además placas control con agua destilada estéril. Las placas fueron selladas con parafilm y se dejaron incubar por 8 días consecutivos (192 h). Se midió el diámetro de la colonia, se calculó el área y el porcentaje de inhibición. La cepa que produjo mayor inhibición del crecimiento de *E. coli*, fue utilizada para realizar el conteo de UFC/mL de *E. coli* removiendo la colonia de la placa diariamente durante 7 días.

Resultados:

Diez de las cepas aisladas presentaron actividad antibacteriana significativa sobre el crecimiento de *E. coli* respecto del control. La cepa M1a fue la que presentó el mayor porcentaje de inhibición, la cual alcanzó un 23% a las 24 h y un 51% a las 192 h. Además, los COV producidos por esta cepa redujeron significativamente el número de *E. coli* con respecto al control (24 h: 8,39 log UFC/mL para el tratamiento y 10,07 log UFC/mL para el control; 168 h: 15,47 log UFC/mL para el tratamiento y 17,95 log UFC/mL para el control).

Conclusiones:

Los COV emitidos por las cepas aisladas del género *Bacillus* spp. inhibieron el crecimiento y la abundancia de *E. coli*, por lo que estos compuestos presentan una alternativa promisorio para la biopreservación de alimentos.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

PLATAFORMAS PORTADORAS DE BLAVIM-2 EN DIFERENTES ESPECIES DE PSEUDOMONAS GRUPO PUTIDA: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVENTOS INVOLUCRADOS EN SU DISEMINACIÓN

BROVEDAN, Marco 1 | MARCHIARO, Patricia¹ | FACCONI, Diego² | CORSO, Alejandra² | PASTERAN, Fernando² | VIALE, Alejandro¹ | LIMANSKY, Adriana¹

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR) 1; INEI-ANLIS "DR. CARLOS G. MALBRÁN" 2

Introducción y Objetivos:

La producción de β -lactamasas constituye el principal mecanismo de resistencia a carbapenemes en bacilos Gram-negativos, siendo las metalo- β -lactamasas (M β LS) adquiridas las de mayor relevancia clínica. En particular, VIM-2 es una de las M β LS prevalentes en el mundo, detectada esencialmente en el patógeno oportunista *Pseudomonas aeruginosa* (Pae), y en menor medida en especies ambientales/oportunistas de *Pseudomonas* grupo putida (*P. g putida*). El objetivo es caracterizar las plataformas involucradas en el ensamble y diseminación de elementos genéticos móviles (EGM) portadores de blaVIM-2 en especies de *Pseudomonas* spp así como evidenciar el rol de *Pseudomonas* spp. como "fábrica" ambiental de EGM de implicancia clínica, y de nexos entre especies ambientales y patógenos oportunistas.

Materiales y Métodos:

Se incluyeron aislamientos clínicos de *P. g putida* (n: 13) y de Pae (n: 1) productores de VIM-2 provenientes de pacientes de hospitales de Rosario o Buenos Aires. La identificación se basó en el análisis filogenético de secuencias concatenadas del ARNr 16S, gyrB y rpoD, e incluyó 19 cepas de referencia. La identidad de aislamientos de la misma especie fue establecida mediante OD-PCR. El gen blaVIM-2 y su entorno genético fueron identificados por PCR/secuenciación; y la localización del gen mediante ensayos de transferencia de ADN, así como digestión de ADN genómico con S1 o XbaI seguido de electroforesis en campo pulsado/Southern blot utilizando blaVIM-2 como sonda.

Resultados:

El análisis filogenético identificó 7 especies de *P. g putida*, incluyendo *P. asiática* (n: 4); *P. putida* (n: 2); *P. monteillii* (n: 2); *P. g putida/II* (n: 2); *P. g putida/I* (n: 1); *P. g putida/V* (n: 1); y una nueva especie asignada aquí como *P. g putida/VII* (n: 1). OD-PCR reveló clones diferentes para *P. putida*, *P. monteillii* y *P. g putida/II*. Por su parte, los 4 aislamientos de *P. asiática* constituyen 2 clones, PaA (n: 3) y PaB (n: 1). El entorno de blaVIM-2 en 13/14 aislamientos totales reveló que se encuentra en integrones/transposones (In/T) tipo-Tn402 con la maquinaria de transposición completa, denominados Tn6335 y Tn6336 (en 11/13 y 2/13 aislamientos, respectivamente), mientras que el aislamiento restante exhibe un In/T incompleto. El análisis de localización de las plataformas permitió identificar plásmidos conjugativos tipo-pLD209 portadores de blaVIM-2 en 6 cepas de *P. g putida*, denominados así por su similitud con pLD209 1; y un plásmido de elevado peso molecular en Pae. Los restantes aislamientos (n: 7) evidenciaron portación cromosomal de blaVIM-2.

Conclusiones:

Los resultados en conjunto muestran la capacidad de diferentes especies de *P. g putida* para intercambiar plásmidos y entre éstas con Pae; así como la funcionalidad del Tn6335 y Tn6336, detectados en plásmido como en cromosoma. Este análisis revela la prevalencia de dichos In/T y de plásmidos tipo-pLD209 en especies de *P. g putida* de nuestro país, y confirma la diseminación de blaVIM-2 ligada no sólo a cepas epidémicas, sino a la transferencia de EGM prevalentes. 1-Marchiaro et al., 2014. AAC 58:1816-1821.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE TOXINA SHIGA 2 MEDIADA POR CÉLULAS MIELOIDES INFECTADAS POR CEPAS DE ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICAS (EHEC)

BRUBALLA, Andrea 1 | SHIROMIZU, Carolina Maiumi1 | SABBIONE, Florencia1 | PINEDA, Gonzalo1 | BERNAL, Alan Mauro1 | BOUVIER, León2 | FERNÁNDEZ-BRANDO, Romina1 | RAMOS, Maria1 | TREVANI, Analía1 | MUÑOZ, Manuel3 | PALERMO, Marina1

INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA 1; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS - INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CHASCOMÚS (IIB-INTECH) 2; INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y NEUROCIENCIAS (IFIBYNE-UBA-CONICET) 3

Introducción y Objetivos:

Las cepas enterohemorrágicas de *Escherichia coli* (EHEC), son patógenos transmitidos por los alimentos capaces de colonizar el intestino de los humanos y causar síndrome urémico hemolítico (SUH). La toxina Shiga (Stx) es el factor de las EHEC, y es codificado por un bacteriófago lisogénico incorporado al DNA bacteriano. Se compone de una subunidad A enzimáticamente activa (sub A) y una subunidad B pentamérica. La cepa O157:H7 (O157), que expresa la variante 2 de la Stx (Stx2), es una de las cepas más asociadas a esta enfermedad. Habiendo detectado la presencia de putativos promotores eucariotas en el gen de Stx2 y sabiendo que, estas bacterias se asocian a las placas de Peyer del intestino, nuestro objetivo fue estudiar la interacción de la cepa O157 con macrófagos para evaluar si es posible, en el contexto de la infección, la expresión de la toxina mediada por estas células eucariotas.

Materiales y Métodos:

Con este fin, la línea celular macrofágica humana, THP-1, fue infectada utilizando distintas cepas, a saber: i) cepa O157 aislada de paciente, ii) la misma cepa pero sin expresión de toxina (stx2⁻), iii) con la cepa no patógena C600 y iv) con una C600 lisogenizada con el bacteriófago 933W (933W), productor de Stx2. Se evaluó la viabilidad celular mediante ensayos de MTT y la internalización de las bacterias mediante recuento de UFC. En los sobrenadantes (SN), se determinó la presencia de Stx2 mediante ensayo de citotoxicidad en células VERO y de IL-1b por ELISA. A su vez, se evaluó la presencia de transcripto de sub A mediante qPCR con primers específicos utilizando como molde, en paralelo, cDNAs sintetizados con oligo-dT (OdT), random primers (RAN) ó en ausencia de primer como control (C).

Resultados:

Se observó una disminución significativa de la viabilidad celular a partir de las 24h sólo en los macrófagos infectados con las bacterias capaces de expresar Stx2 (O157: 52%*, stx2⁻: 125%, C600: 132%, 933W: 61%*; *p<0.05, ANOVA). El recuento de bacteria internalizada, a las 2h, no mostró diferencias significativas entre cepas. Mientras que la producción de IL-1b por los macrófagos infectados con O157 se observa hasta las 24h, en los infectados por stx2⁻ continúa hasta las 48h (O157: 480±191* / 171±139 pg/mL; stx2⁻: 601* / 768±272* pg/mL; 24h y 48h respectivamente; *p<0.05, ANOVA). La mayor concentración de Stx2 se observó a las 24h (106±78* pg/mL; *p<0.0001, ANOVA) y se detectó transcripto de sub A 24h post-infección (Fold change, OdT: 1.97±0.14, RAN: 2.31±0.59* y C: 1±0.03; *p<0.05, ANOVA), pero no a las 48h.

Conclusiones:

Podemos concluir que la fagocitosis de bacterias productoras de Stx2 induce muerte macrofágica. Se pudo detectar la máxima concentración de Stx2 a las 24h, y transcripto de la subunidad enzimática hasta las 24h, tanto con RAN como con OdT. Paralelamente, se induce la producción de IL-1b independientemente de Stx2. De esta forma, la producción en simultáneo de Stx2 y de IL-1b por los macrófagos podría contribuir a la patogenicidad.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE EFLUENTES CON COBRE MEDIADOS POR PSEUDOMONAS VERONII 2E INMOVILIZADA EN MATRIZ INERTE

BUSNELLI, Maria Pia | VULLO, Diana Lía

ÁREA QUÍMICA - INSTITUTO DE CIENCIAS - UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SARMIENTO

Introducción y Objetivos:

La creciente necesidad de proporcionar a un metal deseado características que, por naturaleza no contiene, tales como resistencia a la oxidación, conductividad, resistencia térmica y mecánica, dureza, brillo, etc, ha dado lugar a un gran incremento en las actividades de las industrias galvanoplásticas. Las mismas generan enormes cantidades de efluentes que, al contener metales de relevancia ambiental como Cadmio, Cobre, Cromo, Estaño, Níquel, Zinc, entre otros, producen severos daños en el ecosistema si no se los elimina del efluente, antes de su descarga en cuerpos de agua. Aunque los métodos químicos son más deseados que los biológicos para disminuir la concentración de los mismos, presentan la desventaja de que los costos de operación son muy elevados. El escenario ante concentraciones bajas de metal en los efluentes, menor a 100 mg/L, en donde no es rentable aplicar métodos químicos se prefieren los biológicos por su efectividad y bajo costo para cumplir con las normativas vigentes de descargas. Por la problemática antes planteada, el objetivo de este trabajo se basó en la recuperación de Cu(II) de un efluente modelo, mediante células enteras de *Pseudomonas veronii* 2E inmovilizada en esponja vegetal en un sistema batch con recirculación.

Materiales y Métodos:

En una primera etapa, se inmovilizó las células en el soporte, en medio mínimo M9 suplementado con Glicerol (2 % v/v) 20mL) a 32 °C, con baja agitación, en un biorreactor batch durante 16 días, renovando el medio de cultivo cada 2-3 días en condiciones de asepsia. Una vez que finalizó el tiempo de inmovilización, se lavó el sistema con agua ultra pura y se secó en estufa a 37 °C durante 48 h. Se determinó la cantidad de biomasa adherida (BI) por diferencia de pesada. En una segunda etapa, se enfrentó la BI con 200 mL de un efluente modelo con 1mM Cu(II), en un reactor batch cerrado con recirculación a 32°C durante 9 días. Se cuantificó el metal remanente en el sobrenadante utilizando el método del ácido bicineónico.

Resultados:

Los resultados indicaron que 1 g de BI /g de esponja vegetal adsorbieron un 78.27 % del Cu(II) inicial. Por último en una tercera etapa, se vació el reactor y luego se recirculó 80 mL de una solución de HCl 75 mM como desorbente del metal, en donde se obtuvo una desorción del 100 % del metal a los 90 minutos. Por último en una tercera etapa, se vació el reactor y luego se recirculó 80 mL de una solución de HCl 75 mM como desorbente del metal, en donde se obtuvo una desorción del 100 % del metal a los 90 minutos.

Conclusiones:

Basados en los resultados obtenidos se puede concluir que *Pseudomonas veronii* 2E inmovilizada en esponja vegetal resulta un sistema eficiente en esta escala de trabajo por la capacidad de adsorber y desorber el metal, concentrándolo en volúmenes más pequeños para su posible recuperación posterior. Sumado a las ventajas que representa la inmovilización de bacterias, el no depender de un sistema metabólico activo y su fácil manipulación, el sistema resulta un candidato ideal para un biotratamiento por sus bajos costos de operación.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

DETERMINACIÓN DE VARIABLES RELEVANTES PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS PECTINOLÍTICAS, MEDIANTE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE ORUJOS DE UVA TINTA Y ACEITUNA DE LA REGIÓN DE CUYO

BUSTOS, Luciana B | DURAN, Ludmila B | JIMENEZ PRIOR, Fátima | VALLEJO, Martha D | RODRIGUEZ, Laura | MARTÍN, María Lucía

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ

Introducción y Objetivos:

Las industrias elaboradoras de vino y aceite de oliva en la Región de Cuyo, generan grandes volúmenes de residuos sólidos estacionales, como orujos de uva, escobajo, alperujo y orujo de aceituna (OA). Su vertido en suelos y cursos de agua está prohibido y la legislación vigente indica tratarlo antes de su disposición final. Las Fermentaciones en Estado Sólido (FES) son aptas para decontaminar dichos residuos y valorizarlos obteniendo bioproductos, como enzimas pectinolíticas. La FES ofrece ventajas económicas y prácticas frente al cultivo sumergido, como la simplicidad del equipamiento, mayor concentración de producto, menor inversión de capital y bajos costos de operación en planta. En este tipo de fermentaciones, los aspectos ambientales y biológicos que influyen son numerosos. La identificación y control de los factores más importantes en una FES, es un requisito para lograr un determinado objetivo de producción. Una alternativa que permite definir la relevancia de un conjunto de factores (parámetros o variables) es el Diseño de Plackett-Burman (DPB). El objetivo de este trabajo fue encontrar las variables relevantes para la producción de un complejo enzimático, a través de FES con orujo de uva tinta (OUT) y OA por acción de *A. niger*, aplicando el DPB.

Materiales y Métodos:

Se evaluaron diez variables en dos niveles, uno alto (+) y uno bajo (-). Las variables estudiadas fueron: tiempo de cultivo, fuente de N inorgánico (NI), fuente de N natural orgánico (NO), fuente de Fe natural, fuente de C (C), agregado de sustancia péctica, contenido inicial de agua del sustrato (H), extracción enzimática con buffer (EB), agregado de solución de micronutrientes (Na, P, Cl, K, Mg, Fe) y agitación (A). Se realizaron doce experiencias en cajas de Petri, por triplicado, combinando estas variables. Las respuestas consideradas fueron las actividades Exo-poligacturonasa (Exo-PG), Endo-poligacturonasa (Endo-PG) y Exo- polimetilgacturonasa (Exo-PMG), determinadas en los extractos acuosos de las FES. Las actividades Exo- PG y Exo-PMG se determinaron a 45 °C por métodos espectrofotométricos y Endo-PG, por seguimiento de viscosidad con viscosímetro de Ostwald.

Resultados:

Las variables significativas (nivel de confianza 99%) fueron, para Endo-PG: H, con efecto positivo, cuando se incrementó su valor; NO, C y A con efectos negativos cuando se incrementaron; para Exo-PG: incremento de H y EB, con efecto positivo (nivel de confianza 90%); y para Exo-PMG: incremento en C, con efecto positivo y NI, con efecto negativo, con nivel de confianza 75%.

Conclusiones:

Se concluye que las variables estudiadas mostraron diferentes efectos para cada una de las actividades enzimáticas. Para futuros estudios de optimización de la producción del complejo enzimático, es posible que se obtengan los caminos óptimos de las variables relevantes.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

INHIBICIÓN DE METARHIZIUM SP. SOBRE HONGOS DEL COMPLEJORESPONSABLE DEL DECAIMIENTO DE LA VID (CRD).

CABALLERO, Juan José 1 | DEYMIÉ TERZI, María Celina² | ROSA, Melisa³ | OLIVIERI, Gabriela⁴ | TORRENTE, Karina Andrea⁵ | AGUILERA, Juan²

IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ 1; IBT-FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ/CONICET 2; INSTITUTO DECIENCIAS BÁSICAS 3; SENASA 4; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ 5

Introducción y Objetivos:

Las enfermedades fúngicas de la madera de vid causan grandes pérdidas en la vitivinicultura. Estas micosis pueden afectar la productividad del cultivo, disminuir la calidad de los frutos e impactar negativamente sobre la economía de los productores. Bajo el término “decaimiento de la Vid” se agrupan varias enfermedades conocidas como eutipiosis, yesca, enfermedad de petri, brazo muerto y hoja demalvón. Tradicionalmente, el control de este tipo de enfermedades se ha abordado básicamente mediante prácticas culturales y tratamientos fungicidas. Sin embargo hasta el día de hoy ningún método de control ha sido totalmente efectivo para eliminar el problema por lo que se recurre frecuentemente a medidas preventivas. Una estrategia que se encuentra en auge y ha demostrado ser altamente eficaz en el control de poblaciones elevadas de insectos, corresponde al uso de hongos antagonistas biocontroladores (HAB). Además de estos efectos se ha comprobado que muchos HAB pueden desempeñar diversas funciones en la naturaleza entre las cuales cabe destacar su acción como antagonistas de fitopatógenos, biocontroladores de insectos plaga, y promotores de crecimiento vegetal, entre otras. Es por esto que podrían constituir una herramienta importante para realizar un manejo integrado de organismos perjudiciales de un cultivo. El objetivo de este trabajo fue evaluar tres cepas de *Metarhizium* sp. como antagonistas de cuatro hongos integrantes del CRD.

Materiales y Métodos:

Los ensayos de antagonismo se llevaron a cabo con tres cepas (CEP413, CEP589, y CEP591) nativas de San Juan. La capacidad antagonista de las cepas de HAB se probó frente a 4 especies de hongos fitopatógenos empleados en los ensayos de antagonismo fueron *Arambarria destruens*, *Lasioidiplodia theobromae*, *Lasioidiplodia crassispora* y *Eutypella microtheca* los cuales fueron obtenidos de muestras de troncos de vides con síntomas de estas enfermedades. Se trabajó en cajas de Petri con medio PDA (Papa, Dextrosa, Agar) sembrando uno de los fitopatógenos en el centro y cada cepa de ETP en la periferia. Esto se realizó con cada una de las especies fitopatógenas, y cada una de las cepas de HAB con tres repeticiones en cada caso. Además se realizaron tratamientos control sembrando los fitopatógenos y los HAB individualmente en cajas separadas. Todos los tratamientos fueron mantenidos en cámara de cultivo a 30 °C. A partir de las 48 horas se midió el crecimiento radial durante 10 días en cada uno de los tratamientos y controles. Con estos datos se calculó el porcentaje de inhibición.

Resultados:

En función del ensayo de antagonismo, la inhibición del crecimiento de los 4 fitopatógenos fue dependiente de su combinación con la cepa biocontroladora. En este sentido, CEP413 presentó mayor capacidad inhibitoria respecto de los demás biocontroladores, especialmente frente a *E. microtheca* (65%) y *A. destruens* (62,5%).

Conclusiones:

La cepa CEP413 presentó actividad inhibitoria contra dos de los integrantes del CRD *E. microtheca* y *A. destruens* por lo que podría ser propuesto como un potencial antagonista de los mismos en un manejo integrado.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

NIVELES DE EXPRESIÓN DEL GEN EFECTOR nleB EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI VEROTOXIGÉNICO DE DISTINTO ORIGEN Y SEROTIPO

CADONA, Jimena¹ | BURGÁN, Julia² | BUSTAMANTE, Ana³ | SANSO, Andrea Mariel⁴

LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL 1; LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL 2; LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL 3; LAB. DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, FAC. DE CS. VETERINARIAS, UNCPBA, TANDIL 4

Introducción y Objetivos:

Escherichia coli verotoxigénico (VTEC) es un patógeno transmitido por alimentos que coloniza el tracto intestinal de los seres humanos, pudiendo causar síndrome urémico hemolítico (SUH). El diagnóstico de la infección por VTEC se ve obstaculizado por la incapacidad de distinguir entre las cepas que tienen el potencial de causar SUH de aquellas que no. La patogenicidad de las cepas VTEC eae-positivas depende, en gran parte, de la isla de patogenicidad (PAI) LEE, la cual codifica el sistema de secreción de tipo III (SSTIII). Particularmente, nleB es uno de los principales genes efectores del SSTIII, ubicado en otra PAI, OI-122, y propuesto como marcador de virulencia. Teniendo en cuenta el rol que podrían tener estos efectores en la patogenicidad de VTEC, el objetivo de este estudio fue evaluar y comparar los niveles de expresión basal del gen nleB, en aislamientos VTEC de distinto origen y serotipo.

Materiales y Métodos:

Se analizaron 24 cepas VTEC pertenecientes a 10 serotipos (O157:H7 y no-O157) aisladas de diferentes orígenes, seres humanos, bovinos y alimentos. Las cepas se cultivaron en medio DMEM a 37 °C, con CO₂ al 5 % hasta una DO₆₀₀ de 0,6. Luego se realizó la extracción del ARN y se retrotranscribió a ADNc. Los niveles de expresión de nleB se obtuvieron mediante reacciones de cuantificación relativa por qPCR, utilizando SYBR Green. Los valores de fold change se calcularon en base al método $\Delta\Delta$ CT, usando el gen housekeeping tufA como control endógeno, y una cepa VTEC O157:H7 aislada de un niño con SUH como referencia. Las diferencias de expresión entre grupos (origen y serotipo) se compararon mediante análisis de varianza (ANOVA, p-valor $\leq 0,05$).

Resultados:

Los resultados mostraron diferentes niveles de expresión entre las cepas estudiadas. La mayoría de los aislamientos presentó niveles de expresión detectables, con excepción de una cepa O128:NM, de origen humano, la cual resultó negativa. Por otro lado, 4 aislamientos de origen humano y bovino (O145:NM, O146:H21 y O157:H7) presentaron niveles de expresión superiores a la cepa control. Contrariamente, dos cepas de origen humano (O121:H19 y O145:NM), y una cepa de alimento (O157:H7), presentaron valores considerablemente inferiores a la cepa control. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de expresión asociadas al origen (bovino y humano) ni al serotipo de los aislamientos, pero sí dentro del grupo de cepas aisladas de casos clínicos. Entre ellas, la expresión de nleB resultó significativamente superior en las cepas provenientes de casos de SUH.

Conclusiones:

En conclusión, los niveles de expresión basal del gen nleB en las cepas VTEC estudiadas no presentaron diferencias asociadas al origen o serotipo. Sin embargo, dentro del grupo de aislamientos de origen humano, los niveles de expresión sí fueron diferentes entre cepas SUH y no-SUH, hallazgo que podría resultar importante para identificar cepas VTEC causantes de enfermedad grave.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ESTIRENO EN ESCHERICHIA COLI CON PHAP

CAGNOLA, Gonzalo Nicolás | EGOBURO, Diego Ezequiel | MEZZINA, Mariela Paula | PETTINARI, Julia

IQUIBICEN

Introducción y Objetivos:

El estireno, utilizado en la producción de numerosos polímeros, es actualmente obtenido por síntesis química a partir de recursos no renovables. Este compuesto puede obtenerse en microorganismos utilizando sustratos renovables a partir de una vía metabólica de novo basada en la conversión de fenilalanina. Esta vía implica la desaminación de la fenilalanina a trans-cinamato, catalizada por la enzima pal y luego una descarboxilación catalizada por la enzima fdc. Este sistema de producción se ve limitado por la alta toxicidad del estireno para los microorganismos. Para reducirla se han utilizado estrategias como el uso de cultivos bifásicos y el uso de chaperonas. Si las bacterias crecen en presencia de un solvente orgánico biocompatible, el estireno se extrae in situ, reduciendo el contacto del compuesto con las células. El uso de chaperonas mejoran la tolerancia a compuestos tóxicos como los solventes orgánicos. Recientemente se descubrió que las phasinas o PhaP, proteínas asociadas a polímeros biodegradables bacterianos (polihidroxicanoatos o PHA), poseen actividad chaperona e incrementan la tolerancia y la producción de etanol, butanol y 1, 3-propanodiol. El objetivo principal es obtener una cepa de E. coli productora de estireno y estudiar el efecto de distintas modalidades de cultivo y la sobreexpresión de phaP en la producción del compuesto.

Materiales y Métodos:

Para la obtención de las cepas productoras E. coli BL21 fue transformada con 3 plásmidos, conteniendo los genes pal, fdc y phaP, provenientes de Rhodosporidium toruloides, Saccharomyces cerevisiae y Azotobacter sp. FA8 respectivamente. En el caso de phaP el plásmido vacío se utilizó como control. Se realizaron cultivos aeróbicos en frasco agitado monofásicos (5 ml de medio M9 suplementado con glucosa y fenilalanina) o bifásicos (5 ml de medio + 1 ml de dodecano). Luego de inducir todas las proteínas, se dejó crecer 48 hs. Para determinar la concentración de estireno se agregó n-hexano hasta llegar a un volumen final de 2 mL de fase orgánica, en la cual se determinó la concentración por Cromatografía Gaseosa. Se realizó un ANOVA con un nivel de significancia de 0,05 y se utilizó una comparación de Tukey.

Resultados:

Las cepas de menor producción fueron las crecidas en cultivos monofásico, indistintamente de la presencia de PhaP en el crecimiento de las bacterias. La cepa productora sin PhaP en cultivo bifásico produjo el doble de estireno que las producciones en monofase y por último, el cultivo bifásico que expresa PhaP produjo casi 3 veces más estireno que la cepa previamente mencionada y 7 veces más que en cultivo monofásico, llegando a producir hasta 159 mg/L.

Conclusiones:

La combinación de estrategias utilizadas permitió obtener una muy buena producción de estireno a partir de una cepa recombinante de E. coli. En base a estos resultados prometedores se realizarán cultivos en biorreactores, donde se espera que el efecto de PhaP sea mayor. 462



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

VOCS PRODUCIDOS POR BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS GB03 CONTRARESTAN LOS EFECTOS DEL ESTRÉS SALINO EN MENTHA PIPERITA PRINCIPALMENTE A TRAVÉS DE LA EMISIÓN DE ACETOÍNA

CAPPELLARI, Lorena | CHIAPPERO, Julieta | PALERMO, Tamara | BANCHIO, Erika

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN

Introducción y Objetivos:

M. piperita es una planta aromática cultivada para su uso por las industrias cosmética, alimenticia y farmacéutica. La salinidad, la acumulación de sales en la superficie del suelo o cerca de ella, es una de las principales causas que limita la producción de los cultivos, lo cual resulta un problema de interés agronómico. Las PGPB (del inglés Plant Growth Promoting Bacteria) son bacterias benéficas del suelo que juegan un rol significativo en promover el crecimiento vegetal. Estos microorganismos pueden producir su efecto a través de la emisión de VOCs (del inglés Volatile Organic Compounds). El objetivo de este trabajo fue evaluar si los VOCs producidos por B. amyloliquefaciens GB03 y el principal compuesto emitido, acetoína, contrarrestan el efecto del estrés salino en M. piperita.

Materiales y Métodos:

Estacas uninodales de M. piperita fueron crecidas in vitro en frascos conteniendo medio Murashige and Skoog suplementado con 0, 75 ó 100 mM de ClNa y expuestas a los VOCs de B. amyloliquefaciens GB03. El microorganismo fue inoculado en un vial conteniendo medio Hoagland suplementado con sacarosa al 3% y la concentración de ClNa correspondiente. El vial fue depositado en el interior del frasco. Después de 30 días se evaluaron diferentes parámetros de crecimiento vegetal y el contenido de clorofila. El nivel endógeno de las fitohormonas JA, SA y ABA fue determinado por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa (LC-MS/MS). Los VOCs emitidos por el microorganismo, bajo las diferentes condiciones de crecimiento, fueron analizados por cromatografía gaseosa (GC), empleando fibras SPME. En los ensayos con acetoína en el vial en lugar del microorganismo se inoculó 3-hydroxy-2-butanone (acetoína).

Resultados:

La exposición a ClNa produjo una importante disminución del crecimiento vegetal. Sin embargo, las plantas crecidas bajo estrés salino y expuestas a los VOCs de GB03 presentaron mejores características morfológicas y un contenido superior de clorofila, en comparación a los controles correspondientes. Los niveles endógenos de SA y ABA fueron significativamente superiores en plantas crecidas bajo estrés salino; sin embargo los correspondientes a ABA decrecieron en forma considerable en plantas expuestas a los VOCs de GB03. El análisis cromatográfico de los VOCs reveló que el % relativo de acetoína fue significativamente mayor cuando el microorganismo creció bajo condiciones de estrés salino. La exposición a acetoína tuvo los mismos efectos que los VOCs emitidos por GB03 sobre el crecimiento vegetal. El peso fresco de plantas crecidas en presencia ClNa 75 mM y expuestas a VOCs de GB03 o a acetoína fue un 50 % superior que el de los controles correspondientes.

Conclusiones:

Los resultados del presente estudio sugieren que los VOCs de GB03 contrarrestan el efecto negativo de la sal sobre el crecimiento vegetal. La acetoína fue el principal compuesto emitido y su efecto sobre el crecimiento vegetal fue similar que el de la mezcla de VOCs emitida por el microorganismo.

Resultados:

Las cepas CRISPRi-LonB mostraron diferencias en los niveles de represión de la expresión de LonB dependiendo del sitio de unión del crRNA (P o SIT). La cepa CRISPRi-LonB1 (crRNA anti-LonB1) hibridando en la región promotora de lonB reprimió eficazmente (67% aprox.) la expresión de LonB en H. volcanii HV30 en ambas fases de crecimiento. Al mismo tiempo presentó menor velocidad de crecimiento (μ 0.0055 vs 0.01139 h⁻¹) e hiperpigmentación (2.55 ± 1.3 vs 0.34 ± 0.2 Bctr mg/g célula)

que la cepa control (HV30+ pTA232), en coincidencia con el fenotipo reportado para la mutante condicional HVLON3.

Conclusiones:

La aplicación de CRISPRi permitió reprimir eficazmente el gen esencial lonB en *H. volcanii*. La cepa CRISPRi-LonB1 obtenida mediante esta técnica produce bajos niveles de la proteasa LonB y su acervo genético es compatible con la expresión de proteínas recombinantes bajo el control del promotor pTna regulable por Trp en *H. volcanii*. Financiado por ANPCyT, UNMDP y Boehringer Ingelheim Fonds travel grant (2018).

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

EFECTO INHIBITORIO DE LOS ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DE CADENA LARGA SOBRE LA CAPACIDAD DE VIRULENCIA DE SALMONELLA ENTERICA ACTUANDO COMO LIGANDOS DE SEÑALIZACIÓN DE PHOQ

CARABAJAL, María Ayelén 1 | VIARENGO, Gastón1 | YIM, Lucía2 | MARISCOTTI, Javier Fernando1 | CHABALGOITY, José1 | RASIA, Rodolfo1 | GARCÍA VÉSCOVI, Eleonora1

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO 1; DEPARTAMENTO DE DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO, INSTITUTO DE HIGIENE, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA URUGUAY 2

Introducción y Objetivos:

Salmonella enterica es el causal más frecuente de infecciones zoonóticas y transmitidas por alimentos, causan en la población humana un registro estimado de 20 millones de casos sistémicos y 200.000 muertes anuales en el mundo. Nuestro conocimiento acerca del sistema de dos componentes PhoP/PhoQ de *S. enterica*, y su relevancia en la capacidad patogénica bacteriana, nos permitió proponer al sistema de transducción de señales PhoP/PhoQ como un blanco clave para la identificación de compuestos con potencial farmacológico, que bloqueen la capacidad infectiva del patógeno. En base a esa propuesta y a partir de una estrategia de rastreo bio guiado de una biblioteca de compuestos de origen vegetal, determinamos que los ácidos grasos insaturados de cadena larga de configuración cis (cis-LCUFAs) constituyen una señal que modula la actividad del sistema PhoP/PhoQ. Más aún, determinamos que estos compuestos ejercen su efecto inhibiendo la actividad autoquinasa del sensor de membrana interna PhoQ y, en consecuencia, regulan negativamente la expresión de los genes del regulón PhoP. En base a estos resultados, nos planteamos como objetivo determinar el mecanismo de acción por el cual los LCUFAs inhiben la actividad autoquinasa de la histidina-quinasa PhoQ.

Materiales y Métodos:

Se realizaron medidas de actividad β -galactosidasa utilizando fusiones del gen lacZ a promotores de genes regulados por PhoP y ensayos de actividad de autofosforilación (actividad autoquinasa) de PhoQ, en presencia de ácido linoleico (cis-LA) y sus isómero geométrico (trans-LA y CLA). Para determinar si los LCUFAs interactúan específicamente con el dominio sensor de PhoQ, se llevaron a cabo ensayos de Thermal Shift y NMR-HSQC con el dominio periplásmico de PhoQ purificado, PhoQp, en presencia de cis-LA y sus isómeros geométricos. Por otro lado, utilizando un modelo murino, previamente tratados con estreptomicina, analizamos el efecto del consumo LCUFAs en el desarrollo de la enterocolitis por *S. enterica*.

Resultados:

En este trabajo establecimos que el agregado de trans-LA o CLA al medio de crecimiento provocan un efecto inhibitorio sobre el regulón PhoP al igual que lo previamente reportado para cis-LA. Además, los resultados obtenidos mediante técnica de Thermal Shift y NMR-HSQC, nos permiten postular que los LCUFAs modulan conformacionalmente el dominio sensor de PhoQ, y de esta manera inhiben su actividad autoquinasa, afectando negativamente la expresión de los genes PhoP-regulados. Finalmente, los resultados obtenidos en el modelo en ratones sugieren que los LCUFAs inhiben la expresión de los genes del regulón PhoP durante la etapa de infección intestinal.

Conclusiones:

En suma, estos resultados nos permiten dilucidar el mecanismo de acción de los LCUFAs y su relevancia en el proceso de colonización de Salmonella dentro del hospedador.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

LA INOCULACIÓN CON AZOSPIRILLUM BRASILENSE MEJORA LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO EN LECHUGA

CASANOVAS, Eida Mabel | SANTA CRUZ, Juan Francisco | VERKUYL, Melanie | TAJAN, Carlos

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA (UNMDP), BALCARCE, ARGENTINA

Introducción y Objetivos:

La creciente demanda de alimentos y el cambio climático impulsan la expansión de la agricultura hacia suelos marginales, donde los cultivos están frecuentemente expuestos a la salinidad. El estrés salino genera desequilibrios en el estado iónico y nutricional, sobre producción de especies reactivas de oxígeno (EAO) y pérdida de productividad. Se ha demostrado que *Azospirillum* spp., rizobacteria promotora del crecimiento vegetal, es capaz de aliviar algunos de los efectos negativos de diferentes tipos de estrés abiótico. El objetivo de este trabajo fue estudiar si la mejor respuesta a la salinidad en plantas de lechuga provenientes de semillas inoculadas con *A. brasilense*, se asocia a un menor daño oxidativo.

Materiales y Métodos:

Semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Elisa) fueron esterilizadas superficialmente y luego inoculadas con 10^9 células de *A. brasilense* Sp245.semilla⁻¹ (I), o con buffer fosfato (C). Las semillas se sembraron en contenedores de 330 cm³ y se cultivaron a 25°C con 12 horas de fotoperíodo. A los 20 días desde la siembra se aplicaron los tratamientos de estrés salino mediante riego por capilaridad con soluciones 0, 50 ó 100 mMol.m⁻³ de NaCl. Luego de 15 días de aplicado el estrés se determinaron: peso seco (PS), contenido relativo de agua (CRA), concentración de malondialdehído (MDA) y pérdida de electrolitos (%PE), en parte aérea (PA) y en raíces.

Resultados:

Se observó un efecto promotor del crecimiento aéreo y radical en las plantas I. El PF de raíz, el PS aéreo y el número de hojas, fueron significativamente superiores para las plantas I, especialmente en las regadas con NaCl 100 mM. La salinidad afectó negativamente el estado hídrico. En la situación de estrés más severa, las plantas C presentaron un valor de CRA de 65,7%, mientras que las I presentaron un CRA de 79,8%. El nivel de MDA, un producto de la peroxidación de lípidos de membrana, conjuntamente con la estabilidad de las membranas son indicadores del daño oxidativo. Tanto en 50 como en 100 mM de NaCl, las plantas I evidenciaron un menor contenido de MDA que las C. En las plantas I los distintos niveles de salinidad no afectaron el nivel de peroxidación de lípidos. La inoculación disminuyó significativamente el daño sufrido por las membranas celulares, lo cual se refleja en un menor %PE. Este parámetro se incrementó significativamente en las plantas C sometidas al nivel de estrés salino más severo. El menor contenido de MDA de las plantas I es coincidente con el menor daño de membranas, dado que los incrementos de %PE se asocian al daño en las membranas inducido por el estrés oxidativo.

Conclusiones:

La inoculación con *A. brasilense* Sp 245 mejoró el crecimiento y el estado hídrico en plantas de lechuga creciendo bajo condiciones de estrés salino. Estas respuestas estuvieron asociadas a disminuciones en los niveles de indicadores de daño oxidativo, representados por niveles inferiores de MDA y de daño en las membranas celulares en plantas I creciendo bajo condiciones de estrés salino.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

LA INOCULACIÓN CON AZOSPIRILLUM BRASILENSE INCREMENTA LA ACTIVIDAD DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE DE LECHUGA CRECIENDO BAJO ESTRÉS SALINO

CASANOVAS, Eida Mabel | TAJAN, Carlos | SANTA CRUZ, Juan Francisco | VERKUYL, Melanie

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA (UNMDP), BALCARCE, ARGENTINA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA (UNMDP), BALCARCE, ARGENTINA

Introducción y Objetivos:

Los efectos primarios de la salinidad generan desequilibrios entre la producción de especies reactivas de oxígeno (EAO) y su neutralización por mecanismos antioxidantes. Resultados preliminares indican que la inoculación de lechuga con la bacteria *A. brasilense* Sp 245 mitiga los efectos deletéreos del estrés salino sobre el crecimiento vegetal, con disminución del daño oxidativo. El objetivo de este trabajo fue estudiar si el menor daño oxidativo descrito en plantas de lechuga inoculadas con *A. brasilense* creciendo en condiciones de salinidad se asocia a incrementos en la actividad antioxidante.

Materiales y Métodos:

Semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Elisa) se esterilizaron superficialmente y luego se inocularon con 10^9 células de *A. brasilense* Sp245.semilla⁻¹ (I), o con buffer fosfato (C). Se sembraron en contenedores de 330 cm³ y se cultivaron a 25°C con 12 horas de fotoperíodo. A los 20 días desde la siembra se aplicaron los tratamientos de estrés salino mediante riego por capilaridad con soluciones 0, 50 ó 100 mMol.m⁻³ de NaCl. Luego de 15 días de aplicado el estrés se determinaron: actividad antioxidante, actividad secuestrante del DPPH (Asec), fenoles, ascorbato (Asc), carotenoides y flavonoides en parte aérea (PA) y en raíces, y clorofila en PA.

Resultados:

La actividad antioxidante se incrementó significativamente en las plantas I, así como la ASec foliar para el nivel más severo de estrés. El contenido foliar de fenoles fue superior en las plantas I con respecto a los C. Las raíces de plantas I evidenciaron un mayor contenido de fenoles que las C en salinidad. Asimismo, en las plantas C el contenido de fenoles disminuyó en los niveles 50 y 100 mM de NaCl, con respecto a las plantas no estresadas. En las plantas I la salinidad no afectó el contenido de fenoles. Las plantas I evidenciaron un mayor contenido de clorofila que las C dentro de cada uno de los niveles de salinidad. La salinidad no afectó el contenido de clorofila de las plantas C, y el mismo se vio incrementado en el nivel 100 mM de salinidad para las plantas I. La concentración de flavonoides de las plantas I bajo estrés salino, fue superior que en las C. El contenido de carotenoides, comparando dentro de cada nivel de estrés salino, fue significativamente superior en las plantas I con respecto a las C. La inoculación incrementó los contenidos Asc con respecto a las plantas sin inocular. Mientras que en la parte aérea solo el nivel de mayor salinidad incrementó la concentración de Asc, en las raíces ambos niveles de estrés salino incrementaron la concentración de Asc.

Conclusiones:

La inoculación de semillas de lechuga con *A. brasilense* Sp 245 incrementó los indicadores de las propiedades antioxidantes del vegetal, tales como la actividad antioxidante y la capacidad secuestrante del radical DPPH. Asimismo, la interacción con la bacteria indujo mayores concentraciones de distintos compuestos antioxidantes como fenoles, ascorbato, flavonoides, clorofilas y Asc.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

REGULACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DEL PLÁSMIDO PLPU83A DE RHIZOBIUM FAVELUKESII LPU83 DESDE DIFERENTES ENTORNOS GENÉTICOS

CASTELLANI, Lucas 1 | LUCHETTI, Abril1 | NILSSON, Juliet1 | BROM, Susana2 | PISTORIO, Mariano1 | TORRES TEJERIZO, Gonzalo1

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP 1; CENTRO DE CIENCIAS GENÓMICAS 2

Introducción y Objetivos:

La transferencia conjugativa (TC) de plásmidos es uno de los mecanismos de mayor contribución hacia la diversificación y adaptación bacteriana ya que permite el intercambio de información genética entre bacterias de diferentes géneros. Este proceso implica la síntesis de numerosas proteínas, por lo que resulta muy costoso a nivel energético. Debido a esto, la conjugación es un proceso altamente regulado. En algunos sistemas de rizobios, la regulación está mediada por Quorum Sensing (QS), en donde el regulador TraR activa la conjugación en presencia de una alta concentración de Acyl Homoserin Lactonas (AHLs). Las AHLs son sintetizadas por el gen TraI y se acumulan a una alta densidad poblacional. El plásmido pLPU83a, un plásmido accesorio de *Rhizobium favelukesii* LPU83, es transferido por conjugación a otras cepas, pero el mecanismo que regula su TC no es claro, ya que necesita TraR pero no AHLs (Castellani et al., 2019). Previamente, hemos identificado 2 genes involucrados en la regulación de la transferencia de pLPU83a, pLPU83a0146 y pLPU83a0148, aunque el rol que llevan a cabo es aún desconocido. Con el objetivo de dilucidar dicho rol, y sabiendo que la frecuencia de transferencia de pLPU83a varía según el entorno genómico del mismo, nos propusimos analizar la transferencia de pLPU83a y sus derivados mutantes en los genes de interés desde diferentes especies. Para determinar que entornos genómicos evaluar, se buscaron mediante herramientas bioinformáticas en qué otros microorganismos existen genes ortólogos a pLPU83a0146 y pLPU83a0148

Materiales y Métodos:

Las conjugaciones fueron realizadas empleando la técnica de Simon (1989). Cada ensayo se realizó por triplicado. Las búsquedas bioinformáticas se realizaron mediante la herramienta BLAST-P tomando como valor de corte para definir homólogos un porcentaje de identidad mayor a 30%.

Resultados:

Se evaluó la frecuencia de la TC de pLPU83a y sus versiones mutantes pLPU83a0146 - y pLPU83a0148 - desde *Rhizobium etli*, *Agrobacterium tumefaciens* y *Ensifer meliloti*. La TC de pLPU83a y los mutantes desde *E. meliloti* se mantiene a similares frecuencias que desde el entorno salvaje. Desde *R. etli*, la frecuencia es similar para todas las versiones del plásmido. Desde *A. tumefaciens*, pLPU83a y pLPU83a0148 - no mostraron TC. Llamativamente, pLPU83a0146 - evidenció un aumento en la TC.

Conclusiones:

Los datos presentados en este trabajo confirman la interacción entre elementos regulatorios de un plásmido adquirido recientemente con elementos propios de la cepa aceptora, modificándose el comportamiento del mismo según los genes que lo rodeen. Se observó que dependiendo del entorno genético en el que se encuentre el plásmido, su comportamiento conjugativo puede ser similar al observado en su propio entorno o verse afectado por algún componente propio o ausente en el nuevo entorno. Al mismo tiempo, se comprobó que los genes estudiados influyen en la transferencia desde ciertos entornos.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

ESTUDIOS PROTEÓMICOS DEPENDIENTES DE GEL EN LEVADURAS RESISTENTES A CR(VI)

CASTRO, María Fernanda¹ | **BONILLA, José Oscar**¹ | **LEHMANN, Karola**² | **NEUMANN, Boris**³ | **VILLEGAS, Liliana Beatriz**¹

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. 1; PROTEOME FACTORY AG 2; PROTEOME FACTORY AG 3

Introducción y Objetivos:

Wicherhamomyces anomalus y *Candida glabrata*, aisladas a partir de sedimentos de Río San Luis, Argentina, mostraron capacidad de remover concentraciones entre 25 y 100 mg L⁻¹ de Cr(VI) en medio líquido. En presencia de 50 mg L⁻¹ de Cr(VI) *W. anomalus* removió un 80% del metal mientras que *C. glabrata* solo removió un 50% del mismo. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de 50 mg L⁻¹ Cr(VI) en la expresión de proteínas celulares de ambas cepas, mediante técnicas proteómicas dependientes de gel.

Materiales y Métodos:

W. anomalus y *C. glabrata* se cultivaron en medio EG (g L⁻¹: glucosa 10; extracto de levadura 1; K₂HPO₄ y KH₂PO₄ 0,125; MgSO₄ 0,1), con y sin la adición de 50 mg L⁻¹ de Cr(VI), durante 72 h y 200 rpm. La biomasa se obtuvo por centrifugación de 50 mL de cultivo a 4000 xg durante 20min a 4°C. Las biomásas se lavaron dos veces con PBS (mM: NaCl 124; NaH₂PO₄ 10; KH₂PO₄ 3) y se conservaron a -20°C. La ruptura mecánica de las células se realizó en mortero, con N₂ líquido. El polvo obtenido se recuperó con 5mL de Buffer Tris-Sacarosa y se centrifugó a 8.500 xg durante 20min a 4°C para eliminar los restos celulares. La concentración de proteínas se determinó con el método de Bradford, se liofilizaron y luego se reconstituyeron en 1 mL de Tritón X100 0,05% en PBS, 1 h a 4°C sin agitación. Las proteínas se resolvieron por SDS-PAGE en geles de poliacrilamida al 15%, a 80V durante 20 min y 120V por 2 h. El gel obtenido se tiñó con Coomassie R- 250. Para la identificación de las proteínas, los carriles de cada una de las muestras fueron cortados en 7 segmentos y digeridos con Tripsina (Promega). Los péptidos resultantes se analizaron a través de nanoLC-ESIMS/ MS y para la identificación se utilizaron bases de datos de NCBI y Bioinformatics Solutions Inc. (ON, Canadá).

Resultados:

En presencia de Cr(VI) se identificaron 54 proteínas sobre-expresadas en *C. glabrata* y 179 en *W. anomalus*. Ambas cepas sobre-expresaron proteínas asociadas a: la síntesis de biomoléculas, metabolismo glicolítico, quinasas/fosfatasa que podrían ser claves en la activación o desactivación de vías de señalización intracelulares y proteínas involucradas en procesos de óxido-reducción. Por otro lado, en *W. anomalus* se identificaron además proteínas involucradas en la respuesta al estrés oxidativo, metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas de degradación que no se encontraron expresadas en *C. glabrata*.

Conclusiones:

En ambas cepas, la presencia de Cr(VI) afectó la expresión de proteínas celulares de manera diferente, lo que podría corresponderse con diferencias en los mecanismos implicados en la respuesta frente a la presencia de este toxico. Estos resultados indican que *W. anomalus* expresa un mayor número de proteínas en presencia de Cr(VI), especialmente aquellas que les permite afrontar una situación de estrés, esto condice con la mayor capacidad de reducción del metal por *W. anomalus*

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

ESTRATEGIAS DE CULTIVO PARA EL ESTUDIO DEL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS PECTINOLÍTICAS POR PARTE DE LA LEVADURA ANTÁRTICA *CRYPTOCOCCUS GILVESCENS* 32

CAVELLO, Ivana | BEZUS, Brenda | SOSA, Pilar | RUSCASSO, Maria Florencia | CAVALITTO, Sebastián

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CONICET-UNLP)

Introducción y Objetivos:

Las enzimas pectinolíticas son una parte integral del procesamiento comercial de los alimentos. Se utilizan principalmente en las etapas de licuefacción, clarificación y extracción de jugos. La industria alimentaria actualmente utiliza pectinasas de microorganismos mesófilos o termófilos, sin embargo, en los últimos tiempos, ha habido una nueva tendencia a adoptar procesos a baja temperatura trayendo aparejado la búsqueda de nuevas pectinasas activas en estas condiciones. El objetivo del presente trabajo fue plantear diferentes estrategias de cultivo para el estudio del crecimiento y la producción de estas enzimas por parte de la levadura antártica *Cryptococcus gilvescens* 32. Se realizaron cultivos en sistemas batch, fedbatch y cultivos continuos en un fermentador tipo tanque agitado New Brunswick Bioflo 310 con un volumen útil de 1.5 lts con control automático de pH y oxígeno disuelto.

Resultados:

Se estudió el efecto de la fuente de carbono y de la fuente de nitrógeno sobre el crecimiento y la expresión enzimática en sistemas de cultivos batch. Se observó que, en presencia de pectina o glucosa, se obtiene igual título de actividad pectinolítica por unidad de biomasa (10.5 ± 0.75 U/gx),

indicando que esta enzima es no inducible. En términos de biomasa final se obtuvo mayor valor en presencia de glucosa (5.75 ± 0.75 g/l) que en presencia de pectina (3.79 ± 0.59 g/l) y por ende mayor actividad total. Para el estudio de efecto de la fuente de nitrógeno se utilizó urea o sulfato de amonio. En presencia de Urea se obtuvo una mayor biomasa final ($X_f 7.52 \pm 0.60$ g/l) y una mayor actividad volumétrica 0.20 ± 0.01 U/ml que en presencia de Sulfato de Amonio ($X_f: 5.75 \pm 0.75$ g/l y 0.13 ± 0.02 U/ml). La velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) resultó ser igual a 0.105 ± 0.011 h⁻¹. En vista de los resultados obtenidos como estrategia para obtener mayor biomasa y por ende mayores títulos de actividad pectinolítica se diseñó un cultivo batch alimentado, utilizándose como parámetros de diseño un flujo constante e igual a 36 ml/h y una concentración del reservorio (S_r) igual a 95 g/l. Con estos parámetros y luego de alimentar durante 21.75 h se obtuvo una biomasa final de 23.8 g/l y un máximo de actividad enzimática de 0.24 U/ml con una relación igual a 10.97 U/gx. Finalmente se procedió al estudio del efecto de la velocidad de dilución (D) sobre la expresión enzimática utilizando el sistema de cultivo continuo. Se observó que la velocidad de síntesis de la enzima qE (U/gx*h) se incrementa al aumentar D, incrementándose de 0.041 a 0.35 U/gx*h.

Conclusiones:

El presente trabajo nos permitió determinar que *C. gilvescens* 32 expresa pectinasas no inducibles y que a mayor biomasa final mayor actividad total. De este modo se pudieron obtener mayores títulos de actividad utilizando sistemas batch alimentado y gracias al uso de sistemas de cultivo continuo se logró determinar que la síntesis y expresión enzimática se encuentra estrechamente relacionada con la velocidad de crecimiento.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
--	---

EVALUACIÓN DE LA SELECTIVIDAD DE BIOCATALIZADORES TIPO BAEYERVILLIGER MONOOXIGENASA IN VIVO E IN VITRO

CECCOLI, Romina D. 1 | BIANCHI, Dario A.2 | RIAL, Daniela V.1

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO - CONICET 1; INSTITUTO DE QUÍMICA ROSARIO (CONICET-UNR) - FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNR 2

Introducción y Objetivos:

El uso de biocatalizadores para aplicaciones en síntesis química es un recurso cada vez más explotado dado que las enzimas permiten llevar a cabo reacciones de forma selectiva, eficiente y amigable desde el punto de vista medioambiental. Las Baeyer-Villiger monooxigenasas (BVMOs) son flavoenzimas que catalizan la oxidación de cetonas lineales o cíclicas para producir ésteres o lactonas, respectivamente, que constituyen moléculas de interés tanto para la academia como la industria 1. El objetivo de nuestro trabajo es caracterizar nuevas BVMOs a fin de ampliar el repertorio

de biocatalizadores disponibles con potencial para su aplicación en síntesis química. Nuestro grupo ha clonado y expresado tres BVMOs tipo I divergentes de *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110 en *Escherichia coli*. En este trabajo se presenta una evaluación detallada de la regio- y/o enantioselectividad de las tres enzimas tanto en los sistemas in vivo como in vitro.

Materiales y Métodos:

Mediante ensayos de biotransformación en células enteras recombinantes en condiciones de reposo, hemos evaluado la regio- y enantioselectividad de la reacción de cada BVMO frente a la cetona (\pm)-cis-biciclo[3.2.0]hept-2-en-6-ona. Los productos fueron analizados por cromatografía gaseosa y asignados utilizando biotransformaciones de referencia. Además, hemos purificado a homogeneidad las tres flavoenzimas, identificado sus flavinas y determinado sus coeficientes de absorción molar. La actividad de las enzimas puras fue evaluada en ensayos in vitro, en los que se estudió la reacción de biooxidación de la cetona bicíclica, acoplada a un sistema regenerante de NADPH, mediante cromatografía gaseosa.

Resultados:

In vivo, una de las BVMOs permitió obtener, por biooxidación de la cetona en estudio, dos regioisómeros enantioméricamente puros. Las otras dos BVMOs catalizaron la oxidación regioselectiva y enantiodivergente del sustrato bicíclico en los ensayos de resolución cinética dando lugar preferentemente a las lactonas anormales con alto grado de pureza óptica. Las tres enzimas puras evaluadas contenían FAD asociado no covalentemente y presentaron coeficientes de absorción molar similares a los de otras flavoproteínas de la misma familia. Los experimentos in vitro, confirmaron las regioselectividades observadas in vivo.

Conclusiones:

Estos nuevos biocatalizadores enriquecen así el alcance de las potenciales aplicaciones biotecnológicas. Referencia: 1. Ceccoli, R. D.; Bianchi, D. A.; Rial, D. V. *Front. Microbiol.* 2014, 5, 25. Financiamiento: CONICET y UNR, Argentina.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

ROL DEL EXTREMO C-TERMINAL DE LA ENZIMA FITOENO SINTASA EN LA REGULACIÓN DE LA CAROTENOGÉNESIS EN LA ARQUEA HALÓFILA HALOFERAX VOLCANII

CERLETTI, Micaela 1 | RABINO, Agustin1 | FERRARI, Celeste1 | PAGGI, Roberto1 | POETSCH, Ansgar2 | DE CASTRO, Rosana1

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB-CONICET-UNMDP, FCEYN 1; SCHOOL OF BIOMEDICAL SCIENCES, UNIVERSITY OF PLYMOUTH 2

Introducción y Objetivos:

Los carotenoides son compuestos isoprenoides coloreados (naranja-rojizo) sintetizados por las

plantas, algas y microorganismos. Cumplen importantes funciones en todos los seres vivos y han recibido considerable atención por sus aplicaciones biotecnológicas y sus beneficios para la salud humana. Las haloarqueas son microorganismos que habitan en ambientes hipersalinos (>1,5 M NaCl) y que producen pigmentos de C50 denominados bacterioruberinas (Bctr). La ruta de biosíntesis de los carotenoides está conservada entre las haloarqueas y los organismos fotosintéticos y comienza con la conversión de dos moléculas de pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP) a fitoeno, compuesto precursor de todos los carotenoides. Este paso, considerado el punto regulatorio clave en la carotenogénesis, es catalizado por la enzima fitoeno sintasa (PSY). Recientemente se reportó un mecanismo de regulación que involucra la degradación de PSY mediante proteasas ATP-dependientes como Clp (plantas) y LonB (haloarqueas). La proteasa Lon está altamente conservada en los tres dominios de la vida y, a pesar de su importancia en la fisiología celular, se conoce muy poco acerca de la manera en que reconoce sus blancos de acción. En *Escherichia coli*, LonA degrada al inhibidor de la división celular SulA reconociendo una secuencia hidrofóbica de 20 aa ubicada en el extremo C-terminal de esta proteína. En base a estos antecedentes el objetivo de este trabajo fue validar la relevancia de la porción C-terminal de PSY como elemento regulador de la biosíntesis de carotenoides en la haloarquea *Haloferax volcanii*.

Materiales y Métodos:

Se construyeron mutantes de *H. volcanii* que expresaban diferentes versiones de PSY truncadas en el C-terminal: PSY entera (PSYwt), PSY -10 aa (S10), PSY -20 aa (S20) y PSY -34 aa (S34), y se caracterizaron en cuanto a su crecimiento, producción de pigmentos (Bctr) y contenido de PSY. Además, se realizó un alineamiento y búsqueda de motivos conservados (programas MEME y GLAM2) usando las secuencias C-terminal de las PSY de diversas haloarqueas.

Resultados:

Las cepas S20 y S34 presentaron mayor contenido de Bctr (2 veces) que PSYwt, por el contrario, la cepa S10 mostró menor pigmentación (2 veces). Aplicando espectrometría de masa se determinó que la mayor pigmentación de S34 se correlacionó con un incremento en el contenido de proteína PSY (2,4 veces). A través de un análisis *in silico*, se encontró un motivo bastante conservado dentro de la región regulatoria clave de PSY: SR[HRV][HR][TG]RV[SED][GR][LW].

Conclusiones:

Estos resultados sugieren que el sitio de reconocimiento de PSY relevante para su estabilización/degradación se encuentra en la región -10 a -20 del extremo C-terminal. La remoción de los últimos 10 aa del C-terminal podría dejar más expuesta esta región regulatoria, facilitando la degradación de PSY, y en consecuencia, reduciendo la pigmentación (cepa S10).

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

PERFIL PROTEÓMICO DEL HONGO DE PUDRICIÓN BLANCA PLEUROTUS SAJORCAJULBM 105 EN CONDICIONES DE REMOCIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS Y SU IMPLICANCIA COMO AGENTE BIORREMEDIADOR

Introducción y Objetivos:

Los bifenilospoliclorados (PCBs) son compuestos químicos compuestos de unamolécula de bifenilo con 1 a 10 sustituciones de cloro. Estos compuestos fueron ampliamente utilizados en el ámbito industrial desde 1930. Como consecuencia de su uso, grandes cantidades de PCBs han sido distribuidos en el ambiente lo que representa una amenaza para el ecosistema. Los hongos de pudrición blanca, han sido ampliamente utilizados en procesos de remediación para degradar varios congéneres de PCBs. El basidiomycete *Pleurotus sajor-caju* ha demostrado una excelente resistencia a los Arocloros 1242, 1254 y 1260; y una alta tasa de remoción de los mismos en medio líquido, llegando a obtenerse porcentajes de remoción de hasta 98%. Aunque la capacidad de los hongos de pudrición blanca para remover xenobióticos ha sido ampliamente documentada existe poco conocimiento acerca de las enzimas ocupadas por el hongo para poder degradarlos. En este estudio, se analizaron comparativamente los proteomas de la cepa de *P. sajor-caju* LBM105 en medios de cultivo líquidos deficientes de nitrógeno tanto en presencia como en ausencia de los arocloros 1242, 1254 y 1260, buscando encontrar las posibles enzimas involucradas para remover estos compuestos contaminantes.

Materiales y Métodos:

Para la obtención de las proteínas abundantes durante la degradación de los PCBs se procedió a incubar 20 ml de medio de cultivo sintético líquido deficiente en nitrógeno de glucosa-asparagina suplementado con una solución de 200 ppm de PCBs conteniendo una mezcla de los Arocloros 1242, 1254 y 1260. Paralelamente se evaluó la situación control sin el agregado de la solución de PCBs. El micelio fúngico obtenido de *P. sajor-caju* obtenido que fue expuesto a los bifenilospoliclorados fue lavado mediante 3 lavados con acetona. La ruptura celular se realizó mediante la utilización de nitrógeno líquido en presencia de buffer de extracción. El extracto obtenido fue reducido, alquilado y precipitado. Las proteínas obtenidas fueron tratadas con tripsina y analizadas por nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masas Q-Exactive.

Resultados:

De las proteínas identificadas que se mostraban significativamente sobre-expresadas se destaca la presencia de reductasas de cadena corta, aldo-ceto reductasas, galactosa oxidasas, peroxidasas, lacasas y carboxilesterasas. En cambio, se observó una disminución en la expresión de oxilipinas, piruvato carboxilasas y chaperonas (Hsp70, DnaJ, Hsp90).

Conclusiones:

Los perfiles de expresión de estas proteínas evidencian la presencia de procesos oxidativos relacionados con modificaciones en la estructura de los PCBs, posiblemente involucrando la dehalogenación de sus anillos mediada por especies reactivas del oxígeno y la reducción de sus metabolitos de degradación y del estrés oxidativo sufrido por los mismos evidenciada por la disminución de expresión de proteínas involucradas en el metabolismo del carbono y de los lípidos, que además parece afectar a la expresión de varias chaperonas.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EFFECTOS EN EL ESTADO ANTIOXIDANTE DE MENTHA PIPERITA CULTIVADA BAJO ESTRÉS HÍDRICO E INOCULADA CON PGPR

CHIAPPERO, Julieta | CAPPELLARI, Lorena | PALERMO, Tamara | BANCHIO, Erika
UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN
UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN

Introducción y Objetivos:

Las plantas aromáticas son importantes por su producción de metabolitos secundarios destinados a diversas industrias. Debido a su naturaleza sésil las mismas se ven afectadas por diversos tipos de estrés entre ellos el estrés hídrico. Este genera un incremento de especies reactivas del oxígeno (ROS), cuya alta concentración es tóxica para la planta, causando daños en las proteínas, inhibición enzimática así como oxidación de lípidos de membrana y ADN, eventualmente llevando a la muerte celular. En función de eliminar las ROS, hay diversos mecanismos antioxidantes que son activados por las plantas.

Materiales y Métodos:

Plantines de *M. piperita* fueron inoculadas con cepas PGPR (*Pseudomonas fluorescens* WCS417r y *Bacillus amyloliquefaciens* GB03). El estrés hídrico se provocó por supresión de riego, se realizaron 3 tratamientos: Estrés moderado (EM), Estrés severo (ES) y control (C). Todas las plantas fueron regadas con medio Hoagland, hasta que inicia el estrés hídrico, en este momento las plantas EM reciben agua destilada estéril hasta 10 días previos a la cosecha y las plantas C hasta la cosecha. Se realizó la determinación de malonildialdehído (MDA), actividad enzimática de SOD y PX, fenoles totales (TPC), capacidad antioxidante total y acumulación de prolina.

Resultados:

Se observó que en las plantas inoculadas y cultivadas bajo EM y ES se produjo un incremento significativo en la actividad SOD y PX y en la capacidad antioxidante total en relación a plantas no inoculadas sometidas a EM o ES; la misma tendencia fue observada en el contenido de TPC. Por otro lado se observó que el contenido de prolina no se modificó en plantas estresadas y disminuyó cuando las plantas fueron sometidas al estrés e inoculadas. El nivel de oxidación lipídica, determinado por los valores de MDA, fue aproximadamente en un 50-70% menor en plantas inoculadas dependiendo de la severidad del estrés, en comparación a plantas EM y ES no inoculadas.

Conclusiones:

Los PGPR demostraron la capacidad de disminuir el estado oxidativo generado por el estrés hídrico en plantas de *M. piperita*, reduciendo el contenido de MDA, previniendo la acumulación de ROS mediante el incremento en la actividad de SOD y PX, además incrementando el contenido de TPC con el consecuente aumento de capacidad antioxidante total. Estos resultados fortalecen la idea de que la inoculación con PGPR revierte los efectos negativos del estrés hídrico en plantas aromáticas.

Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

CONTROL BIOLÓGICO DE FUSARIUM GRAMINEARUM SENSU STRICTO EN TRIGO Y CEBADA EN ARGENTINA

CHIOTTA, Maria Laura 1 | YERKOVICH, Nadia1 | CANTORO, Renata1 | PALACIOS, Sofia1 | ROSALES, Lorenzo2 | CHULZE, Sofia1 | PALAZZINI, Juan Manuel1

IMICO-CONICET 1; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES, UNRC 2

Introducción y Objetivos:

El control biológico es una estrategia amigable con el medio ambiente y se puede utilizar en el marco de un control integrado de patógenos. *Fusarium graminearum sensu stricto* afecta los principales cultivos invernales en Argentina, trigo y cebada, causando pérdidas en el rendimiento y calidad de los granos, con la posible contaminación subsecuente con micotoxinas. El efecto biocontrolador de *Bacillus velezensis* RC218 sobre *Fusarium graminearum* ss ha sido estudiado previamente en zonas trigueras óptimas, tanto para trigo pan como para trigo fideero, pero no en zonas sub-óptimas para el desarrollo del cultivo. En cebada, no se han descrito hasta el momento estudios relacionados a biocontrol sobre *Fusarium graminearum* ss en Argentina. Se propuso evaluar el efecto de *Bacillus velezensis* RC218 sobre trigo cultivado en una zona sub-óptima (Río Cuarto, Córdoba) y sobre el cultivo de cebada para evaluar su capacidad biocontroladora.

Materiales y Métodos:

Se evaluó *in vitro* la producción de compuestos volátiles como un posible mecanismo de biocontrol. Los ensayos a campo se realizaron en bloques al azar donde se aplicaron por aspersión tanto el patógeno como la cepa biocontroladora durante el período de antesis. A los 21 días se determinó la incidencia y severidad de la enfermedad según una escala de 0-100 %. El ensayo de compuestos volátiles se llevó a cabo enfrentando placas cultivadas con las cepas patógenas de *F. graminearum* ss (Per56, MJ1 y MJ3) y placas cultivadas con *Bacillus velezensis* RC218. Las mismas fueron incubadas a 25°C en oscuridad y se midió el crecimiento radial fúngico a los 3 días de incubación.

Resultados:

En el ensayo a campo de trigo, se logró una reducción de la incidencia del 44 % en el tratamiento con el biocontrolador. La severidad con *F. graminearum* ss fue del 16,7 % mientras que con el biocontrolador fue del 10,9 %, una reducción significativa del 37 %. En el cultivo de cebada la incidencia de la enfermedad se redujo en un 44 % al ser aplicado el agente de biocontrol. En el ensayo *in vitro* de compuestos volátiles, el crecimiento radial de las cepas Per56, MJ1 y MJ3 se redujo en un 35, 81 y 85 %, respectivamente.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos nos permiten comprobar la versatilidad de *Bacillus velezensis* RC218 para adaptarse a diferentes cultivos y a ambientes bajo condiciones climáticas diferentes, además de que utiliza diferentes mecanismos para mantener su capacidad biocontroladora sobre *F. graminearum* ss.

 Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

IMPORTANCIA DE LA FORMACIÓN DE BIOFILM DE PSEUDOMONAS RESINOVORANS EN EL PROCESO DE OXIDACIÓN DE MANGANESO(II)

CIANCIO CASALINI, Lucila | PIAZZA, Ainelén | OTTADO, Jorgelina | GOTTIG, Natalia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

Las bacterias oxidantes de Manganeso (MOB, Manganese-oxidizing bacteria) representan una herramienta biotecnológica aplicable a procesos de biorremediación. La MOB denominada *Pseudomonas resinovorans* MOB-449 fue aislada por nuestro grupo de trabajo, a partir de muestras ambientales, con el fin de implementar su uso en sistemas de tratamiento biológico de remoción de Mn. Para mejorar la aplicación de esta bacteria en estos procesos, se requiere de un conocimiento básico previo acerca del mecanismo molecular y de las condiciones en las cuales la bacteria oxida el metal. Por este motivo, el objetivo de este trabajo consistió en analizar la oxidación de Mn (II) de MOB-449 en distintas condiciones de crecimiento y en identificar los procesos biológicos involucrados en dicho proceso.

Materiales y Métodos:

En primer lugar, se evaluó como afecta la condición de crecimiento de la bacteria en la formación de óxidos de Mn. Para ello, la misma fue crecida en agitación y en forma estática, a 18°C y 30°C, en medio de cultivo Lept, conteniendo Mn. A distintos tiempos, se cuantificaron los óxidos formados y, además, se realizaron ensayos de actividad oxidante de Mn in vitro. Debido a que el crecimiento en forma estática favoreció el proceso de oxidación, se realizaron ensayos de biofilm con la bacteria MOB-449 que expresa la proteína GFP, para analizar si ambos procesos se encuentran asociados. La bacteria se creció de forma estática en microplacas, a 18°C y 30°C, en presencia o ausencia de Mn y la formación del biofilm fue visualizada diariamente mediante técnicas de microscopía confocal. Un ensayo similar se realizó con el propósito de evaluar si el proceso de formación de biofilm es afectado por la presencia de otros metales, que pueden coexistir en la naturaleza junto al Mn. Finalmente, se realizó un estudio de proteómica comparativa para identificar posibles proteínas asociadas a la oxidación de Mn. Para ello, se seleccionó la condición de crecimiento que favoreció la mayor producción de óxidos (determinada anteriormente) y se creció a la bacteria en presencia o ausencia de Mn, durante 3 días, a 18°C y 30°C. A ese tiempo la bacteria solo oxida a 18°C, por lo que el crecimiento a 30°C se considera como una condición control, donde la oxidación no se lleva a cabo.

Resultados:

Los resultados demostraron que el crecimiento en agitación disminuye la actividad oxidante de Mn tanto in vivo como in vitro. A su vez, en la condición de crecimiento estático se observó que a 18°C la oxidación de Mn es más rápida y más eficiente que a 30°C. Respecto a los ensayos de biofilm, fue mayor cuando la bacteria crece a 18°C. A partir del análisis proteómico se detectó un aumento en la abundancia de oxidorreductasas, citocromos y de proteínas que conforman el sistema de movilidad por twitching, que podrían participar en la oxidación de Mn.

Conclusiones:

La oxidación de Mn ocurre cuando la bacteria crece de forma estática, en forma de biofilm. Estudios futuros serán necesarios para una mayor comprensión del proceso.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

PRESENCIA DE ELEMENTOS INTEGRATIVOS Y CONJUGATIVOS ICE SXT Y ICESH95 EN ENTEROBACTERIAS

COLLIVADINO, Leandro | RAMOS PASSARELLO, Germán | TADDEO, Federico | PARMECIANO DI NOTO, Gisela | QUIROGA, Cecilia

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (UBA-CONICET)

Introducción y Objetivos:

Los elementos integrativos y conjugativos (ICE) son plataformas genéticas capaces de transferirse a distintos organismos. Existen diversas familias de ICEs siendo SXT/R391 una de las más estudiadas y distribuidas en el género *Vibrio* y en Enterobacterias. Estos elementos poseen varias regiones conservadas o core, tales como los genes de integración *int* y escisión *xis*, los genes de transferencia *tra* y los genes de regulación *set*. Sus regiones variables pueden codificar mecanismos de defensa, genes de resistencia a antibióticos y a metales pesados. Nuestro grupo caracterizó un nuevo ICE en la cepa clínica *Shewanella* sp. Sh95, denominado ICESh95, que codifica para un sistema de restricción y modificación, un operón de resistencia a metales pesados y un integrón de clase 4. El objetivo del presente trabajo fue analizar comparativamente el contenido genético entre los ICE SXT y ICESh95, y determinar su presencia en aislamientos clínicos de Enterobacterias.

Materiales y Métodos:

La búsqueda y análisis de las estructuras genéticas de los ICEs se hizo por *blastn* y *blastp* usando las secuencias completas de cada plataforma o las secuencias de las proteínas *Int* y *Xis* contra las bases de datos de Genbank. La construcción de árboles filogenéticos de las integrasas y escionasas de los ICEs se llevó a cabo usando el modelo de máxima verosimilitud con 1000 bootstraps con el programa MEGA V7. El análisis comparativo de las plataformas de los ICEs se hizo con el programa MAUVE. La búsqueda de los ICE SXT y ICESh95 en aislamientos clínicos de 20 Enterobacterias (6 *Providencia* spp., 10 *Klebsiella* spp., y 4 *Proteus* spp.) se realizó mediante PCR con primers específicos para los genes *intSXT*, *intSh95*, *oriT* y *setR*.

Resultados:

La búsqueda de ICEs reflejó la presencia de un único homólogo al elemento híbrido ICESh95 en los genomas de Enterobacterias, que correspondió al genoma de *Providencia rettgeri* PR162 ya que su módulo *xis/int* era similar al de ICESh95. El ICE de PR162 poseía además regiones variables distintas a las descritas para otras plataformas. Entre ellas se encontró un sistema de defensa tipo BREX-1. Además, se detectaron 3 ICEs del tipo SXT en los genomas de *P. rettgeri* 729/12, H1736 y NCTC7476. El análisis de *Int* y *Xis* de los distintos ICEs mostró que son cercanas a proteínas

presentes en *Vibrio cholerae*. Por otro lado, la búsqueda de ICEs en aislamientos clínicos de Enterobacterias también resultó en la presencia de ambos elementos (ICE SXT y ICESh95) en el género *Providencia*.

Conclusiones:

Nuestros resultados sugieren que los aislamientos de Enterobacterias pueden adquirir tanto ICE SXT como ICESh95. El análisis de las estructuras genéticas de estos elementos pone en evidencia su versatilidad y plasticidad. La similitud entre el ICESh95 y el ICE PR162 refleja su constante evolución y la posibilidad de incorporar genes de resistencia a antibióticos contribuyendo con esta problemática mundial

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

PSEUDOMONAS AERUGINOSA MUTATOR ISOLATES FROM CF PATIENTS SHOW AMPC β -LACTAMASE VARIANTS WITH HIGH HYDROLYTIC EFFICIENCIES THAT CONFER COMPETITIVE ADVANTAGE TO CEPHALOSPORINS AND MONOBACTAMS

COLQUE, Claudia Antonella 1 | TOMATIS, Pablo Emiliano² | ALBARRACÍN ORIO, Andrea³ | HEDEMANN, Gabriela¹ | HICKMAN, Rachel A.4 | JOHANSEN, Helle Krogh⁵ | MOLIN, Soeren⁶ | VILA, Alejandro J.7 | SMANIA, Andrea M.1

CIQUIBIC-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS 1; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR 2; CIQUIBIC-CONICET, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS / IRNASUS-CONICET 3; DEPARTMENT OF CLINICAL MICROBIOLOGY, RIGSHOSPITALET 4; DEPARTMENT OF CLINICAL MICROBIOLOGY, RIGSHOSPITALET 5; NOVO NORDISK FOUNDATION CENTRE FOR BIOSUSTAINABILITY, TECHNICAL UNIVERSITY OF DENMARK 6; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR 7

Introduction and objectives: *Pseudomonas aeruginosa* has evolved a myriad of intrinsic and acquired resistance mechanisms to counter nearly all antibiotics used for its treatment. Common mechanisms of resistance include the selection of mutations in chromosomal genes leading to the inactivation of the carbapenem porin OprD, the upregulation of efflux pumps and the hyperproduction of AmpC mediated by mutation-dependent mechanisms. We previously showed that in patients treated with high and long-dose β lactam therapy, *P. aeruginosa* is able to easily adapt and that accumulation of mutations within ampC gene is strongly selected during long-term evolution in chronic CF infection. Moreover, we showed that hypermutability favors the emergence of ampC variants consisting of several mutations differentially combined to lead for diversified alleles. When expressed in an

AmpC-deficient PAO1 strain and compared to PDC-3, some of these ampC variants were associated with high resistance towards cephalosporins and monobactams including the new combination ceftolozane-tazobactam. Here, we further assessed whether the combinations of mutations affect adaptation and persistence of *P. aeruginosa* to a given antibiotic and β -lactamase hydrolytic activity. Materials and methods: We performed competition experiments between lacZ+/lacZ- PAO1 strains expressing each of the ampC variants by growing each co-culture in the presence and absence of ceftazidime and aztreonam. Afterward, mature most competitive AmpC variants were expressed and purified, and their β lactam hydrolysis capability against ceftazidime, piperacillin, and imipenem was determined by enzyme-kinetic measurements. Results: Our results show that adaptation to ceftazidime antibiotic is based on a three-mutations A89V, V213A and Q120K core, being the latter residues localized either into or spatially close to the omega-loop, respectively, suggesting possible interactions. Addition of N321S to this mutations core did not affect competitiveness in ceftazidime, unlike the addition of the H189Y mutation, which concurrently with a decrease in ceftazidime, improved competitiveness in aztreonam. We found out that AmpC variants were 10- to 30-fold more active against ceftazidime than PDC-3 whereas imipenem hydrolysis was not affected. On the other hand, AmpC variants were 10- to 100- fold less active against piperacillin, suggesting that the evolved resistance against ceftazidime simultaneously led to an increased susceptibility to piperacillin probably by collateral sensitivity processes. Conclusions: Our results demonstrate how the interplay of AmpC spontaneous mutations plays a pivotal role in the development of genetic β -lactam antibiotic resistance and the pathogenic fitness of *P. aeruginosa*.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
--	--

MODELADO EXPERIMENTAL DE LA PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA ALGAL EN DIFERENTES ECORREGIONES DE SUDAMÉRICA

CORONEL, Camila Denise | CURATTI, Leonardo

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC - CONICET)

Introducción y Objetivos:

La biomasa algal presenta un gran potencial como materia prima para la producción de varios bioproductos, entre ellos los biocombustibles. Sin embargo el costo actual de su producción a gran escala está estimado entre 2,8 y 3,7 USD.L⁻¹, dificultando su implementación y comercialización. La estimación del precio está basada en varios parámetros, entre ellos, las predicciones de productividad que pueden obtenerse a partir de modelados o por extrapolación a partir de sistemas de cultivo a menor escala. Ejemplo de estos sistemas son los fotobiorreactores ambientales (ePBR"s), los cuales tienen la capacidad de simular el crecimiento algal en piletas al aire libre mediante la configuración de parámetros ambientales. En este trabajo se simuló el crecimiento de una cepa de microalga en diferentes localidades de Sudamérica y en diferentes condiciones de

cultivo con el objeto de determinar cuáles regiones, estaciones y condiciones básicas del cultivo presentan un mayor rendimiento potencial de biomasa algal.

Materiales y Métodos:

Se evaluó el crecimiento *Scenedesmus obliquus* cepa C1S en ePBR's, utilizando medio BG11 en suficiencia de nitrógeno bajo parámetros climáticos promedio de cuatro ciudades. Se eligieron por su ubicación geográfica y por sus características climatológicas a Buenos Aires, La Quiaca (Jujuy), Posadas (Misiones) y Fortaleza (Brasil). Para el modelado de productividad en diferentes condiciones de cultivo, se evaluó el efecto de la suplementación con 2% CO₂ en las condiciones ambientales de Fortaleza y Buenos Aires, en invierno o verano. Además, se evaluó el efecto de la profundidad de los sistemas de cultivo (5; 10 y 20 cm) en la ciudad de Fortaleza.

Resultados:

Para todas las regiones modeladas, las mayores productividades se obtuvieron en primavera y verano, en concordancia con las mayores temperaturas y valores de irradiancia. Sin embargo, se observaron diferencias en los valores máximos alcanzados en las diferentes regiones. La ciudad de Fortaleza presentó la mayor productividad anual y la menor variabilidad entre estaciones. En la evaluación del efecto de la suplementación con CO₂ sobre la productividad, se observó un incremento de aproximadamente 2.5 veces, independientemente de la estación o la ciudad. En simulaciones de piletas de cultivo de diferentes profundidades, se alcanzaron productividades volumétricas entre 2 y 4 veces mayor en comparación a los 20 cm, considerada como la altura estándar de este sistema de cultivo. Sin embargo, en todos los casos, los valores de productividad aérea oscilaban en 73 t.ha⁻¹.año⁻¹, y la aparente ventaja obtenida a menores profundidades se vio contrarrestada por el menor volumen de cultivo .

Conclusiones:

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran una primera aproximación para la selección de regiones para el cultivo masivo de microalgas en Sudamérica. Fortaleza sería una región potencialmente competitiva para su producción durante todo el año, mientras que Buenos Aires, La Quiaca y Posadas lo serían solo en verano y primavera.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ENRIQUECIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UN CONSORCIO MICROBIANO DEMULSIFICANTE PARA EL TRATAMIENTO DE EMULSIONES DE AGUAS DE SENTINAS

CORTI MONZÓN, Georgina 1 | NISENBAUM, Melina1 | JUNCA, Howard2 | MURIALDO, Silvia1
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y AMBIENTE (INCITAA), FACULTAD INGENIERÍA, UNMDP 1; RG MICROBIAL ECOLOGY METABOLISM, GENOMICS& EVOLUTION, MICROBIOMAS FOUNDATION 2

Introducción y Objetivos:

La descarga de aguas residuales oleosas mal tratadas al medio ambiente puede crear problemas ecológicos. La desestabilización de emulsiones aceite en agua (O/W), es un gran desafío en el tratamiento de estos residuos oleosos. El agua de sentina es un residuo peligroso generado por los barcos, que contiene elevados niveles de hidrocarburos (HC). Algunos barcos tienen un equipo separador de fases para su tratamiento a bordo, siendo poco efectivos por la elevada presencia de emulsiones de HC en agua (emulsiones O/W). Estas emulsiones se rompen generalmente por tecnologías que requieren la adición de demulsificantes químicos (a menudo tóxicos) o la limpieza/reemplazo de los filtros contaminados (técnica de filtración). Los biodemulsificantes son sustancias producidas por microorganismos que surgen así como una nueva tecnología, económica, eficiente y respetuosa con el medio ambiente. El objetivo del trabajo fue caracterizar la habilidad demulsificante de un consorcio microbiano aislado de muestras de sentinas del Puerto de Mar del Plata.

Materiales y Métodos:

El consorcio microbiano fue crecido en presencia de fase oleosa de sentina como única fuente de carbono. Se analizó el crecimiento por DO600nm y conteo de células en cámara. Se estudió la habilidad demulsificante y la adhesión celular a HC (técnica MATH) a lo largo de la curva de crecimiento, la localización del demulsificante (utilizando células precipitadas o el sobrenadante del cultivo), el efecto de la concentración de cultivo y de la agitación sobre la demulsificación. La demulsificación se analizó mediante el ensayo de "la botella" modificado. Se utilizó la emulsión modelo requerida por la OMI para la homologación de los separadores comerciales O/W. Se evaluó la reducción de la coloración, grosor de capa de HC en la superficie, incremento en la transmitancia y disminución en número de gotas de HC de la emulsión. Se testeó el consorcio en emulsiones reales de aguas de sentina y se describió su composición bacteriana mediante secuenciación del gen 16S ARNr por Illumina.

Resultados:

La habilidad demulsificante se presenta en la fase exponencial de crecimiento del cultivo, donde se observó mayor adhesión celular a HC, y se encuentra asociada a las células. Las células inactivadas por autoclavado pierden su habilidad demulsificante. El estudio del efecto de la concentración de cultivo mostró que se necesitan 8.48 células cada 15 ml de emulsión OMI para una buena demulsificación. La demulsificación también ocurre en condiciones no estáticas, con agitación orbital o vaivén. El consorcio también fue capaz de demulsificar emulsiones de sentinas reales. La identificación bacteriana mostró una gran diversidad bacteriana (índices de Shannon: 4,62, índice de Simpson: 0,89), y a los géneros *Planktosalinus*, *Marinobacter*, *Alcanivorax* y a *PYR10D3* como mayoritarios.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos son muy promisorios para profundizar y continuar con los estudios, para el ulterior aprovechamiento del consorcio en el tratamiento de emulsiones O/W en sentinas.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA Y GENES DE BIODEGRADACIÓN DE ALCANOS EN RESIDUOS DE SENTINAS DEL PUERTO DE MAR DEL PLATA

CORTI MONZÓN, Georgina 1 | PERESSUTTI, Silvia R2 | NISENBAUM, Melina3 | HOZBOR, Constanza4 | JUNCA, Howard5 | MURIALDO, Silvia1 I

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y AMBIENTE (INCITAA), FAC. INGENIERÍA, UNMDP 1; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PESQUERO (INIDEP), MAR DEL PLATA 2; INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y AMBIENTE (INCITAA), FACULTAD INGENIERÍA, UNMDP 3; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PESQUERO (INIDEP), MAR DEL PLATA 4; RG MICROBIAL ECOLOGY: METABOLISM, GENOMICS& EVOLUTION, MICROBIOMAS FOUNDATION 5

Introducción y Objetivos:

Los microorganismos son la fuente principal de biodiversidad en nuestro planeta y juegan un papel esencial en el mantenimiento de los ciclos biogeoquímicos y en diversos procesos como la depuración de ambientes contaminados. En los últimos años, las técnicas metagenómicas han brindado una nueva perspectiva sobre la diversidad microbiana y su funcionalidad en estos ambientes y su potencial genómico. Las aguas de sentina son residuos peligrosos generados en los barcos, que poseen un alto contenido de hidrocarburos (HC). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la composición de las comunidades microbianas presentes en residuos de sentinas mediante secuenciación masiva del gen ARNr 16S (Illumina), y evaluar la ocurrencia del gen biomarcador de degradación de alcanos *alkB* utilizando la técnica de PCR-DGGE, con la finalidad de estimar el potencial de biodegradación de estas comunidades

Materiales y Métodos:

Se identificaron las bacterias presentes en muestras de aguas de sentinas de un buque de altura (A), una lancha costera (C), una draga (D) y otra de agua de sentina estancada para su posterior tratamiento (M), todas provenientes del puerto de Mar del Plata, Argentina, mediante secuenciación del gen ARNr 16S. Por otro lado se evaluó la ocurrencia del gen *alkB* utilizando la técnica de PCR-DGGE.

Resultados:

Los resultados mostraron una gran diversidad bacteriana en las diferentes muestras de sentina, con predominancia de OTUs con géneros asociados a la degradación de HC, como *Thalassospira*, *Parvibaculum*, y *Alcanivorax* en sentinas A, C y M, y *Thiococcus* y *Pseudomonas* en D. Otros miembros como *Marinobacter*, *Dongia*, *Marispirillum* fueron ubicuos en las muestras. El gen *alkB* mostró variación en los perfiles de PCR-DGGE entre las diferentes muestras de sentinas. Se evidenció una diversidad genética considerable de genes *alkB* predominantes en las muestras de sentinas, con un total de 19 bandas diferentes detectadas. Las secuencias genéticas obtenidas de las bandas se afiliaron en el GenBank con genes descritos en cepas de los géneros *Rhodococcus*, *Marinobacter*, *Alcanivorax* y *Pseudomonas* y también con genes de bacterias no cultivables provenientes de muestras ambientales contaminadas con HC. A su vez, el estudio de diversidad por secuenciación masiva indicó la abundancia de géneros como *Sabulilitoribacter* y *Nisaea*, entre otros, para los cuales no se han descrito genes *alkB* o no se han asociado a degradación de HC. Estos géneros serían candidatos para estudios sobre la identificación de caminos metabólicos relacionados con procesos de biodegradación de HC.

Conclusiones:

Los resultados de este trabajo contribuyen al conocimiento sobre la diversidad y funcionalidad de comunidades bacterianas autóctonas claves para el tratamiento de estos residuos. Junto con

resultados previos obtenidos por nuestro grupo de trabajo, constituyen la base para la generación de nuevas tecnologías para el tratamiento de residuos de sentinas generados en el Puerto de Mar del Plata.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

¿DE DÓNDE OBTIENEN DIACILGLICEROL LAS MICOBACTERIAS? ESTUDIOS DE ENZIMAS CLAVES EN LA SÍNTESIS DE TRIACILGLICÉRIDOS

CROTTA ASIS, Agustina 1 | JACKSON, Mary2 | GRAMAJO, Hugo1 | GAGO, Gabriela1

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) 1; COLORADO STATE UNIVERSITY 2

Introducción y Objetivos:

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) es el agente causal de la enfermedad respiratoria denominada tuberculosis (TB). En el año 2017 esta bacteria fue responsable de más de 10 millones de casos nuevos de TB y 1.6 millones de muertes, posicionándose como la principal causa de muerte a nivel global debido a un agente infeccioso. Durante las primeras semanas de infección, Mtb se replica activamente hasta que la respuesta del sistema inmune surte efecto y la proliferación del patógeno es controlada. Mtb ingresa así en un estado de dormancia en el cual puede persistir durante períodos extensos resultando en una infección latente. Se estima que 1.7 billones de personas se encuentran infectadas, constituyendo un gran reservorio del patógeno. Durante el período de latencia, Mtb reduce su velocidad de multiplicación y acumula inclusiones lipídicas intracitoplasmáticas las cuales consisten principalmente en triacilglicéridos (TAG). Ha sido propuesto que los TAG sirven como reserva de carbono permitiendo un rápido restablecimiento del metabolismo cuando se resucita su crecimiento y también que podrían ser importantes para la homeostasis redox cuando hay baja actividad respiratoria. Además, los TAG representan una respuesta activa en Mtb que promueve la tolerancia a antibióticos tanto in vivo como in vitro. Todos estos descubrimientos sugieren que el metabolismo de TAG es crucial para el éxito de Mtb para sobrevivir dentro del huésped y resistir las terapias de antibióticos comunes. Es por esto que, el objetivo de este proyecto es elucidar el rol del paso enzimático clave que gobierna la decisión de Mtb de sintetizar TAG y, por lo tanto, enlentecer su crecimiento e ingresar al estado de latencia.

Materiales y Métodos:

Empleando como modelo de trabajo la bacteria *Mycobacterium smegmatis*, se construyeron cepas mutantes en dos putativas enzimas ácido fosfatídico fosfatasa (PAP). Las mismas catalizarían la síntesis de diacilglicerol (DAG), precursor directo de la síntesis TAG. Dichas cepas fueron crecidas bajo diferentes condiciones de estrés que simulan el estado de latencia. La consecuencia bioquímica-fisiológica de la mutación en la síntesis de novode lípidos se analizó mediante la incorporación de ¹⁴C-acetato y posterior extracción y separación de lípidos por cromatografía en capa delgada. A su vez, se realizaron ensayos transcripcionales y ensayos de proteómica a fin de comprender la implicancia de estas enzimas en la síntesis de TAG.

Resultados:

La sobreexpresión de putativas enzimas PAP produjeron un aumento en los niveles de DAG, sugiriendo que estas proteínas poseen actividad ácido fosfatídico fosfatasa. Las cepas mutantes fueron ensayadas en distintas condiciones de crecimiento, observándose una reducción en los niveles de TAG bajo estrés ácido. A su vez, se observaron cambios en el patrón de fosfolípidos. Los ensayos de proteómica sugieren que hay un reordenamiento metabólico a través del cual las cepas mutantes son capaces de obtener DAG a partir de vías metabólicas alternativas.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

INMOVILIZACIÓN DE WICKERHAMOMYCES ANOMALUS M10 PARA LA REMOCIÓN DE CR(VI)

CRUZ, Elías Leonardo | BERNAL, Anahí Romina | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucía Inés | PAJOT, Hipólito Fernando | FERNANDEZ, Pablo Marcelo

PROIMI

Introducción y Objetivos:

La biorreducción de Cr(VI) a la especie Cr(III), menos tóxica, es considerado como el proceso más efectivo, de bajo costo y una estrategia más ecoamigable para el tratamiento de aguas contaminadas con este metal. Bajo condiciones de inmovilización, las células microbianas son protegidas de la acción tóxica del cromato y, de este modo, mejoran la actividad celular en comparación con las células libres. La reducción de Cr(VI) por células inmovilizadas ha sido usada en diferentes sistemas como reactores de lecho empaquetado, biorreactores de membrana o columnas, operados en modo agitado, batch o continuo. Por esto, el objetivo del trabajo fue estudiar diferentes matrices para la inmovilización de la levadura autóctona *Wickerhamomyces anomalus* M10, para la reducción de Cr(VI) en reactor tipo Airlift.

Materiales y Métodos:

Se evaluaron distintas matrices de entrapamiento celular (Alginato de Calcio [Al-Ca], Polivinil Alcohol-Borato, Polivinil Alcohol-Nitrato, y Agarosa-Alginato) de acuerdo a su capacidad para retener las levaduras y mantener su integridad a las 48 h de incubación. Se optimizó la proporción adecuada de los componentes de la matriz seleccionada y las relaciones volumétricas entre las perlas y el medio de cultivo (V_p/V_m). Se escaló a reactor tipo Airlift diseñado con tubos concéntricos y loop interno con un volumen de trabajo de 3 L. Después del proceso, se calculó la concentración remanente de Cr(VI) por reacción colorimétrica. Se evaluó la viabilidad celular y la morfología y esfericidad de las perlas. Se trabajó a 25 °C y 250 rpm usando medio de cultivo Optimizado contaminado con 1 mM de Cr(VI).

Resultados:

Al-Ca fue la matriz seleccionada para trabajar ya que fue la más eficiente para la reducción de Cr(VI) (91,2%), presentó muy bajo desprendimiento celular ($42,5 \pm 1,89$ UFC.mL⁻¹) a las 48 h. La integridad de la perla se mantuvo por más de 30 d con un valor de esfericidad mayor a 0,95. Las proporciones

más efectivas para la reducción del metal, la retención celular y la integridad de la matriz fueron: alginato de calcio 4% / cloruro de calcio 5%. Se ensayó inoculando con el doble de biomasa en perlas, lo que produjo una pérdida importante al medio de $3,2 \times 10^3 \pm 56$ UFC.mL⁻¹. Cuando se trabajó con $V_p/V_m=1$ se alcanzó una reducción del 92,36% de Cr(VI) a las 24 h, disminuyendo el tiempo de remoción a la mitad. Este sistema fue capaz de reducir 4 pulsos sucesivos de 1 mM de Cr(VI) entre los 16 d. Cuando se probó el sistema en reactor tipo Airlift se obtuvo una reducción de 83,46% a las 24 h de cultivo.

Conclusiones:

De esta manera, *W. anomalus* M10 inmovilizada en perlas de Al-Ca, incrementó su eficiencia de remoción de Cr(VI) frente a un sistema de células libres, y pudo mantener su viabilidad por más tiempo. Esto trae importantes ventajas, como la reducción de mayor cantidad del metal reutilizando la biomasa y la independencia de sistemas de separación de biomasa/efluente final. SAMIGE - Fisiología Microbiana

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

ROL DEL REGULADOR DEL FLAGELO SUBPOLAR FLBD EN EL CONTROL DE LA SÍNTESIS DE LOS FLAGELOS LATERALES Y LA PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACARIDOS (EPS) EN BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS

DARDIS, Carolina | MENGUCCI, Florencia | ALTHABEGOITI, María Julia | LODEIRO, Anibal | QUELAS, Juan

Ignacio | MONGIARDINI, Elias INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos:

B. diazoefficiens es una bacteria de relevancia agronómica dada su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con soja. En vida libre, es capaz de sintetizar dos sistemas de flagelos independientes, que utiliza para nadar en medios líquidos. Uno de los sistemas presenta localización subpolar y expresión constitutiva mientras que el otro sistema es lateral y funciona de manera inducible. Ambos aportan al movimiento de natación y su uso es importante en la competitividad para nodular plantas de soja. Los flagelos son estructuras complejas compuestas por 40-50 proteínas, que se ensamblan en las membranas de la bacteria. Este proceso requiere de una regulación estricta debido al alto costo energético que conlleva su síntesis y mantenimiento. Esta regulación generalmente ocurre en una cascada jerárquica y puede implicar 3 o 4 etapas. En cada etapa pueden estar involucrados uno o dos reguladores transcripcionales o posttranscripcionales, que controlan la expresión temporal de las proteínas necesarias. En nuestro laboratorio hemos caracterizado la cascada regulatoria de la síntesis del flagelo subpolar de *B. diazoefficiens* USDA110. Mediante mutagénesis sitio-dirigida en uno de los reguladores de clase II (FlbD) y ensayos de RT-qPCR, pudimos determinar que FlbD está involucrado en el control de la transcripción de los

genes que codifican los componentes de la parte media de la estructura del flagelo (bastón distal y gancho). Sin embargo, este mutante presentó otros fenotipos que no están relacionados de manera directa al control de la síntesis del flagelo y que se presentan en este trabajo.

Materiales y Métodos:

La cepa "Delta"FlbD se obtuvo en un trabajo previo (Dardis, 2019). La purificación de flagelinas de sobrenadante de cultivo se realizó por precipitación con polietilenglicol. El aislamiento de ARN mensajero y su cuantificación por qPCR se realizó por métodos estándares de biología molecular. La determinación de biofilm en tubo de vidrio se realizó según Dardis (2019). Para la cuantificación de EPS se utilizó el método de Antrona.

Resultados:

Además de controlar ciertos genes del sistema del flagelo subpolar, se observó que la cepa "Delta"FlbD presentó: -mayor expresión del sistema del flagelo lateral, evidenciado por la cantidad de flagelinas recuperadas de sobrenadantes de cultivo. -mayor número de copias del ARNm que codifica el regulador maestro del sistema de flagelos laterales lafR. -colonias más mucosas y mayor producción de exopolisacáridos (EPS). -retraso en la cinética de adhesión a tubos de vidrio, como medida de la capacidad de formar biofilm.

Conclusiones:

Es posible que el regulador de clase II del flagelo subpolar, FlbD, se encuentre también involucrado en la coordinación de la síntesis entre ambos sistemas flagelares y, al mismo tiempo, actúe como nexo en la señalización de la transición entre el estado planctónico (móvil) y el estado de biofilm. Bibliografía: Dardis C., Tesis doctoral, UNLP (2019).

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE NUEVOS DERIVADOS DE OLIGOESTIRILBENZENOS EN CANDIDA TROPICALIS

DE LERA GARRIDO, Fernando J.1 | QUINTEROS, Melisa2 | TOLOSA, Juan3 | GARCÍA MARTÍNEZ, Joaquín C.4 | PARAJE, María Gabriela5 | PAEZ, Paulina 6

FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA / CRIB 1; CAT. MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA /CONICET, IMBIV. 2; FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA / CRIB 3; FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA / CRIB 4; CAT. MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA /CONICET, IMBIV. 5; DEPTO. DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, FCQ, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA /CONICET, UNITEFA. 6

Introducción y Objetivos:

Desde los años 80 se viene evidenciado una disminución en el desarrollo de nuevos antimicrobianos de aplicación clínica, con un escaso crecimiento del abanico terapéutico contra afecciones fúngicas. Sin embargo, en los últimos años el aumento de la incidencia de las candidiasis y su impacto en la

morbi-mortalidad viene asociado al incremento de la resistencia a los tratamientos actuales por diferentes mecanismos, donde cepas de *Candida albicans* han incrementado su prevalencia. En este trabajo se ha evaluado cómo con la modificación discreta de estructuras derivadas de oligoestirilbenceno (OSB), pueden generar actividad antifúngica contra *Candida tropicalis*.

Materiales y Métodos:

La síntesis de los diez dendrímeros candidatos a evaluar se realizó utilizando la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons obteniendo una estructura rígida y conjugada en el núcleo, que concede excelentes propiedades fluoroscópicas. Así los cambios en la periferia, y las propiedades derivadas, serán las únicas variables en estudios de correlación entre la estructura y la actividad. Posicionando aminas cuaternizadas, diferentes azoles, o ácidos bóricos; se diversificaron las longitudes de onda espectroscópicas y se exploraron distintos grupos funcionales que ya han sido descritos por su potencial acción antifúngica, en la búsqueda de los mejores candidatos. La determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) se realizó siguiendo los estándares del Clinical and Laboratory Standards Institute "M27 4Th ed." sobre *C. tropicalis* NCPF 3111. Partiendo de un cultivo "overnight" se preparó un inóculo 0,5 según escala McFarland que se diluyó 1:1000 en RPMI, los compuestos se disolvieron en la cantidad mínima necesaria de dimetilsulfóxido (DMSO). Diluciones seriadas de los compuestos en RPMI (0,98 µg/ml a 2000 µg/ml) se añadieron en una microplaca de 96 pocillos, tras lo que se adicionó 100 µl del inóculo y se incubó 48 h a 37 °C. Además, se realizaron las correspondientes curvas de muerte durante 24 h partiendo de un inóculo de 106 UFC/ml.

Resultados:

La CIM y CFM para los cuatro compuestos con óptima solubilidad en medio de cultivo fue de 32 µg/ml o de 500 µg/ml, dependiendo del OSB. En las curvas de muerte se observó a las 24 h una reducción de tres órdenes de magnitud con respecto al inóculo inicial.

Conclusiones:

Los resultados mostraron que, aunque un importante factor limitante de algunos compuestos fue su baja solubilidad en DMSO y/o medios acuosos, aquellos que lo superan son excelentes candidatos para continuar su estudio en células planctónicas y sobre biofilms en esta u otras especies levaduriformes

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE UN BIOEMULGENTE PRODUCIDO POR BACILLUS ATROPHEAUS

DELFINI, Claudio Daniel 1 | COLIN, Verónica Leticia² | VILLEGAS, Liliana Beatriz¹

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. 1; PROIMI 2

Introducción y Objetivos:

Los emulsionantes o emulgentes constituyen una categoría de compuestos anfifílicos, generalmente de naturaleza polimérica, capaces de solubilizar moléculas hidrofóbicas. Los emulgentes microbianos o bioemulgentes, se encuentran en diversos recursos naturales y pueden ser sintetizados por

microorganismos en respuesta a diferentes estímulos ambientales. Estas biomoléculas tienen múltiples ventajas en comparación con sus homólogos de origen sintético: mayor biodegradabilidad, baja toxicidad, diversidad estructural, y la posibilidad de síntesis de novo a partir de materias primas baratas, etc. La función de los bioemulgentes está estrechamente relacionada con su dualidad estructural, lo que hace posible su uso en diversos sectores biotecnológicos, incluyendo la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, o en la recuperación de petróleo, la remoción de metales pesados de aguas o suelos contaminados. El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de un bioemulgente por *Bacillus atropheus* PA14 y caracterizar parcialmente la naturaleza química del bioproducto.

Materiales y Métodos:

Bacillus atropheus PA14 se aisló de guano de murciélago y demostró en estudios anteriores poseer actividad quitinasa y antifúngica contra numerosos hongos fitopatógenos. La producción de bioemulgente por esta cepa se evaluó en el medio Standart Nutrient (g/L: NaCl 6; peptona 15; extracto de levadura 3; glucosa 1). La bacteria se incubó a 30°C y a 200 rpm durante 7 días, tomando muestras de cultivo cada 24 h. Se determinó la actividad emulgente en los sobrenadantes obtenidos por centrifugación (10 min a 10.000 g), por medio del índice de emulsificación sobre querosén luego de 24 h de reposo (E24). Al 7th día, se midió nuevamente la altura de la emulsión para determinar la estabilidad de la misma respecto al E24. Para estimar la naturaleza del bioemulgente, el sobrenadante se filtró a través de una membrana de celulosa (cut-off = 14,000 Da) durante 16 h a 4°C. El concentrado obtenido se disolvió en agua destilada y se sometió a tratamientos con: 30 U/mg de proteinasa K (4h a 37°C) para estimar la naturaleza proteica del bioemulgente, 100 U/mg de la lipasa comercial de *Candida rugosa* (1 h a 37°C) para investigar la presencia de lípidos, e hidrólisis ácida (a 10 min a 100°C) para determinar la presencia de azúcares. Después de cada tratamiento se determinó el E24 residual considerando como 100% al E24 de la muestra sin tratamiento.

Resultados:

La máxima actividad emulgente se observó al 4th día de cultivo, con un E24 de 60%. Luego de 7 días de reposo, se determinó nuevamente la emulsión obteniendo una estabilidad del 90%. Finalmente, los tratamientos con proteinasa K y la lipasa comercial, no tuvieron efectos significativos sobre el E24, el cual se mantuvo constante. Sin embargo, la hidrólisis ácida afectó la actividad emulgente en un 100%.

Conclusiones:

Estos resultados demuestran la producción de un compuesto emulgente estable por una cepa ambiental, el cual podría ser un polisacárido.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

BIOSÍNTESIS DE BUTIRATO EN CEPAS DE THERMOANAEROBACTERIUM

DÍAZ PEÑA, Rocio 1 | EGOBURO, Diego1 | MÉNDEZ, Beatriz2 | PETTINARI, María Julia3

IQUIBICEN 1; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UBA 2; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET 3

Introducción y Objetivos:

En las últimas décadas, el desarrollo de biocombustibles como el butanol y el etanol, ha ganado un gran interés como alternativa a los combustibles fósiles que generan grandes emisiones de CO₂ y utilizan un recurso no renovable. Estos compuestos son sintetizados por algunas bacterias anaerobias como *Clostridium acetobutylicum* como producto de fermentación. Desde un punto de vista biotecnológico la utilización de organismos termófilos presenta ventajas por sobre los mesófilos, dado que su uso reduce los costos en la fermentación ya que no requieren refrigeración. Las bacterias del género *Thermoanaerobacterium* son anaerobias y termófilas, y algunas especies son capaces de producir etanol y butanol. Sin embargo, sus vías metabólicas no se conocen en profundidad. Por esa razón, en este trabajo se realizó un análisis comparativo de las vías de producción de ácidos y alcoholes en las cepas secuenciadas del género *Thermoanaerobacterium*, y se caracterizó experimentalmente el perfil metabólico de dos cepas de *T. thermosaccharolyticum*.

Materiales y Métodos:

Se realizó un análisis genómico comparativo utilizando las plataformas RAST annotation Server, y BLAST. Las cepas *T. thermosaccharolyticum* GSU 5 y *T. thermosaccharolyticum* DSM 571 se cultivaron durante 48 h en condiciones anaeróbicas y los metabolitos generados se midieron mediante HPLC y GC.

Resultados:

En todas las cepas analizadas: *T. thermosaccharolyticum* (GSU5, DSM 571, M5, M0975, TG57) y en *T. sp. RBIITD* se encontraron los genes involucrados en la síntesis de butiril-coA organizados en el operón *bcs*. Con respecto a la síntesis de butirato en estas cepas el butirato se sintetiza mediante la conversión de butiril-CoA catalizada por BUT (Butyryl-CoA:acetate CoA transferase) utilizando acetato. En contraste, *T. xylanolyticum* LX-11, *T. saccharolyticum* JW/SL-YS485, *T. saccharolyticum* NTOU1, *T. aotearoense* SCUT27 y *T. sp. PSU-2* no poseen los genes del operón *bcs*. Si bien presentan los genes que codifican para las enzimas PTB1 (Phosphate butyryltransferase) y BUK (Butyrate kinase), las cuales están involucradas en la vía de síntesis de butirato más conocida, estas cepas no son capaces de sintetizar butirato debido a la ausencia de algunos genes clave, por lo cual se postula que PTB1 y BUK estarían involucradas en la degradación de aminoácidos de cadena ramificada. Por otro lado, ninguna de las cepas analizadas presenta los genes que codifican las enzimas involucradas en la síntesis de acetona. Consistentemente, no se observó producción de acetona en las cepas GSU5 y DSMZ 571.

Conclusiones:

En este trabajo se logró evaluar las vías de producción de butanol, butirato y acetona en distintas cepas de *Thermoanaerobacterium*. Se encontró que las cepas capaces de producir butirato poseen la vía de BUT. Además se observó que las cepas del género *Thermoanaerobacterium* no producen acetona como producto de fermentación, a diferencia de *C. acetobutylicum*, que produce acetona, butanol y butirato por la vía ABE



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

PERSPECTIVAS PARA LA UTILIZACIÓN DE LA BIOMASA DE CIANOBACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO COMO FERTILIZANTE ORGÁNICO Y ACONDICIONADOR DE SUELOS.

DO NASCIMENTO, Mauro | BATTAGLIA, Marina | SÁNCHEZ RIZZA, Lara | AMBROSIO, Rafael | ARRUEBARRENA DI PALMA, Andrés | CURATTI, Leonardo

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC - CONICET)

Introducción y Objetivos:

El incremento de la población mundial genera una demanda creciente de alimentos, y para cubrir esta demanda, la utilización de mayores cantidades de fertilizantes, especialmente nitrogenados, ha sido una de las estrategias más utilizadas para incrementar los rendimientos de las cosechas. No obstante, el manejo inapropiado implica consecuencias perjudiciales para el medio ambiente y la salud humana. Promover la fijación biológica del nitrógeno (FBN) puede significar un aporte reduciendo la dependencia de fertilizantes nitrogenados, sin embargo, este proceso sólo podría cubrir una parte de la demanda requerida en la agricultura intensiva. La obtención de biomasa a partir de microorganismos que realicen la FBN para su utilización como biofertilizantes, es una alternativa promisoría especialmente si se puede acoplar al reciclado y mejoramiento de desechos agroindustriales. En este estudio se propone producir un biofertilizante orgánico y acondicionador de suelos, utilizando la biomasa de una cianobacteria fijadora de nitrógeno, obtenida a partir del reciclado y mejorado de la composición nutricional de un desecho agroindustrial.

Materiales y Métodos:

La cianobacteria fijadora de nitrógeno *Nostoc* sp. M2 se cultivó a partir de la vinasa residual de la fermentación alcohólica de un sacarificado de biomasa algal. Las deficiencias en nitrógeno y fósforo en la vinasa pudieron ser suplementadas mediante la FBN y el agregado de harina de hueso respectivamente. La biomasa obtenida fue desecada y molida para su análisis como fertilizante de plantas de interés agronómico en suelos con diferentes contenidos de materia orgánica y diferentes regímenes hídricos. Además, se evaluó la persistencia de nutrientes y capacidad de retención de agua.

Resultados:

El cultivo de *Nostoc* a partir de la vinasa alcanzó rendimientos similares a los obtenidos en medios de cultivo de referencia, y permitió la liberación de una considerable cantidad de exopolisacáridos en el medio (superiores al 20% de la biomasa celular). La biomasa pudo sustituir la urea como fertilizante en suelos con bajo contenido de nutrientes, sosteniendo el crecimiento de plantas de trigo, maíz y poroto, especialmente en condiciones de riego esporádico. Adicionalmente, se comprobó que la liberación de nitrógeno de la biomasa es más lenta que la urea, mejorando el aprovechamiento del mismo. La aplicación de la biomasa en suelos proporciona una mayor capacidad de retención de agua, previniendo el marchitamiento en plantas de trigo y permitiendo que puedan soportar periodos de estrés hídrico en sequía.

Conclusiones:

Este estudio apoya la conveniencia de la producción de biomasa como biofertilizante de plantas y acondicionador de suelos, mejorando las condiciones del mismo especialmente en suelos pobres en materia orgánica y/o expuestos a condiciones de desecación o regímenes de precipitaciones semiáridas. A su vez, propone un procedimiento para reciclar y revalorizar desechos agroindustriales acoplándolo a plataformas de producción de microalgas y cianobacterias.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

LA REGULACION NEGATIVA DE AGR MEDIADA POR ACIDO SALICILICO IMPIDE LA DISPERSION DE LA BIOPELICULA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

DOTTO, Cristian 1 | LOMBARTE SERRAT, Andrea2 | SORDELLI, Daniel2 | BUZZOLA, Fernanda2

INGEBI 1; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICA (UBACONICET)2

Introducción y Objetivos:

S. aureus es un patógeno que posee la capacidad de formar biopelículas sobre diferentes superficies. El sistema agr impacta en la dispersión de la biopelícula al activar la expresión de factores disgregantes como proteasas extracelulares, d-hemolisinas (codificada por el efector del sistema, RNAIII) y modulinas solubles en fenol (PSM). El factor transcripcional AgrA (codificado en el locus agr) no sólo induce su propia expresión y la de todo el sistema agr, sino también la de psma y psm β . El ácido salicílico (SAL), biometabolito formado tras la ingesta de aspirina, es capaz de modificar la virulencia de distintas especies bacterianas y de interactuar con factores de transcripción. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del SAL sobre agr y su impacto en la biopelícula de *S. aureus*.

Materiales y Métodos:

El estudio de acoplamiento molecular entre el dominio LytR de AgrA (PDB: 3BS1) y el SAL se realizó con los programas AutoDock4 y AutoDock Vina. Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron con el módulo Particle Mesh Ewald Molecular Dynamics. Los niveles transcripcionales de los genes RNAIII, psma, psm β , agrA y agrC se cuantificaron por retrotranscripción seguida de PCR de tiempo real, en biopelículas expuestas a 2 mM de SAL. Las biopelículas se tiñeron con cristal violeta y cuantificaron por espectrofotometría. Las actividades proteolíticas y hemolíticas se cuantificaron midiendo el diámetro de los halos formados luego de 18 hs de incubación a 37°C de placas TSA suplementadas con leche o sangre de carnero, respectivamente, sembradas con sobrenadantes de biopelículas maduras.

Resultados:

El estudio in silico sugiere que el SAL interactuaría con AgrA en cuatro sitios, siendo el sitio 1 el de mayor afinidad (-4,30 kcal/mol). Los estudios de dinámica molecular, indicaron que el SAL ocuparía el sitio 4 con mayor frecuencia. Se determinaron niveles significativamente bajos de los principales

transcriptos del sistema (*agrA*, *agrC* y *RNAIII*) y de *psm* en presencia de SAL. El SAL disminuyó la producción de d-hemolisinas ($3,33\text{mm}\pm 0,17$ vs $2,17\text{mm}\pm 0,17$; $p < 0,05$ t test) y de proteasas extracelulares en biopelículas maduras de *S. aureus* ($7,7\text{mm}\pm 0,2$ vs $4,5\text{mm}\pm 1,2$; $p < 0,05$ t test) indicando que la actividad del sistema *agr* fue afectada negativamente. Se determinó que la mutante *agr* formó mayor biopelícula respecto a la cepa salvaje Newman (*Aagr* 1,19 vs *Awt* 0,46; $p < 0,05$). El SAL impidió la dispersión de la biopelícula madura de la cepa salvaje y no alteró la producción de biopelícula en la mutante *agr* siendo ésta semejante a la observada cuando la cepa Newman se trató con SAL, evidenciando que el SAL ejerce un efecto sobre *agr*.

Conclusiones:

En conclusión, el SAL impidió la dispersión de la biopelícula de *S. aureus* al disminuir la expresión del sistema *agr*, posiblemente a través de un impedimento estérico entre *AgrA* y sus secuencias blanco. La atenuación en la expresión del sistema *agr* podría evitar la diseminación de las bacterias desde la biopelícula hacia otros sitios del hospedador.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

PRODUCCIÓN DE ACTIVIDADES LIGNINOLÍTICAS POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE ORUJOS DE ACEITUNA. EFECTO DE DISTINTAS VARIABLES PARA SU OPTIMIZACIÓN

DURÁN, Ludmila B | JIMENEZ PRIOR, Fátima A | MARTÍN, María Lucía | VALLEJO, Martha D | RODRIGUEZ, Laura | BUSTOS, Luciana

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ

Introducción y Objetivos:

El alperujo (AL) es un subproducto que se obtiene del proceso de extracción de aceite de oliva en sistemas de extracción de dos fases. El AL, es semisólido, y su composición en peso es: agua 83-96%, materia orgánica 3.5-15% y sustancias minerales 0.5-2%. La fracción orgánica incluye azúcares, proteínas, ácidos orgánicos, lípidos, pectinas y compuestos fenólicos (CF). Debido al contenido de CF, frecuentemente, el AL es considerado como tóxico. Además, por requerimiento legales, es necesario realizar un tratamiento previo a su disposición final. La Fermentación en Estado Sólido (FES) es un tratamiento que posibilita la detoxificación y valorización del AL. En ensayos FES preliminares, con medios de cultivo preparados con orujo de aceituna (extraído de AL) y hongos filamentosos aislados de AL, se determinó crecimiento de microorganismos, consumo de CF y producción de enzimas ligninolíticas. En el presente trabajo, el objetivo fue determinar el efecto de distintas variables en la producción de Lignin-Peroxidasa (LiP) y Lacasa (Lac).

Materiales y Métodos:

Para ello se realizó un diseño estadístico de Plackett-Burman (DPB) con 10 variables, en 2 niveles (bajo (-) y alto (+)). Las variables ensayadas fueron X1: tiempo de cultivo (3 y 8 días); X2: extracto acuoso de AL (0 y 7 %p/p); X3: extracto acuoso de orujo de uva tinta (0 y 7 %p/p); X4: alcohol veratrílico (0 y 0.025 %p/p); X5: Tween 0.01% (0 y 0.02 %p/p); X6: SO₄Cu (0 y 0.1 %p/p); X7: Glucosa (0 y 2 %p/p); X8: SO₄NH₄ (0 y 3.7 %p/p); X9: nutrientes Na, P, Cl, K, Mg, Fe (0 y 10 ml/100 g); X10: contenido inicial de agua (55 y 70%). Las respuestas estudiadas fueron LiP y Lac. Los 12 ensayos FES indicados por el DPB, se realizaron en cajas de Petri, por triplicado, cultivados a 27°C. El medio de cultivo sólido se preparó con orujo de aceituna (70 % p/p) y escobajo de uva (30% p/p), más el agregado de las sustancias previstas en el DPB. Las enzimas se cuantificaron por espectrofotometría, utilizando alcohol veratrílico y ABTS, como sustratos para LiP y Lac, respectivamente.

Resultados:

De las respuestas estudiadas para la producción de Lac, el ensayo mostró que el incremento en las variables X1, X2, X6 y X9, tuvo efecto positivo, mientras que el resto de las variables, mostraron un efecto negativo cuando pasaron del bajo al nivel alto. Para el caso de la LiP, las un incremento en las variables X3, X4, X7 y X8, tuvo efecto positivo; el resto de las variables, efecto negativo. Para la producción de ambas actividades enzimáticas, el incremento en la variable X10 (contenido de agua) tuvo efecto negativo; mientras que un incremento en X1, tuvo efecto positivo.

Conclusiones:

La principal conclusión fue que las variables que afectaron positivamente la producción de una actividad enzimática, no tuvieron el mismo efecto en la producción de la otra actividad enzimática. Los próximos ensayos, estarán orientados a optimizar las variables cuyos efectos fueron coincidentes para ambas actividades enzimáticas.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

MLRB, UN REGULADOR TRANSCRIPCIONAL ESPECÍFICO DE SALMONELLA INVOLUCRADO EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS Y EN LA VIRULENCIA

ECHARREN, María Laura | SONCINI, Fernando

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR

Introducción y Objetivos:

Salmonella es agente causal de gastroenteritis y fiebre entérica, constituyendo un problema grave para la salud pública. Un aspecto clave del ciclo de vida de Salmonella que contribuye a su alta prevalencia es su capacidad para formar biopelículas, comunidades inmersas en una matriz

extracelular que les permite adherirse entre sí y a diversas superficies. En Salmonella, la matriz extracelular está compuesta principalmente de curli y celulosa cuya síntesis se controla principalmente a nivel transcripcional mediante la expresión de su regulador maestro, CsgD. La expresión de este activador transcripcional está a su vez controlada por varios factores de transcripción que integran diferentes señales ambientales. Mediante análisis in silico y estudios in vitro identificamos un factor de transcripción específico de Salmonella, MlrB, que pertenece a la familia MerR de reguladores de respuesta en S.Typhimurium y presenta homología con MlrA, principal activador de CsgD. Previamente, demostramos el rol de este regulador en la formación de biopelículas, en la activación del regulón Csg y por lo tanto la transición al estilo de vida sésil. Debido a que el gen que codifica para MlrB está ubicado en la "Isla de Patogenicidad de Salmonella 2" (SPI-2), que codifica diversos factores de virulencia necesarios para la supervivencia intracelular de este patógeno, nos planteamos como objetivo evaluar el rol de MlrB en el proceso infeccioso de Salmonella.

Materiales y Métodos:

Se evaluó la expresión de MlrB en condiciones de cultivo que inducen la SPI-2 utilizando fusiones transcripcionales con el reportero lacZ y fusiones traduccionales a 3xFLAG. A su vez, evaluamos el rol de mlrB en la sobrevivencia de Salmonella en macrófagos RAW 264.7 mediante ensayos de protección de la gentamicina. Además, se utilizó un modelo murino para analizar el efecto de MlrB en el desarrollo de infección sistémica.

Resultados:

Determinamos que la expresión de MlrB es máxima en condiciones relevantes para la infección, en concordancia con la regulación observada para los miembros de la SPI-2. Además, establecimos que MlrB es requerida para la sobrevivencia de Salmonella dentro de macrófagos. Finalmente, los resultados obtenidos en el modelo en ratones sugieren la participación de este regulador en la infección sistémica por Salmonella.

Conclusiones:

Nuestros resultados nos permiten postular a mlrB como un miembro de la SPI-2 que codifica para un factor transcripcional capaz de percibir el entorno intracelular y requerido para sobrevivencia intracelular de Salmonella. En conjunto, estos hallazgos permiten situar a MlrB como un enlace prometedor entre la modulación de la virulencia y la producción de biopelículas.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

MANIPULACIÓN DE REGULADORES GLOBALES PARA LA SÍNTESIS DE BIOPRODUCTOS EN ESCHERICHIA COLI

EGOBURO, Diego | DÍAZ PEÑA, Rocio | ALVAREZ, Daniela Soledad | GODOY, Manuel | MEZZINA, Mariela | PETTINARI, Julia

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET

Introducción y Objetivos:

La regulación transcripcional en *Escherichia coli* comprende una red de reguladores tanto específicos como globales. Estos últimos controlan operones relacionados con el metabolismo central afectando tanto el flujo de carbono como el poder reductor. Entre los diferentes reguladores globales que afectan el metabolismo central, en este trabajo estudiamos a ArcA, CreC, Cra y Rob. ArcA es conocido como uno de los principales reguladores del metabolismo del carbono en respuesta a disponibilidad de oxígeno, mientras que CreC responde tanto a la fuente de carbono como a las condiciones de aireación. La mayoría de los genes diana de Cra codifican enzimas involucradas en el metabolismo central del C. Rob está relacionado con la tolerancia a solventes y afecta genes del metabolismo de la glucosa y el ciclo de Krebs. La manipulación de reguladores globales es una de las estrategias utilizadas para la construcción de cepas adecuadas para la síntesis de bioproductos. Sin embargo, los efectos pleiotrópicos de estos reguladores no siempre son predecibles, ya que pueden variar en diferentes condiciones y usualmente son cepa-dependientes. Este trabajo tuvo como objetivos analizar y comparar los efectos de estos reguladores sobre el metabolismo y la síntesis de biocompuestos.

Materiales y Métodos:

Se utilizaron mutantes de delección de *E. coli* BW25113, cuyo genoma está secuenciado. La producción de compuestos endógenos (ácidos orgánicos y etanol) y no endógenos (Polihidroxi butirato y 1,3-propanodiol) fue evaluada en diferentes condiciones de aireación y medios de cultivo (M9 y LB) suplementados con glucosa o glicerol. Además, estudiamos los efectos de cada mutación sobre la tolerancia a estrés en cultivos en M9 glucosa en condiciones de baja y alta aireación. Los resultados fueron analizados mediante estadística multivariada (Análisis de Componentes Principales y de Agrupamiento Jerárquico).

Resultados:

La comparación simultánea de los efectos de cada regulador en las diferentes condiciones de crecimiento permitió discriminar fenotipos particulares que pueden ser atribuidos a cada mutante y evidenció que Cra y ArcA son los reguladores con los efectos más importantes sobre el metabolismo bacteriano. Estas dos cepas resultaron ser los contextos genéticos más adecuados para la síntesis de succinato y 1,3-propanodiol (1,3-PDO), respectivamente. La mutante "Delta"cra fue adicionalmente modificada para incrementar la producción de este ácido, logrando un aumento del 80% con respecto a la cepa salvaje. La producción de 1,3-PDO en la cepa "Delta"arcA fue optimizada sobreexpresando phaP, lo cual permitió obtener 23,94 g.L⁻¹ de diol (100% más que cepa salvaje) con una productividad de 0,5 g.L⁻¹.h⁻¹, en cultivos en biorreactor.

Conclusiones:

Como conclusión, logramos discriminar fenotipos particulares para cada mutante a pesar del efecto pleiotrópico de estos reguladores globales, revelando además que las cepas "Delta"cra y "Delta"arcA son las más adecuadas para la síntesis de compuestos de interés industrial. Oral SAMIGE VI 9

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ESTUDIO DEL ROL DE LA PROTEINA TIPO PII EN MICOBACTERIAS

ENSINCK, Delfina 1 | GAGO, Gabriela1 | GERHARDT, Edilusa2 | HUERGO, Luciano2 | GRAMAJO, Hugo1 | DIACOVICH, Lautaro1

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR 1; INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO-UFPR 2

Introducción y Objetivos:

En bacterias, las proteínas PII integran señales fisiológicas y regulan diversos blancos mediante interacciones proteína-proteína. Su acción moduladora es consecuencia de su capacidad de sensar tres metabolitos intracelulares claves: ATP, ADP, y alfa-cetoglutarato. Además, estas proteínas pueden sufrir modificaciones covalentes reversibles, como uridilación. En diversos microorganismos se ha determinado que las proteínas PII intervienen en el metabolismo y asimilación del nitrógeno, regulando la actividad enzimática de la glutamato sintetasa, la respuesta transcripcional de genes a través de la interacción con factores de transcripción, y el influjo de amonio a través de canales transmembrana. Recientemente, se ha observado que proteínas PII son capaces también de regular el metabolismo del carbono al interactuar con el dominio transportador de carboxi-biotina (BCCP) de las enzimas acetil-CoA carboxilasas (ACC). Las ACC catalizan un paso esencial en la síntesis de los ácidos grasos, carboxilando acetil-CoA, produciendo el precursor malonil-CoA. *Mycobacterium tuberculosis*, el agente etiológico de la tuberculosis, y otras micobacterias codifican para una única proteína tipo PII, cuyo rol aún no se ha identificado. Estas bacterias además poseen varios complejos acil-CoA carboxilasas (ACCSa) con especificidad de sustrato relajada. Estas enzimas proveen los sustratos para la biosíntesis de ácidos grasos, ácidos micólicos y ácidos grasos multimetil-ramificados, que forman su inusual membrana externa. Por esta razón, nos proponemos como objetivo estudiar la interacción entre la proteína PII y las ACCSa de *M. tuberculosis* y analizar su impacto sobre la fisiología de la bacteria. Además, nos planteamos continuar con el estudio de esta proteína evaluando su posible rol en la asimilación de nitrógeno y en la regulación transcripcional.

Materiales y Métodos:

La interacción de la proteína PII con las ACCSa micobacterianas se comprobó mediante ensayos de co-purificación a partir de extractos de *Mycobacterium smegmatis* que sobreexpresan la proteína PII de *M. tuberculosis*. El efecto sobre la actividad ACCSa fue evaluado mediante ensayos de actividad ACCSa en presencia de PII, siguiendo la incorporación de bicarbonato marcado radiactivamente. El ensayo se realizó tanto para un complejo ACCSa purificado in vitro, como a partir de extractos proteicos de *M. SMEGMATIS* en diferentes condiciones de amonio o mediante la sobre-expresión de la proteína PII.

Resultados:

En este contexto, demostramos que existe una interacción entre la proteína PII y la subunidad AccA3 que contiene el dominio BCCP de la ACCSa de *M. tuberculosis*. Sin embargo, su interacción parecería no afectar los niveles de actividad ACCSa, usando tanto enzimas purificadas, como extractos proteicos en las diferentes condiciones.

Conclusiones:

De acuerdo con estos resultados, proponemos que la proteína PII no estaría involucrada en la modulación del metabolismo del carbono mediante su interacción con las ACCSa en micobacterias.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

EL PANGENOMA DE *CAMPYLOBACTER FETUS*: SU EXPLORACIÓN CON VISTAS A LA OPTIMIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE LA CAMPILOBACTERIOSIS GENITAL BOVINA Y LA CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE LAS CEPAS ARGENTINAS

FARACE, Pablo Daniel 1 | IRAZOQUI, Matías² | MORSELLA, Claudia³ | CRAVERO, Silvio¹ | TRANGONI, Marcos¹ | PAOLICCHI, Fernando³ | AMADIO, Ariel² | GIOFFRÉ, Andrea¹

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA 1; ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA, INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) 2; DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, LAB. DE BACTERIOLOGÍA, INTA EEA BALCARCE

Introducción y Objetivos:

Campylobacter fetus es un patógeno que produce trastornos intestinales e infecciones sistémicas severas en humanos. En animales, está asociado a infertilidad y abortos en vacunos, enfermedad conocida como Campilobacteriosis Genital Bovina (CGB). Se han identificado tres subespecies de *C. fetus*: *C. fetus fetus* (Cff), *C. fetus venerealis* (Cfv) incluyendo su biovar *C. fetus venerealis* biovar *intermedius* y *C. fetus testudinum* (Cft). Cff, Cfv y Cfv_i se asocian a mamíferos mientras que Cft se asocia a reptiles. Gracias a los avances en los métodos de NGS (Next Generation Sequencing), en la actualidad se cuenta con valiosa información para lograr un conocimiento pormenorizado de los distintos patógenos. El Pangenoma puede dividirse para su estudio en Core-genoma (común a todas las cepas analizadas) y genoma accesorio, con múltiples aplicaciones. En este trabajo nos proponemos a partir del estudio del pangenoma, proporcionar un marco genómico comparativo y filogenético con el fin de caracterizar tanto las potenciales secuencias conservadas en la especie como también las posibles secuencias diferenciales entre las subespecies, estudiar las relaciones filogenéticas entre las distintas cepas de nuestro país e identificar nuevas regiones target para optimizar el diagnóstico de la CGB.

Materiales y Métodos:

Para el análisis se emplearon 66 secuencias genómicas disponibles en el NCBI y 165 secuencias disponibles en el EMBL-EBI. Adicionalmente, se secuenciaron 3 genomas de distintos aislamientos de campo locales de *C. fetus* mediante NGS, los cuales fueron dos *C. fetus fetus* y una *C. fetus venerealis* bv. *intermedius*. Los genomas fueron anotados con Prokka, y las anotaciones en formato GFF3 fueron utilizados como input para obtener el pangenoma de *C. fetus* (<https://sangerpathogens.github.io/Roary>). Se creó un alineamiento multifasta del core-genoma utilizando PRANK. RaxML v8.2.11 se utilizó con el parámetro GTRGAMMA para calcular un árbol de consenso con 1000

réplicas de bootstrap). Los resultados fueron visualizados con Phandango (<http://jameshadfield.github.io/phandango>) y, posteriormente se elaboró un heatmap para comparar de a pares a todas las cepas en cuestión utilizando la herramienta ggplot de RStudio.

Resultados:

Se obtuvo un filograma construido en base al core-genoma, el mismo no sostiene la separación en subespecies en *C. fetus* tal cual sugieren estudios previos y que las cepas argentinas están muy relacionadas filogenéticamente entre sí y con las cepas que circulan en el resto del mundo. El core-genoma de *C. fetus* esta constituido por 629 genes y el genoma accesorio por 4859 genes. El heatmap elaborado evidenció claramente la cercanía entre las subespecies Cff y Cfv, siendo significativas las diferencias entre estas y Cft, propia de reptiles.

Conclusiones:

Este estudio a partir de las secuencias de genomas completos y la disección del Pangenoma nos permitió incrementar el conocimiento bioinformático y filogenético de *C. fetus* tanto local como global y, orientará en el diseño de herramientas útiles para la identificación y diagnóstico del patógeno en Argentina y el mundo.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

PCR-L-CYS: UNA PCR-MULTIPLEX INNOVADORA PARA DETECTAR LA PRODUCCIÓN DE SULFURO DE HIDRÓGENO EN CAMPYLOBACTER FETUS Y CONTRIBUIR CON SU IDENTIFICACIÓN

FARACE, Pablo Daniel 1 | MORSELLA, Claudia² | CRAVERO, Silvio¹ | SIOYA, Bernardo¹ | AMADIO, Ariel³ | PAOLICCHI, Fernando² | GIOFFRÉ, Andrea¹

IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA 1; DEP. DE PRODUCCIÓN ANIMAL, LAB. DE BACTERIOLOGÍA, INTA EEA BALCARCE 2; ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA, INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA)

3

Introducción y Objetivos:

Campylobacter fetus es un patógeno que produce trastornos intestinales e infecciones sistémicas severas en humanos. En animales, está asociado a infertilidad y abortos en vacunos, enfermedad conocida como Campilobacteriosis Genital Bovina (CGB). Las diferencias fenotípicas entre la subespecie *Campylobacter fetus fetus* (Cff) y *Campylobacter fetus venerealis* (Cfv) permiten el diagnóstico diferencial de la CGB. La producción de sulfuro de hidrógeno es un rasgo exclusivo de Cff y *Campylobacter fetus venerealis* biovar *intermedius* (Cfvi). Dicho gas es producido a partir de L-cisteína y puede ser analizado bioquímicamente. La presencia de una delección en un transportador de L-cisteína interrumpe la producción de este gas en las cepas de Cfv, como se describió

anteriormente. En el presente trabajo, reportamos una nueva PCR-multiplex dirigida al operón que codifica al transportador de L-cisteína con el objetivo de contribuir con una herramienta molecular para la diferenciación de las subespecies de *Campylobacter fetus*.

Materiales y Métodos:

Se diseñaron oligonucleótidos para la PCR-multiplex utilizando el programa Unipro UGENE 1.31 (<http://ugene.net/>), con el fin de evaluar la presencia o ausencia de la delección y producir un patrón diferencial en el producto de amplificación. Se estudiaron 34 aislamientos obtenidos a partir de muestras clínicas bovinas. Todos los aislamientos se cultivaron en placas de agar Skirrow bajo condiciones de microaerofilia durante 72 h a 37°C y fue evaluada la producción de sulfuro de hidrógeno bioquímicamente. Posteriormente se realizó un estudio in silico empleando el programa PrimerMap (https://www.bioinformatics.org/sms2/primer_map.html) para el análisis de 35 secuencias de genomas completos de acceso público (NCBI) y 3 secuencias de cepas locales obtenidas por NGS en nuestro laboratorio, de esta manera se incrementó la diversidad de cepas estudiadas.

Resultados:

Se obtuvo un producto de 714 pb para las subespecies Cff y Cfvi, mientras que para Cfv se obtuvo un producto de 310 pb, correspondiendo este último caso a la delección parcial del operón. Se obtuvo una correlación perfecta entre la prueba bioquímica y la prueba desarrollada ($\kappa=1$). Asimismo, se obtuvo la misma correlación cuando se analizó in silico la performance de la PCR-multiplex.

Conclusiones:

En este trabajo demostramos que la PCR-L-Cys tiene la potencialidad de reemplazar a la prueba bioquímica de producción de sulfuro de hidrógeno actualmente empleada, constituyendo una herramienta valiosa para el diagnóstico diferencial de *Campylobacter fetus*.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

BÚSQUEDA DE DETERMINANTES DE RECONOCIMIENTO ENTRE HISTIDINA QUINASAS Y REGULADORES DE RESPUESTA HOMÓLOGOS DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

FERNANDEZ, Pilar 1 | RÉ, María Florencia¹ | DÍAZ, Alejandra R.² | DE MENDOZA, Diego¹ | MANSILLA, Cecilia¹

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) 1; DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA - UNS - BAHÍA BLANCA 2

Introducción y Objetivos:

Los sistemas de dos componentes (SDC) son vías de transducción de señales ampliamente distribuidos en bacterias. Están conformados por una histidina quinasa sensora (HQ) que cumple la función de percibir una señal externa y transmitirla al interior celular, y un regulador de respuesta (RR). La vía Des de *Bacillus subtilis* es un sistema de adaptación a bajas temperaturas, ampliamente estudiado en nuestro laboratorio, compuesta por la HQ DesK y el RR DesR. DesK percibe por medio sus segmentos transmembrana el descenso de la temperatura de crecimiento por debajo de los 25°C y se autofosforila. Posteriormente transfiere el fosfato a DesR y éste entonces se une al promotor Pdes, induciendo la transcripción del gen que codifica para una delta5-desaturasa. Hemos identificado en *B. subtilis* un SDC homólogo a DesK-DesR formado por la HQ YvfT y el RR YvfU. Este sistema regula la transcripción de dos genes, ubicados corriente arriba del mismo, que codifican para un putativo transportador ABC. Esta organización cromosomal se encuentra conservada en Firmicutes, incluyendo numerosas especies patógenas. La transcripción de estos genes también depende de temperatura y su región promotora está altamente conservada, conteniendo secuencias similares a las cajas de unión a DesR identificadas en Pdes. En estudios anteriores hemos determinado que las quinasas BA5598 de *Bacillus anthracis* y SA1313 de *Saphylococcus aureus* son capaces de reconocer a DesR in vivo, mientras que YvfT no lo reconoce. El objetivo de este trabajo consistió en probar in vitro la capacidad de autofosforilación de las HQs y de fosfotransferencia a su propio RR o cruzada con DesR. Además, nos planteamos identificar los aminoácidos involucrados en la interacción entre quinasas y reguladores.

Resultados:

Para este fin purificamos los dominios citoplasmáticos de las HQ y RR fusionados a colas de histidina, mediante cromatografía de afinidad. Mediante la reacción con ATP[32P] y separación en SDS-PAGE pudimos demostrar la autofosforilación de las HQ BA5598, SA1313 e YvfT y la posterior fosfotransferencia a los RR BA5597, SA1314 e YvfU respectivamente. Además, demostramos que las HQ que provienen de otras especies presentan fosforilación cruzada con DesR mientras que YvfT, que se encuentra en la misma especie, no lo fosforila. Mediante modelados moleculares generados a partir de las estructuras cristalográficas de DesKC y DesR realizamos una comparación de las interacciones entre HQ ortólogas y DesR, logrando identificar residuos aminoácidos esenciales para esta interacción.

Conclusiones:

Los SDC constituyen el grupo de genes parálogos más grande en bacterias. Han evolucionado para evitar la comunicación indeseada entre ellos y, por el contrario, les permiten a los microorganismos diversificar las señales percibidas utilizando una vía de transducción altamente conservada. En este trabajo comenzamos a elucidar cuales serían los factores que determinan la especificidad en los SDC homólogos a DesK-DesR.

The logo for 'Química Viva' features a blue square with a white downward-pointing triangle on the left, followed by the text 'Química Viva' in white on a blue background.

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

APLICACIÓN DE CRISPR PARA EL SILENCIAMIENTO GÉNICO DE LA PROTEASA LONB EN HALOFERAX VOLCANII

FERRARI, María Celeste 1 | SCHWARZ, Thandi2 | MARCHFELDER, Anita2 | DE CASTRO, Rosana1

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN 1;
DEPARTMENT OF BIOLOGY II, ULM UNIVERSITY, 89069 ULM 2

Introducción y Objetivos:

La proteasa ATP-dependiente Lon está conservada en los tres dominios de la vida y ha sido ampliamente estudiada en bacterias y eucariotas (LonA, enzima soluble). En las arqueas, Lon se encuentra asociada a la membrana citoplasmática (LonB) y es esencial para la viabilidad de *H. volcanii*. Para regular la expresión de LonB y estudiar su función, se generó una mutante condicional (HVLON3) en *H. volcanii* insertando por recombinación homóloga el promotor regulable por Trp (pTna) río arriba del gen *lonb*. La depleción de LonB afectó la forma celular, el crecimiento y la acumulación de pigmentos carotenoides (bacterioruberinas). La mutante HVLON3 no es compatible con la expresión de proteínas recombinantes sintetizadas bajo el promotor pTna, por lo cual no fue posible validar experimentalmente sustratos candidatos de LonB en esta cepa. El sistema CRISPR-Cas constituye el sistema inmune adaptativo de aproximadamente el 50% de las bacterias y el 90% de las arqueas. *H. volcanii* posee el sistema CRISPR-Cas tipo I-E caracterizado por la presencia del complejo de proteínas Cas (Cascada) que se une vía el ARN regulador (crRNA) al ADN blanco, el cual es posteriormente degradado por la nucleasa Cas3. Este sistema fue adaptado eficazmente para regular la expresión génica en *H. volcanii* (CRISPRi) generando la cepa HV30 (Δ cas3). En el sistema CRISPRi, el crRNA se une al promotor (P) o al sitio de inicio de la transcripción (SIT) del gen blanco junto con el complejo Cascada bloqueando la unión de la ARN polimerasa y/o factores de transcripción. El objetivo de este trabajo fue aplicar la tecnología CRISPRi para silenciar la expresión de *lonb* en *H. volcanii*.

Materiales y Métodos:

Se generaron mediante PCR inversa construcciones codificantes de tres crRNAs que hibridaban en el P o en el SIT de *lonb* y se introdujeron separadamente en la cepa HV30. Para validar el nivel de silenciamiento de *lonb*, se extrajo RNA total de cada una de las cepas en fase exponencial y estacionaria, y se analizó por Northern blotting. La concentración de bacterioruberinas (Bctr) se determinó por espectrofotometría, Abs 496 nm (máximo de absorción).

Resultados:

Las cepas CRISPRi-LonB mostraron diferencias en los niveles de expresión de la proteasa LonB dependiendo del sitio de unión del crRNA (P o SIT). La cepa CRISPRi-LonB1 (crRNA anti-*lonb*) hibridando en la región promotora de *lonb* reprimió eficazmente (67% aprox.) la expresión de LonB en *H. volcanii* HV30 en ambas fases de crecimiento. Al mismo tiempo presentó menor velocidad de crecimiento (μ 0.0055 vs 0.01139 h⁻¹) e hiperpigmentación (2.55 ± 1.3 vs 0.34 ± 0.2 Bctr mg/g célula) que la cepa control (HV30+ pTA232), en coincidencia con el fenotipo reportado para la mutante condicional HVLON3.

Conclusiones:

La aplicación de CRISPRi permitió reprimir eficazmente el gen esencial *lonb* en *H. volcanii*. La cepa CRISPRi-LonB1 obtenida mediante esta técnica produce bajos niveles de la proteasa LonB y su acervo genético es compatible con la expresión de proteínas recombinantes bajo el control del promotor pTna regulable por Trp en *H. volcanii*. Financiado por ANPCyT, UNMDP y Boehringer Ingelheim Fonds travel grant (2018).

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

MAPEO ENTRE EL SENTIDO DE ROTACION DE LOS MOTORES FLAGELARES Y EL COMPORTAMIENTO DIFUSIVO DE LA NATACIÓN DE ESCHERICHIA COLI

FIER, Guido 1 | HANSMANN, David2 | BUCETA, Ruben C.2

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÍSICAS DE MAR DEL PLATA 1; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÍSICAS DE MAR DEL PLATA/ DEPARTAMENTO DE FÍSICA -FCEYN-UNMDP

Introducción y Objetivos:

Los motores flagelares de *E.coli*, *Vibrio alginolyticus* o *Pseudomonas aeruginosa* poseen la capacidad de rotar en sentidos horario (CW) y antihorario (CCW). La concentración de la proteína reguladora de respuesta activa CheY-P, en el entorno del switch del C-ring del motor flagelar, determina el sentido de rotación del flagelo. A su vez, el switch está compuesto por proteínas de cambio (FliN, FliG y FliM), con las cuales interactúa CheY-P para efectuar la transición CCW-CW. Es conocido que la cantidad de proteínas FliM que intervienen en la transición de CCW a CW no es igual a las de la transición de CW a CCW. Nuestros objetivos son: 1) Modelar la propuesta de dos concentraciones críticas de CheY-P para explicar dichas transiciones y las distribuciones de tiempo de los modos de movimiento. 2) Comprender como los cambios en la rotación de los flagelos determinan la difusión de las bacterias flageladas en los medios líquidos que habitan.

Materiales y Métodos:

Implementamos una ecuación diferencial estocástica (EDE) fenomenológica para la concentración de CheY-P en el entorno de los flagelos de *E.coli*. Establecemos las distribuciones de tiempo (DT) de los modos rotatorios, y calculamos el CW bias, en condiciones con/sin estímulos (Quimiotaxis). Analizamos como los cambios en la concentración promedio de CheY-P inducidos por la Quimiotaxis modifican el CW bias, y cómo de este modo regulando el sentido de rotación de los flagelos estas bacterias pueden modificar su dispersión en los medios que habitan. Para ello complementamos este enfoque con un modelo propio capaz de reproducir las trayectorias estocásticas de *E.coli* y establecer el desplazamiento medio cuadrático.

Resultados:

Reproducimos exitosamente las DT medidas experimentalmente para el comportamiento de Runand-Tumble de *E.coli* moviéndose en un medio sin estímulos. Además, analizamos como se modifican las DT bajo la Quimiotaxis. Encontramos un comportamiento sigmoideo con una rápida saturación en el CW bias en función de la concentración de CheY-P; la cual presenta un buen ajuste con los datos

experimentales. El modelo reproduce satisfactoriamente el estrecho rango operacional en la concentración de CheY-P para los motores flagelares. Finalmente, el análisis de las trayectorias estocásticas muestra que a tiempos largos E.coli difunden, con constante de difusión dependiente del CW bias, es decir es modulado por la Quimiotaxis.

Conclusiones:

Presentamos un marco teórico satisfactorio para analizar cómo impactan las transiciones CCWCW de los motores flagelares en la motilidad de E.coli. Dada la similitud en los motores flagelares y las proteínas reguladoras de respuesta en distintas bacterias flageladas nuestro modelo es generalizable a diversas especies, investigación que realizamos actualmente.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS A PARTIR DE EFLUENTES DE LA INDUSTRIA OLIVÍCOLA CON POTENCIAL BIORREMIADOR

FLAMARIQUE, Julieta | STOCCO, Antonella | SEVILLA, Carolina | PONSONE, Lorena
INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA

Introducción y Objetivos:

La República Argentina es el principal productor y exportador olivícola del continente americano. Según el Informe “La Olivicultura Argentina”, realizado por el Ministerio de Agroindustria para la Semana de la Olivicultura (Junio 2018), durante el año 2017 nuestro país produjo 400.000 toneladas de aceitunas, convirtiéndose en el 6° exportador mundial de Aceitunas de Mesa. En Mendoza, el olivo representa la segunda especie frutícola con mayor superficie plantada, luego de la vid, alcanzando las 20.646 ha (datos del Censo Frutícola Provincial 2010, Instituto de Desarrollo Rural), y es una de las principales provincias productoras de aceitunas en conserva del país. Sin embargo, los efluentes de la industria aceitunera son descargados al ambiente sin un tratamiento adecuado. La eliminación segura de las lejías presenta severos problemas debido principalmente a los compuestos recalcitrantes que contiene y a la estacionalidad de la producción. Los objetivos de este trabajo fueron: -relevar la presencia de microorganismos en lejía de desamarizado, -aislar e identificar dichos microorganismos -caracterizar su crecimiento en medios de cultivo a base de lejía.

Materiales y Métodos:

Se realizó el aislamiento de microorganismos a partir de efluentes a fin de seleccionar aquellos que crecieran en condiciones extremas en un medio sólido compuesto por un 100% de lejía. De un total de 31 aislados, se preseleccionaron 9 para continuar con los ensayos posteriores en función de su capacidad de crecimiento en un medio de cultivo líquido que contenía 100% lejía, una fuente de carbono en baja concentración, y sales minerales para aportar nitrógeno, fósforo y microelementos. Las cepas preseleccionadas se identificaron mediante secuenciación del 16sRNA.

Resultados:

Las especies bacterianas encontradas fueron: *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas parafulva*, *Achromobacter kerstersii*, *Brevibacterium sediminis*, *Bacillus cereus*, *Ochrobactrum thiophenivorans* y *Ochrobactrum pseudogrignonense*. Luego de caracterizar el crecimiento de los microorganismos aislados en dicho medio de cultivo finalmente se seleccionaron 4 de los 9 aislamientos teniendo en cuenta su cinética de crecimiento (menor fase de latencia y mayor velocidad de crecimiento): *Pseudomonas parafulva*, *Achromobacter kerstersii*, *Brevibacterium sediminis* y *Pseudomonas stutzeri*. A su vez, con la finalidad última de poder aplicarlos en efluentes sin suplementación de fuente de carbono para abaratar costos y ganar practicidad, se evaluó el crecimiento de estos 4 aislamientos en el medio líquido sin el agregado de glucosa. Se observó que estos aislamientos seleccionados fueron capaces de crecer en estas condiciones nutricionales.

Conclusiones:

Estos resultados son prometedores, y los ensayos para evaluar el potencial biorremediador de los efluentes de la industria aceitunera de estos aislamientos se encuentran en proceso de ejecución.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

AISLAMIENTO Y DETECCIÓN DE HONGOS PRODUCTORES DE AFLATOXINAS EN CULTIVOS DE PISTACHO PISTACIA VERA L., DE LA PROVINCIA DE SAN JUAN

FLORES, Cintia Belen 1 | PESCE, Virginia¹ | PEDROZO, Paula¹ | LENCINAS, Marcos² | PONCE, Angelica² | VAZQUEZ, Fabio³ | MATURANO, Paola¹ | NALLY, Cristina¹ |

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA-FACULTAD DE INGENIERÍA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN/CONICET 1; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ 2; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA- FACULTAD DE INGENIERÍA- UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN 3

Introducción y Objetivos:

El pistacho es un árbol dioico perteneciente a la familia de las Anacardiáceas. Su fruto es una drupa monosperma rica en aceite, la semilla se constituye como la parte comestible. A nivel mundial, se cultivan alrededor de 555.000 hectáreas de pistacho. En Argentina existen alrededor de 800ha cultivadas con pistacho, las cuales se distribuyen entre las provincias de San Juan (57%), Mendoza (23%), La Rioja (13%) y Catamarca (7%). El principal destino de los pistachos argentinos es el mercado italiano, japonés y el brasilero. Los pistachos pueden contaminarse con aflatoxinas (toxinas cancerígenas) que son micotoxinas producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. La aflatoxina B1 es considerada la más tóxica. Debido a su alta toxicidad la concentración de aflatoxinas en frutos secos está regulada en muchos países del mundo. El objetivo del trabajo fue aislar e identificar hongos productores de aflatoxinas (*A. flavus* y *A. parasiticus*) de pistachos.

Materiales y Métodos:

Aislamientos: muestras de granos de pistacho se tomaron asépticamente de árboles en una finca en San Juan. Los granos se colocaron en frascos de 50mL con agua destilada estéril y se agitaron durante 15 min. El sobrenadante (50µL) se sembró sobre medio de cultivo AFPA. Las placas se incubaron a 30°C durante 7 días. Las colonias se observaron en microscopio y también se observó la coloración del reverso de la placa, según Pitt & Hocking (2009). Identificación morfológica: los aislamientos fúngicos se identificaron a nivel morfológico de acuerdo con los protocolos de Klich & Pitt (1988). Los aislamientos se sembraron en tres puntos equidistantes en diferentes medios de cultivo MEA, CYA y CY20S. Las temperaturas de incubación fueron MEA, CYA y CY20S a 25°C; y CYA a 37°C durante 7 días. Detección cualitativa de aflatoxinas: Discos de micelio fueron sembrados asépticamente sobre medio agar coco CAM (Leche de coco al 30% agar). Los aislamientos se incubaron durante 3 días a 30°C. Las placas se colocaron bajo luz ultravioleta de 365 nm y se observó la presencia de halos de coloración fluorescente.

Resultados:

Aislamientos: según las observaciones al microscopio, se aislaron 30 hongos con características morfológicas similares a las de las especies en estudio, los cuales también dieron positivos en la coloración naranja al reverso de la placa en AFPA. Identificación morfológica: según la metodología planteada, se obtuvieron un total de 12 aislamientos que se identificaron como posibles *A. flavus* y *A. parasiticus*. Presencia de aflatoxinas: los 12 aislamientos que fueron sometidos a la técnica de detección de aflatoxinas en medio agar coco dieron positivos.

Conclusiones:

Determinar la presencia de hongos productores de aflatoxinas en los pistachos de San Juan es una herramienta clave para comenzar a tratar esta problemática que impide a los productores locales exportar sus productos a mercados internacionales.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

COMPETENCIA POR NUTRIENTES ENTRE CEPAS DE BOTRYTIS CINEREA FITOPATÓGENAS DE UVA DE MESA Y LEVADURAS BIOSUPRESORAS NATIVAS DE SAN JUAN

FLORES, Cintia Belen 1 | PESCE, Virginia1 | PEDROZO, Paula1 | LENCINAS, Marcos2 | VAZQUEZ, Fabio3 | MATURANO, Paola1 | NALLY, Cristina1

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA-FACULTAD DE INGENIERÍA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN/CONICET 1; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ 2; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA- FACULTAD DE INGENIERÍA- UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN 3

Introducción y Objetivos:

La descomposición de uvas de mesa es causada principalmente por *Botrytis cinerea*. Este patógeno

es responsable de grandes pérdidas, afectando económicamente a la provincia de San Juan, principal productora y exportadora en Argentina. El uso de fungicidas químicos es uno de los métodos más utilizados para controlar esta enfermedad. Sin embargo, el empleo de levaduras como agentes de control biológico surge como alternativa de control más sustentable. La competencia es uno de los principales mecanismos de antagonismo entre levaduras y hongos fitopatógenos. A través de la similitud ecológica entre los microorganismos estimada a partir del Índice de Superposición de Nichos (NOI), se podría determinar si existe exclusión competitiva entre ellos, lo que da como resultado la disminución poblacional del patógeno. El objetivo de este trabajo fue evaluar el Índice de superposición de nichos (NOI) entre 18 levaduras biosupresoras curativas y 2 cepas de *B. cinerea*, en condiciones in vitro.

Materiales y Métodos:

Se utilizaron 18 levaduras vitivinícolas: 12 *Saccharomyces cerevisiae*, 2 *Torulasporea delbrueckii*, 1 *Saccharomyces chevalieri*, 1 *Candida sake*, 1 *Hanseniaspora vinea* y 1 *Debaryomyces vanrijiae*. También 2 cepas de *B. cinerea* B15 y B24 las cuales se aislaron de muestras de uvas en pudrición. Discos de micelio de 9mm de diámetro de los hongos fitopatógenos y alícuotas de levaduras biosupresoras (20µL, 106UFC/ml) se sembraron puntualmente e individualmente sobre medio YNB-agar con diferentes fuentes carbonadas presentes en uvas: sacarosa, prolina, asparagina, ramnosa, alanina, melibiosa, ácido glutámico, tirosina, rafinosa, arginina, lisina, fructosa, metionina, glicina, ácido málico, glucosa, ácido tartárico, manitol, ácido cítrico y galactosa. Las placas se incubaron a 25°C durante 14 días en oscuridad. Se determinó el NOI como el número de fuentes carbonadas utilizadas por ambos aislamientos (Levadura biosupresora-*B. cinerea*) en relación al número total de fuentes utilizadas por el patógeno filamentoso. Los valores de NOI>0.9 representan ocupación de mismo nicho (exclusión competitiva), y valores <0.9 representan ocupación de nichos separados (coexistencia).

Resultados:

Cuatro pares interactuantes antagonista-hongo presentaron valores de NOI superiores a 0.9, lo que indica un elevado grado de similitud ecológica entre ellos (*S. cerevisiae* BSc60-*B. cinerea*B15 y B24; *H. uvarum* BHu 86-*B. cinerea* B15 y B24). El resto de las levaduras ensayadas presentaron valores de NOI entre 0.21 y 0.83, lo que indica coexistencia de los microorganismos ensayados (nichos separados).

Conclusiones:

Las levaduras pertenecientes a los géneros *Saccharomyces* y *Hanseniaspora* consumieron las mismas fuentes carbonadas que el patógeno, lo que conlleva a una disminución de la disponibilidad de estos nutrientes para el patógeno. En consecuencia, este tipo de exclusión competitiva podría ser uno de los principales mecanismos de acción antagónico entre levaduras vitivinícolas y *B. cinerea*.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

DEGRADACIÓN DE CLORANFENICOL POR UNA COMUNIDAD BACTERIANA AUTÓCTONA EN UN REACTOR DE PELÍCULA BIOLÓGICA

FORTUNATO, María Susana 1 | GARCÍA LÓPEZ, Guadalupe1 | CONTÍN, Mario Daniel2 | TRÍPODI, Valeria2 | GONZÁLEZ, Ana Julieta1 | GALLEGO, Alfredo1 | KOROL, Sonia Edith1
CÁTEDRA DE SALUD PÚBLICA E HIGIENE AMBIENTAL. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA 1; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA Y FISICOQUÍMICA. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA 2

CÁTEDRA DE SALUD PÚBLICA E HIGIENE AMBIENTAL. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA 1; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA Y FISICOQUÍMICA. FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UBA 2

Introducción y Objetivos:

Los antibióticos son contaminantes de preocupación emergente introducidos continuamente en el medio ambiente a través del vertido de efluentes cloacales, hospitalarios e industriales. La industria farmacéutica genera efluentes que pueden contener concentraciones considerables de antibióticos. Actualmente el cloranfenicol (CF) se emplea en formulaciones de productos antiacnéicos, oftálmicos y óticos de uso local. Su llegada al medio ambiente representa una amenaza potencial para la salud humana debido a que puede contribuir a la selección de bacterias resistentes. En las plantas de tratamiento de efluentes diseñadas para eliminar contaminantes convencionales su remoción es ineficiente, el desafío actual es diseñar tratamientos que constituyan una alternativa económica y eficiente. En trabajos previos, se seleccionó una comunidad bacteriana autóctona compuesta por dos cepas identificadas como pertenecientes a los géneros *Achromobacter* y *Comamonas* que fue capaz de degradar CF en procesos batch. Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar la capacidad de la comunidad bacteriana previamente seleccionada, para depurar un efluente sintético con CF mediante el empleo de un reactor continuo de película biológica (RPB).

Materiales y Métodos:

El tratamiento se llevó a cabo en un reactor de película biológica de lecho fijo y flujo ascendente de 2,3 L de capacidad, que fue alimentado con un efluente sintético con CF. El mismo operó en forma continua durante 5 meses sin necesidad de reinoculación en condiciones ambientales. Se empleó esponja de poliuretano como medio soporte para el desarrollo de la biopelícula. El proceso de biodegradación fue evaluado mediante la determinación de la concentración de CF por espectrofotometría UV (280nm) y Cromatografía Líquida de Alta Performance a la entrada y salida del reactor. La eficiencia del tratamiento se evaluó mediante demanda química de oxígeno (DQO). La ausencia de efecto inhibitorio en el efluente tratado se estudió empleando *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 como cepas sensibles a CF mediante el método de difusión en agar según Bauer y Kirby.

Resultados:

Los resultados obtenidos demostraron que la comunidad bacteriana fue capaz de remover una concentración inicial de hasta 50 mg/L de CF con un porcentaje de remoción mayor a 99%. La carga máxima de compuesto removida fue de 21,74 g/m³día, con una eficiencia mayor a 95% expresada en términos de remoción de DQO. Los ensayos de sensibilidad a CF demostraron la ausencia de efecto inhibitorio en el efluente tratado.

Conclusiones:

La selección y optimización de microorganismos autóctonos con capacidad para degradar CF empleando un reactor continuo de película biológica puede ser una estrategia apropiada para lograr una mayor eficiencia del proceso de tratamiento con el fin de disminuir su impacto ambiental.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CRECIMIENTO DE LACTOBACILLUS SAKEI ACU-2 BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE PH Y TEMPERATURA

GALANTE, Nadia Soledad 1 | **PALAVECINO PRPICH, Noelia**1 | **CAYRÉ, María Elisa**2 | **CAMPOS, Carmen**3 | **CASTRO, Marcela**1

CONICET/ LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL 1; LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CHACO AUSTRAL 2; CONICET/ DEP. DE INDUSTRIAS - FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES - UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES 3

Introducción y Objetivos:

En la provincia de Chaco, los productos cárnicos fermentados se elaboran de forma artesanal. Estos productos, de amplia aceptación entre los consumidores, se obtienen por fermentación espontánea. Como consecuencia, no es posible garantizar la seguridad y la homogeneidad en la calidad de los mismos a lo largo del tiempo. Con el objeto de subsanar estos inconvenientes sin afectar las características sensoriales típicas, se diseñó un cultivo starter a partir de cepas autóctonas (*Lactobacillus sakei* ACU-2 y *Staphylococcus vitulinus* ACU-10). El desempeño del starter, fue evaluado in situ en la línea de producción de salames de una pequeña industria local, evidenciándose resultados favorables en su utilización. La aplicación industrial de este cultivo requiere de cantidades significativas de biomasa, por lo cual resulta necesario optimizar las condiciones de crecimiento a fin de obtener el mayor rendimiento posible. El pH del medio de cultivo y la temperatura de incubación son factores determinantes en el crecimiento de los microorganismos. El presente trabajo evalúa el efecto de estos dos factores sobre el crecimiento de *L. sakei* ACU-2, a fin de seleccionar los valores que permitan obtener mayor biomasa en el menor tiempo.

Materiales y Métodos:

Se utilizó caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe), el cual se inoculó al 1% con un cultivo activo de la cepa. Para evaluar la influencia de la temperatura, se incubó a 25, 30, 37 y 42°C durante 12 horas. Por otra parte, se ajustó el pH del medio a 4,5, 5,5, 6,5 y 7,5 con solución de HCl 1N o NaOH 1N, y se incubó durante 12 horas a 30°C. El crecimiento del microorganismo se monitoreó mediante los cambios de densidad óptica (DO) a 600 nm. Los datos obtenidos, expresados como LogDO600, se usaron para ajustar la ecuación modificada de Gompertz y estimar los parámetros cinéticos de crecimiento: tiempo de latencia (L) expresado en h, velocidad específica de crecimiento (μ) en h^{-1} y máxima densidad (LogDO_{max}). El efecto de la temperatura y el pH sobre los parámetros de crecimiento se evaluó por análisis de varianza (ANOVA) de una vía.

Resultados:

En todo el rango de temperaturas y pH ensayados no se detectó influencia significativa sobre el

tiempo de latencia, resultando sus valores medios en $0,90 \pm 0,02$ h y $1,22 \pm 0,00$ h, respectivamente. En cambio, la velocidad de crecimiento resultó superior para el rango de temperaturas de $30-37^{\circ}\text{C}$ ($\mu=0,36 \pm 0,01 \text{h}^{-1}$) y para pH 7,5 ($\mu=0,43 \pm 0,00 \text{h}^{-1}$), en tanto que los valores más bajos se hallaron a 42°C ($\mu=0,23 \pm 0,00 \text{h}^{-1}$) y pH 4,5 ($\mu=0,11 \pm 0,00 \text{h}^{-1}$). Por otra parte, la máxima densidad presentó valores mayores a 25°C y 30°C ($C=0,64 \pm 0,01 \text{LogDO}_{\text{max}}$) y a los pH 6,5 y 7,5 ($C=0,76 \pm 0,02 \text{LogDO}_{\text{max}}$), mientras que resultaron significativamente inferiores a 42°C y pH 4,5.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos permiten concluir que, dentro de los valores de temperatura y pH evaluados, los correspondientes a 30°C y pH 7,5 resultan más adecuados para el crecimiento de *L. sake*

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE STENOTROPHOMONA MALTOPHILIA AISLADA DEL INTESTINO DE ANTICARSIA GEMMATALIS

GALELLI, Mirta Esther | MIYAZAKI, Silvia Susana

ÁREA DE AGROALIMENTOS, FACULTAD DE AGRONOMÍA, UBA

intestinal y sus posibles efectos sobre los insectos. La alimentación y las condiciones fisiológicas de los insectos pueden variar la flora microbiana intestinal. El cambio climático está causando un aumento de la temperatura global, incrementando las zonas de cultivo afectadas por plagas. Los insectos no regulan su temperatura interna, por lo que el cambio climático podría favorecer el crecimiento de la microflora intestinal, acentuando la relevancia del estudio del efecto de la flora microbiana intestinal en el desarrollo del insecto. Las larvas del Lepidóptero *Anticarsia gemmatalis* consumen hojas y/o perforan las vainas de la soja (*Glycine max*), destruyendo uno de los cultivos más importantes de la Argentina. *Stenotrophomonas maltophilia* es un bacilo Gram negativo ampliamente distribuido en el medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las propiedades de las proteasas de *S. maltophilia* aislada del intestino de *Anticarsia gemmatalis*.

Materiales y Métodos:

La bacteria se aisló de intestinos del quinto estadio de *Anticarsia gemmatalis* alimentada con dieta INTA. Se identificó con API 20NE. El crecimiento se estudió en medios nitrogenados complejos agarizados: 5 % de: caseína; caseinato de calcio; harina, proteína y tripteína de soja, peptona de carne y 12% de gelatina. Los aminoácidos se determinaron por cromatografía en capa delgada. Se realizaron antibiogramas. El amoníaco se determinó por microdifusión (adsorbente: MgCl_2). La actividad proteolítica se determinó con azocaseína. Se estudió el efecto del inhibidor de proteasas de Kunitz (0,3; 1,5 y 3 μM). Las electroforesis fueron PAGE 8 % y los zimogramas con caseína copolimerizada (1 mg/ml). Se tiñó con Coomassie blue. El efecto del inhibidor de proteasas PMSF se determinó usando zimogramas.

Resultados:

S. maltophilia aislada fue capaz de crecer en medios nitrogenados complejos, alcalinizándolos. Los

aminoácidos liberados dependieron del medio. La actividad proteolítica sobre azocaseína fue máxima a las 46 h de cultivo (10,8 U/DO660), liberando amoníaco (0,3 µg/DO660). Fue sensible a estreptomycin, pero no a cefalexina, ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina y penicilina. El efecto del inhibidor de Kunitz en medio líquido con caseína fue una disminución del crecimiento en un 50 % a las 18 h de cultivo, a tiempos mayores su efecto fue menor; esto podría ser debido a la síntesis de proteasas no inhibidas por Kunitz. Con zimogramas de los intestinos de *Anticarsia* y de un cultivo de *S. maltophilia* se observó un patrón similar de actividad proteolítica a altos pesos moleculares, mayores a 140 kDa. Las bandas proteolíticas bacterianas fueron inhibidas por PMSF, sugiriendo proteasas del tipo serina.

Conclusiones:

S. maltophilia por su actividad proteolítica y su capacidad de colonizar los intestinos de *Anticarsia gemmatalis* podría incrementar el metabolismo proteico intestinal de las larvas, favoreciendo su crecimiento.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

EFECTO ANTIFÚNGICO DE LA COMBINACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON ANFOTERICINA B EN BIOFILMS DE CANDIDA GLABRATA

GALERA, Ivana Laura Delia 1 | PAEZ, Paulina² | PARAJE, Maria Gabriela³

CÁT. DE MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / CONICET, IMBIV. 1; CÁT DE MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNC / DPTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS UNC / CONICET, UNITEFA 2; CÁT. DE MICROBIOLOGÍA, FCEFYN, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / CONICET, IMBIV. 3

Introducción y Objetivos:

Candida es un patógeno oportunista que provoca infecciones superficiales y sistémicas en el hospedero, siendo una causa importante de morbi-mortalidad. *Candida glabrata* es una levadura emergente, frecuentemente aislada en candidiasis, candiduria y micosis sistémicas. La formación de biofilms es una característica de esta especie. Los avances en nanoantimicrobianos son prometedores; recientemente se ha informado sobre la actividad antifúngica de nanopartículas de plata (NPsAg) en algunas especies de *Candida* en estado planctónico, la acción bactericida y la virucida. Sin embargo, poco se ha reportado sobre su efecto antibiofilm. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las NPsAg biosintetizadas y en combinación con Anfotericina B (AmB) sobre el biofilm inicial y maduro de *C. glabrata*.

Materiales y Métodos:

La concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) de NPsAg y AmB para células planctónicas de *C. glabrata* ATCC 2001, se determinaron mediante el método de microdilución en caldo para levaduras según CLSI M27-4^{ta} ed. Los porcentajes (%) de inhibición y de erradicación del biofilm se evaluaron sobre las etapas iniciales de la formación de biofilm y sobre

el biofilm maduro (48 h) en placa de 96 pocillos, siendo expuesto a AmB (400CIM) y a concentraciones de NpsAg (supraCIM, CIM y subCIM). Además se realizaron combinaciones a diferentes concentraciones de NpsAg (25CIM, 50CIM y 100CIM) con diferentes concentraciones de AmB (100CIM, 200CIM y 400CIM). Se realizó tinción con cristal violeta definiendo $0,1 \text{ DO}_{492\text{nm}} = 1$ Unidad de Biomasa de Biofilm. El número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) se obtuvo por recuento de células viables del biofilm en las distintas condiciones.

Resultados:

El mismo valor CIM y CFM fue encontrado para NPsAg (0,125 pM) y AmB ($5,4 \times 10^5$ pM). El % de inhibición del biofilm fue del 85 % para NPsAg y AmB (100 y 400 CIM respectivamente), no mostrando inhibición significativa en las combinaciones. Las NPsAg tuvieron un % de erradicación del biofilm maduro del 70% para la concentración 600 CIM y 40% para 100 CIM, mientras que AmB (400CIM) alcanzó el 65%. Con la combinación de NPsAg y AmB (100 CIM NPsAg y 400 CIM AmB) se obtuvo un 87%. Los resultados del recuento de UFC/ml en biofilm de *C. glabrata* tratado, mostraron una buena correspondencia con el % de erradicación del biofilm ensayado con cristal violeta.

Conclusiones:

Se demostró actividad fungicida de NpsAg en *C. glabrata* y se logró mayor reducción del biofilm maduro cuando se expuso a combinaciones de NPsAg con AmB. Estos resultados son prometedores, ya que lograr sinergia entre AmB y NPsAg podría contribuir a una estrategia antibiofilm. Además, se abren nuevas perspectivas para próximas investigaciones, donde las NPsAg podrían ser antifúngicos efectivos para la prevención o el tratamiento de infecciones causadas por *Candida*

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

INGENIERÍA METABÓLICA PARA UNA PRODUCCIÓN EFICIENTE DE ÉSTERES DE ÁCIDOS GRASOS MULTI METIL RAMIFICADOS DERIVADOS DE ETANOL

GALVAN, Virginia 1 | ROULET, Julia1 | CHOLICH, Valeria2 | BRACALENTE, Fernando1 | GRAMAJO, Hugo1 | ARABOLAZA, Ana1 INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO 1; LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA EXPERIMENTAL, FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS 2

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO 1; LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA EXPERIMENTAL, FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS 2

Introducción y Objetivos:

Existe actualmente una gran dependencia en la utilización de recursos fósiles como fuente de energía y de precursores químicos. Dado que esta fuente es finita, resulta muy importante desarrollar nuevas estrategias que permitan la obtención de dichos compuestos de manera renovable. En este contexto, mediante técnicas de ingeniería metabólica y genética, se construyó una cepa de *Escherichia coli* recombinante capaz de sintetizar ácidos grasos multi-metil ramificados (AGMR) y ésteres derivados de los mismos (EMR). Estos compuestos presentaron buenas características para su posible aplicación como biolubricantes. El sistema básico consta de de la expresión heteróloga de tres enzimas de *Mycobacterium tuberculosis*: la enzima MAS, una PKS iterativa tipo I que sintetiza un ácido micoserósico, la acil-AMP ligasa Faal28 que transfiere la molécula de ácido graso iniciador a MAS y la aciltransferasa PapA5 que cataliza la transesterificación del ácido micoserósico con el alcohol aceptor. PapA5 es capaz de utilizar una amplia variedad de alcoholes para esta reacción. El objetivo aquí, fue explorar alternativas para la producción de EMR empleando un alcohol de cadena corta como el etanol. Para ello, nos propusimos construir cepas de *E. coli* recombinantes capaces de producir el etanol necesario de manera endógena, así como caracterizarlas in vivo para la producción de este alcohol y de las correspondientes ceras. Se evaluaron dos estrategias para la biosíntesis de etanol mediante la expresión heteróloga de distintas enzimas: A) Alcohol deshidrogenasa (AdhE) de *E. coli* que cataliza la reducción de acetil- CoA a etanol en una reacción en dos pasos (la versión utilizada posee una mutación que le permite estar activa en condiciones aeróbicas); B) a partir de las enzimas Piruvato decarboxilasa (Pdc) y Alcohol deshidrogenasa (AdhB) de *Zymomonas mobilis* que catalizan la reducción de piruvato a etanol.

Materiales y Métodos:

Se evaluó cualitativamente la producción de ceras a través de ensayos de bioconversión en medio rico y medio mínimo con glucosa, seguido de extracción de lípidos y cromatografía en capa delgada. Asimismo, se cuantificó la producción de etanol mediante el método de microdifusión y titulación.

Resultados:

Los resultados obtenidos indican que las dos estrategias llevan a una eficiente producción de etanol, y se detectó un gran incremento en la biosíntesis de este alcohol en medio mínimo con glucosa, suficiente para obtener una cantidad de ceras similar a la observada en el control (agregado exógeno de etanol). Sin embargo, en ausencia de un sustrato fermentable las cantidades obtenidas son menores. Esto se ve reflejado directamente en los niveles de ceras alcanzados en cada caso.

Conclusiones:

En base a esto, podemos concluir que las cepas obtenidas permiten una buena la producción de ceras a partir de la biosíntesis endógena de etanol; siendo el sistema desarrollado un proceso de novo para la generación de diversidad estructural de EMR que evita el agregado externo del sustrato alcohol.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES BACTERIANOS COMO HERRAMIENTA PARA EL CONTROL DE FUSARIUM VERTICILLIOIDES

GERGOLET DIAZ, Donald Gabriel¹ | MERLO, Carolina² | VÁZQUEZ, Carolina¹ | USSEGLIO, Virginia² | PIZZOLITTO, Romina² | BROUARD URIBURU, Maria Del Rosario ¹ | MADARIAGA, Lucas¹ | LUCINI, Enrique¹ | ZYGADLO, Julio²

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. CÓRDOBA. ARGENTINA. ¹; INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE BIOLOGÍA VEGETAL (IMBIV-CONICET). CÓRDOBA. ARGENTINA. ²

Introducción y Objetivos:

Fusarium verticillioides es uno de los hongos patógenos más frecuentemente asociado al deterioro de silos de maíz y uno de los mayores productores de fumonisinas. Actualmente existe una creciente demanda en disminuir el uso de fungicidas sintéticos y remplazarlos por compuestos más amigables con el ambiente y la salud de los consumidores. En este sentido, los compuestos orgánicos volátiles (COVs) producidos por bacterias son potenciales agentes de biocontrol. El objetivo fue evaluar el efecto de los COVs producidos por bacterias ácido lácticas aisladas de silo bolsa de maíz sobre el crecimiento de *Fusarium verticillioides* M3125 y la producción de la micotoxina fumonisina B1 (FB1).

Materiales y Métodos:

Se aislaron bacterias ácido lácticas en medio selectivo MRS (De Man, Rogosa and Sharpe media) a partir de muestras de granos de maíz de silo bolsa, de las cuales se identificaron 4 cepas mediante el secuenciamiento del gen 16S ARNr. Para evaluar el efecto de los COVs sobre el hongo se enfrentaron placas sembradas con conidios de hongos vs. placas sembradas con bacterias con 72 h de incubación (n=10), se sellaron, se incubaron a 30 °C, y se midió el diámetro del micelio durante 7 días. La concentración de FB1 se determinó a los 28 días de incubación en un HPLC Perkin Elmer. Los COVs emitidos por las bacterias se analizaron por cromatografía de gases-espectrometría de masa (CG-EM) (Perkin Elmer 600).

Resultados:

Las 4 cepas mostraron identidad con el género *Enterococcus*. La cepa 49 mostró un 98 % de identidad y la 55 un 99 % de identidad con *E. faecium*, la M4A un 99% con *E. casseliflavus*, y la cepa M4G mostró un 99 % de identidad con *E. casseliflavus* y *E. gallinarum*. Todas las cepas, excepto la M4G, inhibieron significativamente el crecimiento fúngico con respecto al control, sin embargo la cepa M4A mostro el mayor porcentaje de inhibición 54,78%. La fase lag presentó diferencias significativas con el control para los tratamientos con las cepas M4G y M4A, siendo más larga en los hongos expuestos a los COVs producidos por la cepa M4A, mientras que la producción de FB1 disminuyó en los hongos expuestos a los volátiles de la cepa M4A. Las cepas bacterianas produjeron diferentes compuestos volátiles, siendo los de mayor proporción el ácido acético, acetoína y diacetilo. A su vez la cepa M4A produjo la más alta proporción de diacetilo y la M4G la más baja. La cepa M4G produjo la proporción más alta de ácido acético y las cepas 49 y 55 las más altas de acetoína.

Conclusiones:

En conclusión, los COVs producidos por la cepa M4A presentaron actividad antagónica sobre el crecimiento del hongo y la producción de micotoxinas. Los análisis de los COVs producidos por las bacterias sugieren que el compuesto responsable de la bioactividad sería el diacetilo. El efecto antagónico de los COVs está reportado en la bibliografía, sin embargo hasta nuestro conocimiento no hay estudios sobre esta interacción entre los microorganismos que están involucrados en el sistema de silos de almacenajes de granos

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

ÚNICAS EN SU CLASE: TOXICIDAD DE PROTEÍNAS CRY DE LA CEPA BACILLUS WIEDMANNII BIOVAR THURINGIENSIS(FCC41) CONTRA MOSQUITOS

GIL, Maria Florencia | LOPEZ, Rocio de La Paz | BATTAGLIA, Marina | BERON, Corina

INBIOTEC-CONICET / FIBA

Introducción y Objetivos:

Los agentes patógenos transmitidos por mosquitos hematófagos producen diversas enfermedades tales como malaria, fiebre amarilla, dengue, chikungunya, Zika, diversas encefalitis y filariasis, que constituyen grandes problemas en salud pública. Entre los principales mosquitos vectores de tales agentes se encuentran representantes de los géneros Anopheles spp., Culex spp. y Aedes spp. Algunas bacterias entomopatógenas del género Bacillus son ampliamente estudiadas por sus propiedades como agentes microbianos para el control de estos vectores. Estas bacterias producen inclusiones parasporales compuestas principalmente por proteínas Cry que tienen actividad insecticida cuando son ingeridas por un insecto susceptible. Este cristal es solubilizado debido al pH alcalino del intestino del insecto y clivado por proteasas intestinales. Estas toxinas así activadas se unen a receptores específicos de la membrana intestinal del intestino medio, se insertan en ella formando poros provocando la disrupción de la membrana, el desbalance iónico y la lisis de las células epiteliales, dando como resultado septicemia y muerte del insecto. En este contexto, el estudio de las toxinas Cry resulta interesante como una posible alternativa para el desarrollo de insecticidas biológicos. En trabajos previos llevados a cabo por ese grupo, se caracterizó una cepa nativa identificada como Bacillus wiedmannii biovar thuringiensis (FCC41) que exhibe mayor actividad insecticida contra algunas especies de mosquito en comparación a la cepa de referencia B. thuringiensis subsp. israelensis, utilizada en formulados para el biocontrol de estos dípteros. El genoma de esta cepa bacteriana fue secuenciado, detectando genes codificantes de 6 proteínas Cry diferentes que fueron identificadas como Cry4-like1, Cry4-like 2, Cry52-like1, Cry52-like2, Cry24Ca y Cry41-like. El objetivo de este trabajo fue analizar la actividad insecticida de cada una de estas toxinas nativas contra larvas de Culex quinquefasciatus.

Materiales y Métodos:

. Para ello, cada proteína se clonó individualmente en un sistema de expresión específico para B. thuringiensis basado en el vector de expresión pSTAB, el cual está optimizado para la producción de toxinas Cry debido a que contiene un promotor fuerte dependiente de la esporulación en combinación con una secuencia estabilizadora del mRNA. Los plásmidos resultantes fueron introducidos en la

cepa acristalífera 4Q7, derivada de *B. thuringiensis* sp. israelensis carente de plásmidos codificantes de secuencias de genes cry y por lo tanto carente de actividad mosquitocida. La actividad tóxica de cada mutante se analizó mediante bioensayos de 48 horas contra larvas de segundo estadio de *Cx. quinquefasciatus*.

Resultados:

Todas las mutantes, a excepción de la portadora de la proteína Cry41-like, exhibieron actividad insecticida siendo la proteína Cry24Ca la de mayor actividad mosquitocida a las 24 horas después de la aplicación de una suspensión de complejo espora-cristal.

Conclusiones:

Las proteínas Cry24Ca, Cry4-Like1, Cry4-Like2, Cry52-Like1, Cry52-Like2 de la cepa *Bacillus wiedmannii* biovar *thuringiensis* (FCC41) resultan de interés por su toxicidad contra larvas de *Cx. quinquefasciatus* y podrán ser utilizadas en el desarrollo de bioinsecticidas específicos para el control de mosquitos de interés sanitario. Este trabajo es financiado por ANPCyT (PICT-2015-0575), CONICET (PUE 2017- 0101) y Universidad Nacional de Mar del Plata (15/E793 EXA840/17).

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES EN PROTEASAS ROMBOIDES EN LA HALOARQUEA HALOFERAX VOLCANII

GIMENEZ, Maria Ines | LATORRE, Lucas Leonel | PAGGI, Roberto Alejandro | DE CASTRO, Rosana Esther

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN

Introducción y Objetivos:

La mayoría de las proteasas poseen sus sitios activos expuestos al medio soluble (citoplasma extracelular o periplasma). Existe un grupo particular, las proteasas intramembrana, cuyos sitios activos están inmersos en la bicapa lipídica que rodea a las células y son capaces de llevar a cabo reacciones de hidrólisis en el entorno hidrofóbico de la membrana celular. Dentro de este grupo se encuentran las proteasas Romboides, proteínas conservadas en los tres Dominios de la vida y que se encuentran asociadas al desarrollo de patologías de importancia en humanos. En el genoma de la arquea halófila *Haloferax volcanii* existen dos genes homólogos de romboides, rhol (HVO1474) y rholl (HVO0727). En estudios previos construimos una mutante nula para rholl (MIG1). Esta mutante presenta menor movilidad en placas de agar, una menor recuperación a la irradiación con luz UV y defectos en la glicosilación de la proteína constituyente de la pared celular (capa S). La mayoría de estos fenotipos si bien reproducibles son leves, sugiriendo que Rhol podría suplir (al menos parcialmente) la función de Rholl. En este trabajo se presenta la construcción y caracterización parcial de una mutante condicional en rhol y de una doble mutante (nula para rholl y condicional para

rhoI).

Materiales y Métodos:

Las mutantes condicionales fueron obtenidas mediante la inserción de un promotor inducible por triptófano (ptnA) inmediatamente río arriba de la secuencia correspondiente al gen rhoI mediante doble recombinación homóloga (técnica de pop-in/pop-out).

Resultados:

La correcta inserción de ptnA en el cromosoma fue verificada por PCR. La mutante simple presentó mayor tolerancia al estrés salino (exceso y defecto de NaCl) con respecto a la cepa parental. El análisis de la movilidad en placas de agar blando evidenció que la expresión de rhoI a partir del plásmido pTA963 en la cepa MIG1 es capaz de revertir dicho fenotipo. Por otra parte, la disminución en el nivel de rhoI afectó levemente la movilidad en la mutante condicional simple mientras que la mutante doble mostró un fenotipo aún más marcado que MIG1.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos aportan información acerca de los sistemas proteolíticos intramembrana de arqueas y sugieren el solapamiento funcional entre los homólogos de proteasas romboides en la regulación de la movilidad de *H. volcanii*.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ESCHERICHIA COLI VEROTOXIGÉNICO O157:H7: SUBTIPIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE BOVINOS, HUMANOS Y ALIMENTOS DE LA REGIÓN PAMPEANA

GONZALEZ, Juliana

LAB. MICROBIOLOGÍA ALIMENTOS - LAB. INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA. 1; LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA, CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA 2

Introducción y Objetivos:

Escherichia coli verotoxigénico (VTEC) es uno de los patógenos más comúnmente transmitido al hombre a través de los alimentos, siendo el ganado su principal reservorio. El serotipo O157:H7 es el más frecuentemente aislado de casos de síndrome urémico hemolítico (SUH) en Argentina y en el mundo. Sin embargo, no todos los aislamientos O157:H7 tienen la misma capacidad de infectar y de enfermar al hombre. Existen métodos de subtipificación molecular que permiten analizar la diversidad genética y distinguir subtipos de VTEC O157:H7, como el análisis de polimorfismos de nucleótido simple (SNP), el análisis de múltiples loci VNTR (MLVA) y la determinación de grupos filogenéticos. Con el propósito de evaluar la diversidad genética y detectar subtipos, analizamos 43 cepas de VTEC O157:H7 aisladas de bovinos, humanos y alimentos en la región pampeana de Argentina.

Materiales y Métodos:

Las cepas se subtipificaron mediante análisis de 2 SNP, (ECs2357 539 A>C y tir 255 T>A), y determinación de filogrupos. Estos datos de subtipificación por SNP y filogrupos se complementaron con datos de MLVA obtenidos previamente, amplificando 8 loci VNTR O157:H7-específicos. El SNP en ECs2357 (539 C>A) se detectó por PCR utilizando primers hairpin. El SNP presente en tir (255 T>A) se analizó por PCR y secuenciación. Mientras que para la determinación de filogrupos se empleó una PCR cuádruple.

Resultados:

Los resultados mostraron que el 79 % de los aislamientos presentó el alelo ECs2357 539 A>C A, mayormente asociado a cepas hipervirulentas del clado 8. En relación al alelo tir 255 T>A, el 92 % de los aislamientos analizados presentó el alelo T, asociado también a cepas con una incrementada virulencia en humanos. Un alto porcentaje de aislamientos (95,4 %) fue asignado al filogrupo E, al igual que la mayoría de las cepas VTEC O157:H7 de diferentes regiones geográficas. A diferencia de estos resultados que mostraron una alta homogeneidad, el MLVA, en base a marcadores altamente polimórficos y no relacionados con virulencia, puso de relieve una alta diversidad genética entre las cepas circulantes.

Conclusiones:

En conclusión, los resultados obtenidos no permiten distinguir la presencia de subtipos entre las cepas argentinas de distintos orígenes, mostrando la circulación casi exclusiva de aislamientos VTEC O157:H7 pertenecientes al clado hipervirulento 8, al filogrupo E y portadores del alelo tir 255 T>A T, tanto en cepas de origen humano como bovino. Por este motivo, todos los aislamientos de origen bovino representarían un potencial riesgo para la salud pública. La presencia en el ganado bovino de cepas O157:H7 con características similares a las cepas que causan enfermedades en humanos podría contribuir a explicar la alta incidencia de SUH en Argentina.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

DIVERSIDAD GENÉTICA DE ESCHERICHIA COLI VEROTOXIGÉNICO O157:H7 PROVENIENTE DE CASOS CLÍNICOS DE ARGENTINA Y CHILE

GONZÁLEZ, Juliana 1 | CADONA, Jimena Soledad² | ZOTTA, Marcelo³ | LAVAYÉN, Silvina³ | VIDAL, Roberto⁴ | PADOLA, Nora Lia² | SANSO, Andrea Marie^{1,2} | BUSTAMANTE, Ana Victoria²

LAB. MICROBIOLOGÍA ALIMENTOS - LAB. INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA. 1; LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA, CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA 2; SERVICIO BACTERIOLOGÍA, INE "DR. JUAN H. JARA" - ANLIS, MINISTERIO DE SALUD DE LA NACIÓN ARGENTINA. 3; PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA Y MICOLOGÍA, INSTITUTO CS. BIOMÉDICAS, FC. MEDICINA, UNIVERSIDAD CHILE 4

Introducción y Objetivos:

Escherichia coli verotoxigénico (VTEC) es un grupo de patógenos emergentes causante de severas enfermedades en el hombre, tales como el síndrome urémico hemolítico (SUH). Al igual que en muchas partes del mundo, VTEC O157:H7 es el principal serotipo asociado a las infecciones humanas, con un número significativo de casos de SUH registrados en Argentina y Chile. Se ha observado una amplia variabilidad en cuanto a la presentación clínica de pacientes con infecciones por O157:H7. Los estudios de comparación genómica junto con la evaluación de genes que codifican factores de virulencia representan herramientas útiles para analizar la diversidad genética y subtipificar VTEC O157:H7. El objetivo del presente trabajo fue comparar la diversidad genética presente en 76 cepas VTEC O157:H7 aisladas de casos de enfermedad en humanos de Argentina (n=38) y Chile (n=38).

Materiales y Métodos:

Las cepas se subtipificaron mediante el análisis de polimorfismos específicos de linaje (LSPA-6), la asignación a filogrupos y el estudio de la distribución de genes codificantes de 5 factores de virulencia, de 16 efectores no codificados en LEE (Nle) y de 6 factores putativos de virulencia (FPV).

Resultados:

Los aislamientos VTEC O157:H7 pertenecientes al linaje I/II y al filogrupo E fueron prevalentes en ambos países. En cuanto a la diversidad genética detectada mediante el estudio de diferentes factores de virulencia, la mayoría de las cepas estudiadas (97,4 %) presentó el perfil de virulencia vtx2, eae, ehxA, y solo dos cepas argentinas tuvieron distinto perfil. Se encontró una alta prevalencia de genes nle, los cuales codifican proteínas efectoras, presentando la mayoría de las cepas (87 %), independientemente del origen, perfil completo. En relación a los genes de FPV, se detectaron 15 perfiles, de los cuales sólo 4 fueron compartidos por cepas de ambos países. Todas las cepas presentaron ECSP-3620, ECSP-1773 fue el gen menos prevalente (18 % en Argentina y 26 % en Chile), mientras que ECSP-2687 prevaleció en el grupo de cepas de Argentina (89 %).

Conclusiones:

Nuestros resultados muestran la circulación casi exclusiva, en ambos países, de aislamientos VTEC O157:H7 del linaje intermedio I/II, asociado a cepas hipervirulentas, y al filogrupo E y, por otro lado, diversidad genética presente entre las cepas de Argentina y Chile, principalmente en relación a perfiles de FPV, dando cuenta de la importancia del análisis en conjunto de múltiples marcadores moleculares.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

ESTRATEGIAS PARA LA EXHIBICIÓN DE PROTEÍNAS HETERÓLOGAS SOBRE LA SUPERFICIE DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS USANDO COMO CARRIER EL DOMINIO CT DE SLPA DE LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

GORDILLO, Tania 1 | PALUMBO, Miranda Clara1 | FINA MARTIN, Joaquina2 | ALLIEVI, Mariana2 | BOCKOR, Sabrina1 | RUZAL, Sandra2 | PALOMINO, María Mercedes2

Introducción y Objetivos:

Las proteínas S-layer de *L. acidophilus* forman un rearmado cristalino de muy alta densidad unido a la pared celular de manera no covalente. SlpA, proteína S-layer predominante de *L. acidophilus* presenta dos dominios bien definidos: el NT, de interacción con el ambiente celular externo; y el CT, responsable del anclaje a la superficie bacteriana. Por otro lado las Bacterias Ácido Lácticas, por su status GRAS y porque muchas de ellas son especies con reconocidas características probióticas se han convertido en excelentes candidatos para ser usados como vehículos vivos de antígenos y proteínas bioactivas a nivel de mucosas con fines terapéuticos. Este trabajo tiene como objetivo principal evaluar la capacidad de anclaje de la proteína SlpA de *L. acidophilus* para la presentación en superficie de proteínas heterólogas en BAL y su estabilidad y viabilidad celular frente a condiciones gastrointestinales.

Materiales y Métodos:

Para esto se ha producido de manera heteróloga el dominio CT de SlpA fusionado a GFP en *Escherichia coli*, construcción denominada GFP-CTSlpA. Se han evaluado distintas especies de *Lactobacillus* para ser decoradas con la proteína carrier. También se han estudiado distintas estrategias de crecimiento para optimizar el binding de GFP-CTSlpA: células decapadas con LiCl 5M, NaCl 5M y células precrecidas en NaCl 0.5 y 0.6 M. El ensayo de binding consiste en crecer las células hasta fase estacionaria, realizar el decapado de S-layer y ajustar la DO 600nm a 1. Alícuotas de 300 µl de cultivo bacteriano son incubadas con 10 µg de GFP-CT SlpA por 60 min. 37 °C. Finalmente se cuantifica el binding con la proteína de fusión a través de microscopía de fluorescencia y técnicas de citometría de flujo. Hallado el mejor vehículo celular y la condición que garantice el mayor binding, se evaluó la estabilidad del mismo frente a condiciones gastrointestinales: estabilidad a pH ácido, sales biliares y pancreatina.

Resultados:

De las BAL estudiadas, el mejor vehículo celular resultó *L. acidophilus* previamente decapado con LiCl. Cuando este mismo microorganismo es precrecido en condiciones de estrés osmótico y además decapado con NaCl se logra una retención de la proteína recombinante del 50 % y 70 % respectivamente. En cuanto a la estabilidad del binding frente a condiciones gastrointestinales, se obtuvo una retención del 50% luego de la incubación a pH 3 y una retención superior del 60 % post incubación con sales biliares y pancreatina. En la viabilidad a condiciones de pH ácido (pH3) se ha visto una mayor tolerancia en células decoradas con la proteína GFP-CTSlpA (1x10⁷ UFC/ml) respecto de células decapadas (1.5x 10⁵ UFC/ml).

Conclusiones:

Estos resultados demuestran que *L. acidophilus* es un buen candidato para exponer en superficie proteínas o epitopes antigénicos a través del dominio CT de SlpA, demostrando además una estabilidad de la proteína expuesta cuando el microorganismo es sometido a condiciones de estrés propias del ambiente gastrointestinal.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN SUERO DE QUESO EN POLVO DE VISHNIACOZYMA VICTORIAE: LEVADURA SELECCIONADA COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO.

GORORDO, Florencia 1 | DEL MONACO, Silvana1 | LUCCA, Maria Ester2 | SANGORRIN, Marcela Paula1

PROBIEN (CONICET-UNCO) NEUQUEN, ARGENTINA 1; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. 2

Introducción y Objetivos:

Las peras, al ser un producto perecedero, requieren de conservación en frío para su conservación por largos períodos para regular la oferta. No obstante, durante esta conservación la fruta es susceptible a enfermedades fúngicas. El Control Biológico resulta una alternativa para la sustitución de fungicidas, con ventajas para la sostenibilidad ambiental y producción de fruta orgánica. En trabajos previos se seleccionó la levadura *V. victoriae* NPCC 1263 por su capacidad antagonista frente a enfermedades postcosecha de pera.

Materiales y Métodos:

En este trabajo iniciamos la optimización de un nuevo medio de cultivo a partir de suero de queso en polvo (SQP), con la intención de reemplazar insumos costosos. Se realizaron fermentaciones en reactor batch (12 L), se evaluó el rendimiento ($Y_{x/s}$) y calidad de la biomasa de levadura. Se ensayó para la conservación de las levaduras el secado por liofilización, con el objetivo de obtener un producto estable y que mantenga la efectividad antagonista. La viabilidad y efectividad antagonista, tanto de la biomasa fresca como deshidratada fue evaluada.

Resultados:

En primer lugar se realizó un Diseño Estadístico Experimental para explicar la interacción de 5 factores en la producción de biomasa. Se establecieron 18 corridas a 20°C y 150 rpm: SQP (20; 30; 40 g/l), glucosa (20; 30; 40 g/l); KH_2PO_4 (0,5; 2,5; 5 g/l), $SO_4(NH_4)_2$ (2; 6; 10 g/l) y $MgSO_4$ (0,25; 1,25; 2,25 g/l) en 100 mL de medio. A partir de los resultados se seleccionó el siguiente medio de cultivo en g/l: 40 suero, 20 glucosa, 2 $SO_4(NH_4)_2$, 5 KH_2PO_4 y 0,25 $MgSO_4$. Este medio fue comparado con otros en cultivos de 100 mL con SQP (50 y 60 g/l), sin glucosa y las mismas sales. Se seleccionó el medio con 60 g/l de SQP por ser el que mayor biomasa produjo y fue empleado para crecer la levadura a nivel de reactor, obteniendo una biomasa de 9,9 g/l en peso seco, una velocidad específica de crecimiento (μ) de 0,05 h⁻¹ y un $Y_{x/s}$ de 0,61 g/g. A partir de la biomasa obtenida de *V. victoriae* en reactor, se evaluó la conservación en fresco a 4°C durante un mes, en este período la viabilidad fue de 1% y 9% con sorbitol y glutamato respectivamente. Por otro lado se evaluó el secado por liofilización, por este procedimiento se obtuvo una viabilidad del 87% y 97% con los mismos crioprotectores. Las levaduras conservadas en las dos condiciones fueron evaluadas como antagonistas en heridas de peras frente a los patógenos *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea* a 0°C. La biomasa de *V. victoriae* fresca fue evaluada en ensayos a escala semicomercial en línea de empaque de peras, rociando 108 cel/mL sobre 1000 frutos de peras. Los tratamientos fueron conservados en postcosecha en cámaras frías durante 5 meses. Estos ensayos permitirán establecer una condición ideal para el desarrollo de biomasa fresca y deshidratada.

Conclusiones:

En un futuro *V. victoriae* podría ser utilizada como herramienta de biocontrol para las podredumbres postcosecha en la conservación de peras de producción orgánica en la región Norpatagónica

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

EFECTO DEL ACONDICIONAMIENTO FISIOLÓGICO SOBRE LA EFICACIA DE DOS LEVADURAS SELECCIONADAS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO EN POSTCOSECHA DE PERAS.

GRAMISCI, Betina | FERRARI, Ana | SANGORRIN, Marcela Paula

PROBIEN (CONICET-UNCO) NEUQUEN, ARGENTINA

Introducción y Objetivos:

Pichia membranifaciens NPCC 1250 y *Vishniacozyma victoriae* NPCC 1263 fueron seleccionadas en trabajos previos como agentes de control biológico (ACB) frente a fitopatógenos en peras de postcosecha. La producción de biomasa de levaduras a escala industrial requiere el empleo de residuos con la intención de reemplazar insumos costosos en la elaboración de los medios de cultivo. En este trabajo se evaluará si las diferentes condiciones de cultivo afectan el acondicionamiento fisiológico de las levaduras y si esto influye en la capacidad antagonista de las mismas frente a los fitopatógenos a controlar en pera. El estudio de resistencia de las levaduras a condiciones de estrés permitirá conocer la capacidad de las mismas para soportar las condiciones de producción, comercialización y aplicación de las mismas como ACB.

Materiales y Métodos:

Para cada levadura se desarrollaron medios de cultivo a partir de diferentes residuos; para *P. membranifaciens* se empleó un residuo de sidrera (RS) y melaza de caña de azúcar (MB) y para *V. victoriae* se empleó melaza de caña de azúcar en diferentes composiciones (MB) y (MO). La inducción de sistemas de defensa al estrés fue evaluada por los niveles intracelulares de trehalosa y la resistencia al peróxido de hidrógeno 30 mM (viabilidad, nivel de especies reactivas de oxígeno (EROs), de glutatión reducido (GSH) y la actividad catalasa (CAT)). La capacidad antagonista de las levaduras se determinó por el crecimiento en heridas de peras y por el biocontrol *in situ* frente a *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*.

Resultados:

Para *V. victoriae* los mayores porcentajes de viabilidad (55%) se obtuvieron en las levaduras crecidas en MB, presentaron mayor contenido de GSH (8-13 mmol/mgproteína) y de trehalosa (1,37 mg/PS) comparada con las levaduras crecidas en MO. La actividad CAT disminuyó con la exposición al H₂O₂ 1 h en células crecidas en MO (22%) pero aumentó en el medio MB (45%) y la producción de EROs aumentó 2 veces en MB contra 5 veces en MO a las 2 h de exposición a H₂O₂. En el caso de *P. membranifaciens* crecida en RS y MB los porcentajes de viabilidad fueron mayores en las levaduras

crecidas en MB, pero el contenido de trehalosa (164 mg/PS) y de GSH fue mayor las levaduras en las crecidas en RS. La actividad CAT de la levadura crecida en MB y expuesta a H₂O₂ no presentó diferencias significativas con respecto al control, si bien se observó una tendencia a disminuir en la condición estresante, en cambio en EROs no se observaron diferencias significativas entre las levaduras crecidas en las dos condiciones. *P. membranifaciens* producida en RS redujo la incidencia para ambos fitopatógenos entre el 90-95% y presentó una mayor capacidad de colonización (tres veces más UFC/heridas) que cuando se creció en MB.

Conclusiones:

Nuestros resultados sugieren que la resistencia al estrés oxidativo podría representar un mecanismo por el cual *V. victoriae* y *P. membranifaciens* mejoran la eficacia como ACB, cuando se desarrollan en MB y RS respectivamente.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

EL SISTEMA DE DOS COMPONENTES NTRYX DE BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS USDA 110 ESTÁ INVOLUCRADO EN LA TOLERANCIA A ESTRESSES

HEGEL, Valeria Alejandra | LAMELZA, Florencia | ITURRALDE, Esteban Tomás | LÓPEZ GARCÍA, Silvina Laura

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

reduce el N₂ atmosférico a NH₄⁺, para luego suministrárselo a la planta. El establecimiento de una simbiosis efectiva está determinado por el estado fisiológico tanto de la bacteria como de la leguminosa hospedadora. Existen varios factores medioambientales que pueden afectar esta interacción y, en consecuencia, la actividad fijadora de N, entre los que podemos citar el estrés salino, osmótico, déficit hídrico, temperaturas y pH extremos, o la disponibilidad de nutrientes en el suelo. En este sentido, el estrés hídrico y salino constituyen los dos factores más limitantes en la producción agrícola. Para sobrevivir y adaptarse a los diferentes estreses ambientales que soportan, las bacterias han desarrollado vías específicas de transducción de señales, entre las que se destacan los sistemas de dos componentes. En particular, *B. diazoefficiens* expresa, entre otros sistemas de señalización, el sistema de dos componentes NtrYX, constituido por el sensor histidina quinasa NtrY, una proteína transmembrana, y el regulador de respuesta NtrX. Recientemente, hemos observado que este sistema participa en diversos procesos como la movilidad bacteriana, formación de biofilms, síntesis de exopolisacáridos y en la fijación de N₂, aunque aún desconocemos los mecanismos moleculares de acción. En otras bacterias está reportado que NtrYX está vinculado a la tolerancia al estrés salino. Con la finalidad de continuar con la caracterización del sistema, en este trabajo nos propusimos evaluar su implicancia en la tolerancia a diversos estreses ambientales.

Materiales y Métodos:

Para llevar a cabo nuestro objetivo, obtuvimos un mutante delecional en el gen ntrY mediante la técnica crossover PCR (denominado "DELTA"ntrY), para luego evaluar su capacidad de crecimiento en medios a distintos pH, concentraciones salinas, compuestos tóxicos y déficit hídrico. Asimismo, nos propusimos estudiar el posible rol de la trehalosa como soluto osmoprotector en condiciones de estrés salino, evaluando la expresión relativa de genes involucrados en la biosíntesis de trehalosa y cuantificando la acumulación intracelular de dicho disacárido.

Resultados:

Observamos que el mutante ntrY fue capaz de tolerar el estrés oxidativo y ácido; mientras que resultó sensible frente al estrés salino, osmótico, toxicidad iónica y a la desecación. Por otra parte, encontramos que las vías de biosíntesis de trehalosa se encuentran inhibidas en el mutante, aunque el mismo fue capaz de acumular este compuesto en niveles comparables a los de la cepa salvaje.

Conclusiones:

A partir de los resultados obtenidos podemos inferir que el sistema NtrYX de *B. diazoefficiens* USDA 110 actúa como un regulador global en respuesta a estreses, lo que resulta de interés agronómico en pos de producir mejoras en el proceso simbiótico con plantas de soja, aunque resta aún profundizar cómo es la cascada de señalización

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ANALYSIS OF THE COMPLETE GENOME SEQUENCE OF OENOLOGICAL LACTOBACILLUS PLANTARUM UNQLP 11 ISOLATED FROM PATAGONIAN RED WINE

IGLESIAS, Gabriel | BRIZUELA, Natalia | TYMCZYSZYN, Emma Elizabeth | VALDES LA HENS, Danay |

HOLLMANN, Axel | SEMORILE, Liliana | BRAVO FERRADA, Barbara UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES

Introduction and objectives: Malolactic fermentation (MLF) is the process responsible for the conversion of L-malic acid to L-lactic acid and CO₂, which reduces total acidity, improves biological stability and modifies the aroma profile of the wine. MLF takes place during or after alcoholic fermentation and is carried out by one or more species of lactic acid bacteria (LAB) present in grapes and cellars, or inoculated as malolactic starters. The UNQLp 11 genome is the first complete sequence of a *Lb. plantarum* isolated from red wines from the southern region of the American Continent. The available genomic information provides us with new opportunities to study the flavor forming potential of this LAB and other important technological properties. We aim to illustrate the natural genomic architecture and the metabolic consequences of UNQLp 11 that is essential to evaluate the potential of this strain as a malolactic starter. Materials and methods: To obtain DNA, 1 mg/ml of lysozyme with 1% sodium dodecyl sulfate was used. Proteins were removed with 0.1 g/ml of proteinase K, followed by phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1) extraction. A total of 16 µg of high-quality genomic DNA was required for library preparation and sequencing. A whole-genome

shotgun library was constructed using a 20-kb SMRTbell version 1.0 template prep kit, followed by single-molecule real-time (SMRT) sequencing conducted on an RS II (Pacific Biosciences) sequencer (Macrogen). A total of 1,268,593,327 reads (383,24 -fold coverage and a polymerase read N50 size of 21,044 bp), with an average length of 14,480 bp and an estimated accuracy of 85.5 %, were used as input for de novo assembly with the Canu package. The Canu output consisted of a single circular contig without gaps. Prediction and annotation of coding sequences were conducted with Gene MarkS. Genome annotation was done using the NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline. Protein function prediction were done using Blast2GO 5.1.1 Results: UNQLp 11 genome analysis showed the ability for the production of enzymatic activities and metabolites of oenological interest. The importance of our in silico analysis is in guiding future genomics sequencing and experimentation and there by validating our predictions. Conclusions: The chromosomal sequence of the Lb plantarum UNQLp 11 reveals numerous responsible genes for production of metabolites important in the formation of aromas in the production of wine. In addition, the analysis indicates that this strain has the possible to be associated with a wide variety of environments, being able to use different substrates for its growth. That is why, UNQLp11 has the opportunity of being a player as a starter of the MLF. Although the presence of genes does not guarantee its expression during a vinification process, the genome analyses screening allows knowing which strains have the chance to synthesizing enzymes related to aroma production in wine. Finally, the complete genome sequence of Lb. plantarum UNQLp11 may improve our understanding on the FML effects of and extend its potential applications in food fermentation

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
--	--

BIO MINERALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN GEOBACTER SULFURREDUCTENS PARA LA OBTENCIÓN DE CITOCROMOS TIPO-C

INCHAURRONDO, Joaquin | PEDETTA, Andrea | BUSALMEN, Juan Pablo | ORDÓÑEZ, Maria Victoria

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES

Introducción y Objetivos:

Geobacter sulfurreducens es una bacteria electro-activa capaz de reducir un gran número de aceptores finales de electrones insolubles. Esta habilidad se debe en gran medida a la presencia en dicha bacteria anaerobia de una gran variedad de citocromos tipo-c (c-Cyts). Muchos ellos se localizan en la membrana externa (Omc c-Cyts), permitiendo que la transferencia electrónica atraviese los límites de la célula. Dentro de los posibles aceptores finales se encuentran los oxihidróxidos de hierro, algunos de los cuales se reducen produciendo nanopartículas de magnetita ($\text{Fe} + 2\text{Fe}^{2+} + 3\text{O}_4$), un mineral con propiedades magnéticas. Si bien se ha comprobado previamente la

síntesis de estas nanopartículas en cultivo de *G. sulfurreducens*, a la fecha no se conoce su mecanismo de síntesis. El objetivo de este trabajo es explorar la posibilidad de utilizar materiales magnéticos producto del metabolismo de *G. sulfurreducens* como fuente de Omc c-Cyts, para su posterior purificación y estudio de sus características bioquímicas y electroquímicas, así como también evaluar los mecanismos de síntesis de los nanomateriales magnéticos obtenidos.

Materiales y Métodos:

Para ello, cultivos de *G. sulfurreducens* crecidos durante 15 días en Acetato como dador y Fumarato como aceptor, son enfrentados a un Oxihidróxido de hierro (III) e incubados en anaerobiosis, para producir magnetita. Luego de 15 días de incubación se comprobó la presencia de magnetismo en el precipitado en los cultivos y se procedió a la purificación de este material por medio de imanes de neodimio, y un protocolo secuencial de centrifugación y sonicación. El material colectado se analizó por Difracción de Rayos X (DRX), microscopía Raman y se observó en Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) para determinar su naturaleza y composición química, además de explorar por la presencia de Omc c-Cyts.

Resultados:

Análisis de las micrografías de TEM obtenidas a partir de las diferentes fracciones purificadas de cultivos incubados con concentraciones crecientes de precursores de hierro sugieren la presencia de nanopartículas de magnetita, las cuales muestran una morfología que concuerda con la reportada previamente. Por otra parte, el análisis de los espectros Raman y patrones de DRX corroboran la presencia de picos característicos para magnetita en combinación con otros cristales de óxidos de hierro como goetita. Ensayos de electroforesis en geles de poliacrilamida semidesnaturalizantes y análisis mediante espectrofotometría serán realizados para verificar la potencial interacción de las nanopartículas bio-mineralizadas con los citocromos tipoc característicos de *G. sulfurreducens*.

Conclusiones:

Aunque preliminares, los resultados obtenidos permitieron profundizar en la caracterización de las nanopartículas de magnetita biomineralizadas por cultivos de *Geobacter*. Asimismo, a partir del trabajo realizado se logro llevar a cabo la purificación de dichas nanopartículas a partir de muestras mas complejas, aprovechando las propiedades magneticas del material bajo estudio. Finalmente, si bien los espectros Raman obtenidos parecen sugerir la presencia en las fracciones de nanopartículas aisladas de citocromos tipo-c, futuros ensayos bioquímicos y electroquímicos permitirán corroborar dicha hipótesis.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE DOS CEPAS DE DIATOMEAS: DIADESMIS SP. Y NITZSCHIA SP.

ISHIGURO, Cristian | VELA, Valentina Sol | GONZÁLEZ, María José | OLIVELLI, Melisa
UNIVERSIDAD ARGENTINA DE LA EMPRESA (UADE), INSTITUTO DE TECNOLOGÍA.

Introducción y Objetivos:

Las diatomeas son un grupo de microalgas que ha adquirido gran importancia biotecnológica debido a su capacidad para producir lípidos que se pueden usar como complementos alimenticios, para la producción de biodiesel o en productos farmacéuticos. Por otro lado, varios estudios han postulado que la producción de lípidos aumenta cuando los microorganismos están sometidos a condiciones de estrés. El objetivo de este trabajo es comparar la eficiencia de producción de lípidos de interés de dos cepas de diatomeas aisladas de diferentes ambientes (prístino y contaminado); a modo de evaluar su potencial biotecnológico.

Materiales y Métodos:

Se utilizaron dos cepas: *Diadesmis* sp. Y *Nitzschia* sp; aisladas de un sitio altamente contaminado (Río Luján) y uno prístino (Reserva Municipal de Rivera Norte), respectivamente. El crecimiento de los cultivos se realizó en medio DM modificado, a 24°C con fotoperíodos de 16: 8 horas (luz: oscuridad). Se determinaron las cinéticas de crecimiento de ambas en función del número de células. Se comparó la acumulación de lípidos totales en función del tiempo para cada una de las cepas empleadas. Para la determinación cualitativa de lípidos neutros acumulados en las células se utilizó la técnica de espectrofluorometría con Rojo de Nilo. La extracción y cuantificación de la fracción de lípidos totales se realizó mediante la técnica modificada de Folch. Luego, se realizó el fraccionamiento del extracto en: lípidos neutros, glicolípidos y fosfolípidos. Se realizó, además, la transesterificación de todas las fracciones y se analizó el perfil de ácidos grasos obtenidos mediante CG-FID.

Resultados:

El estudio de la cinética de crecimiento indicó que *Nitzschia* sp. presentó un mayor número de células totales, sin embargo el porcentaje de acumulación de lípidos de *Diadesmis* sp. fue mayor a lo largo de toda la curva de crecimiento. Al comienzo de la fase exponencial, la acumulación de lípidos fue de 44% y de 34% para *Diadesmis* sp. y *Nitzschia* sp., respectivamente. En la fase exponencial tardía de crecimiento, la acumulación de lípidos fue de 82% y de 66% para *Diadesmis* sp. y *Nitzschia* sp., respectivamente. Mientras que, en la fase estacionaria de crecimiento *Nitzschia* sp. presentó una acumulación de lípidos del 53% y *Diadesmis* sp. acumuló un 79% de lípidos totales. El análisis del perfil de ácidos grasos de cada fracción no indicó diferencias entre las cepas estudiadas. Los resultados mostraron en todas las fases de crecimiento la fracción de lípidos neutros es mayoritaria, siendo los ácidos caprílico, margárico y palmítico, los más predominantes por sobre los ácidos grasos de cadenas más largas. Asimismo, también se detectó ácido esteárico.

Conclusiones:

Estos resultados indicaron que la cepa *Diadesmis* sp. presentó la mayor acumulación de lípidos y que el perfil de ácidos grasos es abundante en ácidos grasos de cadena mediana, haciendo a las diatomeas un buen productor de sustrato para la producción de biodiesel a diferencia de otras algas

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS BIOSURFACTANTES PRODUCIDOS POR DOS CEPAS DE PSEUDOMONAS EN LA DEGRADACIÓN DE DIÉSEL EN MICROCOSMOS DE SUELO

JACOBY, Maria Del Rosario | LOPEZ, Nancy I | RAIGER IUSTMAN, Laura J.

DEPARTAMENTO QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA

Introducción y Objetivos:

La contaminación por hidrocarburos es un problema ambiental cada vez más preocupante siendo la biorremediación uno de los métodos de elección empleados para su tratamiento. Sin embargo, uno de los factores limitantes en su éxito es la baja biodisponibilidad de numerosas fracciones del petróleo. La Biorremediación Mejorada con Surfactantes (BMS) es una técnica de bioestimulación que permite mejorar la disponibilidad de los hidrocarburos y otras sustancias hidrofóbicas y consiste, habitualmente, en la adición de surfactantes no biodegradables. En nuestro laboratorio se han aislado 5 cepas capaces de sintetizar compuestos tensioactivos, de los cuales los producidos por *Pseudomonas* sp. MM y *Pseudomonas* sp. ML fueron los que presentaron un mejor desempeño en cuanto a la disminución de la tensión superficial y la capacidad emulsificante. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de los compuestos tensioactivos producidos por *Pseudomonas* sp. MM y *Pseudomonas* sp. ML en la biodegradación de hidrocarburos llevados a cabo en microcosmos de suelo.

Materiales y Métodos:

Las cepas bacterianas fueron cultivadas en medio mínimo con suplementado aceite de girasol durante 48 hs para luego obtener por centrifugación los sobrenadantes libres de células. Estos sobrenadantes fueron acidificados a pH 2 con HCl y luego de una centrifugación, los pellets conteniendo los biosurfactantes fueron resuspendidos en buffer TRIS-HCl 0.1mM PH 8 y sometidos a una partición con acetato de etilo. La fracción orgánica fue colectada y posteriormente liofilizada para obtener los extractos crudos ML (EC-ML) y MM (EC-MM). De cada extracto crudo se obtuvo la concentración micelar crítica (CMC). Para los ensayos de BMS se construyeron microcosmos con 10 g de tierra obtenida de un sitio crónicamente contaminado de la localidad del Cuartel V, Partido de Moreno, Bs. As., suplementado con 10% de diésel. Para analizar el efecto EC-ML y EC-MM se agregó a los microcosmos correspondientes el equivalente a 2 CMC. El diésel remanente se midió a los 30 días por cromatografía gaseosa.

Resultados:

El ensayo de CMC dio un valor de $612 \pm 8 \mu\text{g/ml}$ y $317 \pm 11 \mu\text{g/ml}$ para EC-ML y EC-MM respectivamente, por lo que éste último resultaría ser más eficiente. En los ensayos en microcosmos de suelo, se observó que el agregado de EC-MM incrementó significativamente la degradación del diésel respecto al control en un 47% ($P < 0,001$) mientras EC-ML produjo un aumento de la degradación del 13% respecto al control ($P: 0,24$).

Conclusiones:

En conclusión, se observó que el efecto del agregado de los biosurfactantes obtenidos mejora la degradación de los alcanos que conforman el diésel, por lo que la biorremediación mejorada a través del agregado de los mismos es una posible alternativa para tratar suelos contaminados con hidrocarburos.

LA EXPOSICIÓN A COMPUESTOS VOLÁTILES PRODUCIDOS POR *PROTEUS MIRABILIS* EN MEDIO DE ORINA ARTIFICIAL DISMINUYE LA VIABILIDAD DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* EN CULTIVOS PLANCTÓNICOS Y BIOFILMS

JUAREZ, Guillermo Esteban | GALVAN, Estela Mari

CONICET - CEBBAD, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES, LAB. PATOGÉNESIS BACTERIANA

Introducción y Objetivos:

Las infecciones polimicrobianas pueden dar lugar a interacciones inter-especies que alteren el establecimiento, progresión y severidad del cuadro clínico. Dentro de las infecciones nosocomiales más comunes se encuentran las infecciones urinarias asociadas a catéter (IUAC), que frecuentemente son de carácter polimicrobiano. Previamente, en nuestro laboratorio se estudió el desarrollo de co-cultivos de cepas de *Klebsiella pneumoniae* (Kp) y *Proteus mirabilis* (Pm) aisladas de un paciente con IUAC en medio de orina artificial (MOA), y se describió que Kp sufre una pérdida de viabilidad tanto en co-cultivos planctónicos como en biofilms mixtos. La generación de compuestos volátiles (PmV) por parte de Pm, entre ellos amoníaco, podrían estar involucrados en el efecto bactericida. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de los PmV para afectar la viabilidad de Kp en cultivos planctónicos y biofilms. Además el estudio se extendió a otras especies aisladas de IUAC.

Materiales y Métodos:

Se ensayaron diferentes sistemas de cultivo en MOA a 37°C, en donde Pm y Kp fueron inoculados en compartimentos que no permitieron el contacto físico entre células de diferentes especies, pero con un espacio aéreo en común. Cultivos de Kp en medio líquido, en superficie de medio sólido agar 1,5%, o bien, biofilms desarrollados durante 3 d sobre placas de poliestireno se expusieron a PmV generados por Pm en su vecindad. A distintos tiempos se determinó el número de UFC por el método de diluciones seriadas y posterior siembra en placas de LB (Kp) y LB con bajo sodio (Pm). También se evaluó el efecto sobre la biomasa de los biofilms mediante la técnica de cristal violeta.

Resultados:

Los resultados mostraron que cultivos planctónicos de Kp sufrieron una pérdida de viabilidad de 3 logs luego de 18 h de exposición a PmV, en comparación con el control, siendo Kp indetectable a las 24 h. Cuando se sembraron gotas de Kp conteniendo 10⁵ células en MOA agar y se incubaron por 48 h en presencia de PmV se detectó una reducción de la viabilidad de 4 logs. Tamponando el MOA a pH 6,5 con PIPES 0,1 M se observó un aumento de 1 log en el crecimiento de Kp control (sin PmV) y una reducción de sólo 1 log cuando se expuso a PmV. Por otra parte, la exposición de cultivos de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Morganella morganii* a PmV durante 48 h redujo drásticamente la viabilidad de *E. coli* y *M. morganii*, pero no afectó a *E. faecalis*. Biofilms preformados de Kp expuestos a PmV mostraron disminución tanto el número de células viables (caída de 3 logs)

como en la biomasa del biofilm (reducción del $41 \pm 19\%$), comparados con los respectivos controles sin tratar.

Conclusiones:

Estos resultados sugieren que los compuestos volátiles producidos por *P. mirabilis* en MOA tienen un alto poder bactericida sobre bacterias gram negativas uropatógenas, incluso cuando éstas se encuentran formando estructuras de resistencia como lo son los biofilms.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

CARACTERIZACIÓN DEL PROFAGO PORTADOR DE STX2A DE UNA CEPA DE ESCHERICHIA COLI O145:H- QUE NO EXPRESA TOXINA SHIGA

KRÜGER, Alejandra¹ | BURGÁN, Julia¹ | MUTTERS, Nico T.2 | ROSSEN, John W. A.3 | LUCCHESI, Paula M. A. 1

LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA 1; CENTER FOR INFECTIOUS DISEASES, MEDICAL MICROBIOLOGY AND HYGIENE, HEIDELBERG UNIVERSITY HOSPITAL 2; DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY, UNIVERSITY MEDICAL CENTER GRONINGEN, UNIVERSITY OF GRONINGEN 3

Introducción y Objetivos:

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es agente causal en humanos de diarrea, colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH). Esta toxina está codificada en fagos que se encuentran integrados en el genoma bacteriano (profagos), y la expresión y secreción de la misma están asociadas al ciclo lítico de estos fagos. Las cepas STEC productoras del subtipo 2a de la toxina son las que se aíslan con mayor frecuencia de casos de CH y SUH, y el serotipo más reportado es O157:H7, seguido, en Argentina, por O145:H-. Estudios previos en nuestro laboratorio mostraron que la mayoría de las cepas O145:H- analizadas expresaban *stx2a* y producían fagos Stx2a, independientemente de su origen (humano o bovino). La excepción fue una cepa aislada de humano (denominada 355), por lo cual se decidió secuenciar su genoma para identificar características que pudieran explicar estas diferencias. El objetivo se centró en analizar genéticamente al profago que porta el gen *stx2a* de esta cepa y compararlo con el profago ArgO145 de una cepa STEC O145:H- de Argentina que expresa la toxina y produce partículas infectivas del fago.

Materiales y Métodos:

El ADN de la cepa 355 se extrajo con un kit comercial y se secuenció el genoma completo mediante la plataforma Illumina MiSeq obteniendo lecturas pareadas de 250 pb con una cobertura mínima de 60 veces. El ensamblaje de novo de los contigs se realizó utilizando el software CLC Genomics Workbench (Qiagen) y el análisis comparativo a través de BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST).

Resultados:

Se detectó *stx2a* en un contig que, si bien no cubre todo el genoma del fago, contiene también los genes codificantes de las proteínas regulatorias CI, Cro y Q. Este contig presentó 100% de identidad

con ArgO145 excepto en un número pequeño de bases en sus extremos que corresponderían a extremos de secuencias de inserción (IS). Por comparación con el genoma de ArgO145 se identificaron otros 4 contigs con alta similitud de secuencia, dos de ellos también con un extremo correspondiente a un fragmento de IS. Los 5 contigs identificados cubren el 97,6 % del genoma de ArgO145 con una identidad cercana al 100% y sugieren la presencia de IS en dos sectores del genoma del profago de la cepa 355 que corresponden a probables proteínas de función desconocida.

Conclusiones:

Los resultados indican que las diferencias en cuanto a transcripción de stx2a e inducción del profago no estarían explicadas por la región regulatoria ubicada inmediatamente río de arriba del operón stx2a y que alguna de estas proteínas interrumpidas por IS tendría un rol importante en la transcripción de los genes relacionados con el ciclo lítico del fago

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LOS PRIMEROS AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE ESCHERICHIA COLI PORTADORES DEL SUBTIPO 2F DE TOXINA SHIGA

KRÜGER, Alejandra¹ | PASCAL, Stefanía¹ | LORENZO LÓPEZ, Juan Ramiro² | MUTTERS, Nico T.3 | PARMA, Yanil R.1 | ROSSEN, John W. A.4 | LUCCHESI, Paula M. A. 1

LABORATORIO DE INMUNOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA. CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA 1; CIVETAN, CONICET, CIC, FCV, UNCPBA 2; CENTER FOR INFECTIOUS DISEASES, MEDICAL MICROBIOLOGY AND HYGIENE, HEIDELBERG UNIVERSITY HOSPITAL 3; DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY, UNIVERSITY MEDICAL CENTER GRONINGEN, UNIVERSITY OF GRONINGEN 4

Introducción y Objetivos:

Entre las cepas de Escherichia coli productoras de toxina Shiga (STEC), las que son portadoras del subtipo 2f han sido aisladas de aves, principalmente palomas, y de casos de enfermedad en humanos (generalmente diarrea moderada y en ocasiones síndrome urémico hemolítico). En algunas regiones, como los Países Bajos, la frecuencia en humanos parece ser mayor que en otras, pero esto puede relacionarse con la capacidad de identificar este subtipo de toxina, ya que no todas las metodologías que se aplican para STEC pueden detectarlo. Mientras que en Argentina este subtipo aún no ha sido detectado en aislamientos obtenidos de pacientes, nuestro grupo reportó su presencia en muestras provenientes de palomas. El objetivo de este trabajo fue aislar cepas positivas para stx2f a partir de dichas muestras, y realizar una caracterización genética y análisis comparativo con cepas de otros países.

Materiales y Métodos:

Se analizaron colonias individuales por PCR con primers específicos para stx2f. Se cultivaron las

colonias positivas y se extrajo el ADN bacteriano con un kit comercial (Microbial DNA isolation kit, MoBio). Se empleó 1 ng para la preparación de la biblioteca y secuenciación empleando una plataforma Illumina MiSeq. Se obtuvieron lecturas pareadas de 250 pb con una cobertura mínima de 60 veces. El ensamble de novo de los contigs se realizó utilizando el software CLC Genomics Workbench (Qiagen). Mediante análisis del gen *rpoB* se determinó la especie bacteriana. Las secuencias genómicas se anotaron mediante RAST y se analizaron empleando diferentes herramientas bioinformáticas como BLAST, VirulenceFinder, PlasmidFinder, ResFinder, entre otras.

Resultados:

Se obtuvieron dos aislamientos *stx2f*-positivos denominados P13 y T47, correspondientes a una muestra de materia fecal de paloma y a una muestra de hisopado de paloma con diarrea de un palomar, respectivamente. El análisis *in silico* confirmó que ambas cepas eran *Escherichia coli* portadoras del subtipo *stx2f* y pertenecientes al serotipo O75:H2. Se identificó también en ambas cepas la presencia de otros genes asociados a virulencia (*astA*, *eae*, *tir*, *espA*, *espB*, *espF*, *nleA*, *nleB*, *nleC*, *cdt*), del gen *mdf(A)* asociado a resistencia a antibióticos (macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B), y de un plásmido similar al pO111. En la cepa P13 se identificó, además, la presencia del gen *bfpA* en un aparente entorno plasmídico (plásmido IncFIB). El alelo de *bfpA* identificado correspondió a un subtipo recientemente descrito. El análisis comparativo reveló que estos aislamientos presentan un perfil genético de virulencia y de resistencia a antibióticos semejante a una cepa *stx2f* positiva del mismo serotipo, aislada de paloma en Italia en 1997.

Conclusiones:

Nuestros resultados indican la presencia en Argentina de cepas STEC *stx2f*-positivas con numerosos factores de virulencia y alta similitud con la cepa aislada en Italia. Asimismo, dado que el gen *bfpA* es característico de cepas *E. coli* enteropatógenas típicas, al igual que la cepa italiana, P13 sería un híbrido STEC/EPECt.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

ROL DE LAS PROTEÍNAS PII EN LA INTERACCIÓN DE BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENS USDA 110 CON PLANTAS DE SOJA

LAMELZA, Florencia | HEGEL, Valeria Alejandra | MENGUCCI, Florencia | LÓPEZ GARCÍA, Silvana Laura

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos:

Las proteínas PII son una familia de proteínas de transducción de señales esenciales en la coordinación de la regulación de diversos procesos que conectan el metabolismo del N y del C

intracelular. Estas proteínas se dividen en dos subfamilias denominadas GlnB (codificada por el gen glnB) y GlnK (codificada por el gen glnK), muy similares entre ellas y con una versatilidad funcional muy llamativa, teniendo roles completamente diferentes, aunque a veces pueden reemplazarse en sus funciones. En el genoma de *B. diazoefficiens* USDA 110, rizobio que fija N₂ atmosférico en asociación simbiótica con plantas de soja, encontramos una copia de glnB y dos copias de glnK que denominamos glnK1 y glnK2. En general, los rizobios tienen sólo una copia de glnK, por lo que nos propusimos investigar si las dos copias son funcionales, y si es así cuál es el rol que cumple cada una de ellas, junto con GlnB, en esta bacteria. Un aspecto importante de la fijación biológica de N₂ (FBN) es que este proceso es independiente de la regulación del metabolismo de N de la bacteria en vida libre, sugiriendo que las proteínas PII no serían necesarias para llevar a cabo una simbiosis eficiente. Sin embargo, en algunos rizobios se ha observado que la delección de GlnB o de GlnK afecta la formación de nódulos y la fijación de N. Dado que la función de las diferentes PII en *B. diazoefficiens* en simbiosis aún no ha sido descrita, en este trabajo nos propusimos evaluar el fenotipo de cada una de las cepas mutantes en GlnB, GlnK1 y en GlnK2 en su interacción simbiótica con plantas de soja.

Materiales y Métodos:

En primer lugar, se obtuvieron mutantes limpios en las tres proteínas PII de *B. diazoefficiens* denominados "DELTA"glnK1, "DELTA"glnK2, "DELTA"glnB. Posteriormente, se llevaron a cabo ensayos con plantas de soja, en los cuales se evaluó la nodulación, la asimilación de N y la capacidad fijadora de N. Los resultados fueron analizados en un análisis de varianza con $p < 0,01$ utilizando el test de Tukey. Finalmente, se analizó la estructura de los nódulos invadidos por los diferentes mutantes.

Resultados:

Los resultados obtenidos demostraron que solo las plantas inoculadas con la cepa mutante "DELTA"glnB mostraron alteraciones en los parámetros simbióticos en relación a las plantas inoculadas con la cepa salvaje. Así, observamos una menor infectividad (menor número de nódulos por planta), con nódulos pequeños y blanquecinos (indicio de una alteración en la FBN), un menor desarrollo de la parte aérea y, por último, una disminución en la asimilación de N. Asimismo, la ausencia de GlnB así como también la ausencia de GlnK1, condujo a una menor ocupación de los nódulos. Sin embargo, la menor ocupación observada en los nódulos ocupados por la cepa "DELTA"glnK1 no afectó la FBN ni la asimilación de N. Finalmente, el análisis microscópico de los nódulos demostró que la delección de cualquiera de las PII condujo a una acumulación de gránulos de almidón en el interior de las células vegetales.

Conclusiones:

Todas las proteínas PII de *B. diazoefficiens* USDA 110 se encuentran involucradas en el metabolismo del C del bacteroide, siendo solo GlnB la que cumple un rol fundamental en el desarrollo del nódulo y la supervivencia del bacteroide dentro del mismo.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

IMPACTO DE LA RELOCALIZACIÓN DE GENES IMPLICADOS EN EL FLUJO DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA EN EL CRECIMIENTO BACTERIANO Y LA APTITUD ADAPTATIVA

LAROTONDA, Leticia Inés | BORDIGNON, Belén | COMERCI, Diego José | SOLER BISTUÉ, Alfonso

IIBIO-UNSAM

Introducción y Objetivos:

La tasa de crecimiento (TC) es un parámetro clave de la fisiología bacteriana que varía ampliamente entre microorganismos. Sin embargo, su base genética no se ha esclarecido aún. En bacterias de crecimiento rápido, los genes que codifican para proteínas ribosomales (PR) y la ARN polimerasa (ARNP) se ubican cerca del origen de replicación (*oriC*). Bacterias de crecimiento rápido se dividen, en condiciones óptimas, en un tiempo menor al requerido por la ADN polimerasa para completar la duplicación del genoma. Esta paradoja se resuelve superponiendo rondas de replicación, al reiniciar la duplicación del ADN en cromosomas parcialmente replicados, un proceso llamado replicación multi-horquilla. Como consecuencia, los genes cercanos al *oriC* se benefician de una mayor dosis durante esta fase del crecimiento. Por lo tanto, dicho sesgo posicional puede ser una estrategia para maximizar la expresión de los genes de transcripción y traducción. Como la mayoría de estas observaciones provienen de estudios bioinformáticos, nuestro objetivo es probar experimentalmente estas correlaciones en una bacteria de crecimiento rápido.

Materiales y Métodos:

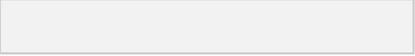
Usamos *Vibrio cholerae* como modelo experimental. Su genoma puede modificarse ampliamente mediante transformación natural acoplada a técnicas de recombinación basadas en recombinasas de fagos lambda. Como loci modelo, estudiamos S10-*spc-a* (S10), que codifica la mayoría de PR y *rpoBC* que codifica al núcleo de la única ARNP bacteriana.

Resultados:

Con las herramientas mencionadas anteriormente, alteramos la ubicación genómica de los loci S10 y *rpoBC* colocándolos a distancias crecientes del *oriC*. Nuestros resultados muestran que esto provocó una disminución de la TC y de la aptitud adaptativa. Contrariamente a lo esperado, la relocalización de S10 causó un efecto más fuerte. Por otra parte, la relocalización cercana al sitio original no mostró ningún fenotipo por lo tanto, el proceso de relocalización per se no es el responsable de fenotipos observado. A través de la microscopía time-lapse, verificamos que las diferencias en las curvas de crecimiento se deben a cambios en la TC y no a cambios morfológicos, a la pérdida de viabilidad o muerte de una subpoblación. Además, el parámetro de UFC /DO fue invariable entre las cepas, lo que sugiere que la relocalización del locus no altera la viabilidad celular.

Conclusiones:

La alteración de la posición genómica de RP y ARNP afecta directamente la TC. Trabajos previos de genómica comparada asignaban mayor efecto a estas últimas en la predicción del tiempo generacional. Si bien ambos loci afectaron a TC nuestros experimentos muestran lo contrario. En trabajos futuros, buscaremos empujar el crecimiento de *Vibrio cholerae* a su límite inferior.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

EFFECTO DEL ÁCIDO P-CUMARICO SOBRE LA VIABILIDAD Y PRODUCCIÓN DE HISTAMINA DE LACTOBACILLUS PARACASEI AISLADO DE VINO DE TUCUMÁN.

LEDESMA, Silvana Cecilia | RUBIO, María Cristina | AREDES FERNÁNDEZ, Pedro

FACULTAD DE BIOQUIMICA QUIMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN

Introducción y Objetivos:

En el proceso de vinificación, el desarrollo incontrolado de bacterias lácticas (BL) indeseables con actividad descarboxilante de aminoácidos libres pueden originar la formación de aminas biogénicas (AB), que a su vez pueden afectar la salud del consumidor y la calidad del producto final. La histamina es una de las principales AB presentes en vinos y puede producir trastornos alérgicos y vasculares. En la actualidad el agente antibacteriano comercial utilizado es el dióxido de azufre (SO₂), sin embargo, este químico puede ocasionar reacciones alérgicas e intolerancia en personas sensibles. Por tal motivo, la tendencia actual es la búsqueda de alternativas naturales para reemplazar o disminuir el uso del SO₂. En este sentido, los compuestos fenólicos podrían representar una alternativa eficaz como agentes de biocontrol. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de ácido p-cumárico, compuesto fenólico habitualmente presente en vinos, sobre la viabilidad bacteriana y producción de histamina de *Lactobacillus paracasei* AT45, microorganismo reportado con actividad histidina descarboxilasa positiva, aislado de vino de Tucumán, Argentina. Se evaluó también el efecto conjunto en diferentes concentraciones del ácido p-cumárico y metabisulfito de sodio.

Materiales y Métodos:

Los ensayos se realizaron en vino tinto comercial suplementado con ácido p-cumárico en concentraciones de 400, 200, 100, 50 mg/L, y metabisulfito de sodio en concentraciones de 80, 60, 40, 20 mg/L, en forma individual o combinada. *Lb. paracasei* AT45 se inoculó a una concentración de 107 ufc/mL, se incubó 96 h a 23°C y se tomaron muestras cada 48 h. La viabilidad se determinó mediante recuento de colonias en medio sólido. La concentración de histamina se cuantificó mediante un método colorimétrico reportado previamente y desarrollado por nuestro equipo de trabajo.

Resultados:

En el medio control, el microorganismo disminuyó la viabilidad hasta 4,05 Log ufc/mL a 96 h, detectándose una concentración de histamina de 14,35 mg/L. En presencia de 200 mg/L de ácido p-cumárico o 40 mg/L de metabisulfito, se produjo inhibición total de crecimiento y no se detectó histamina en el medio. Al combinar ambos antibacterianos, la menor concentración a la que se produjo inhibición total del crecimiento fue la combinación de 100 y 20 mg/L para ácido p-cumárico y

metabisulfito, respectivamente. Se estableció, mediante el cálculo del índice de concentración inhibitoria fraccional (ICIF) (isobogramas de Berenbaum) un efecto aditivo en la respuesta inhibitoria cuando se combinan ambos compuestos.

Conclusiones:

El ácido p-cumárico podría llegar a ser una alternativa natural para reemplazar y/o disminuir el uso del metabisulfito de sodio comúnmente utilizado en la industria para el control de bacterias lácticas alterantes durante el proceso de vinificación o añejado de los vinos.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

DESARROLLO DE BACILLUS PUMILUS EMPLEANDO COMO MEDIO DE CULTIVO DESECHOS DE CULTIVO DE MANDIOCA (MANIHOT ESCULENTA CRANTZ)

LEGUIZAMÓN, Alejandro Javier 1 | ROMPATO, Karina Mariela1 | AUDISIO, Carina2

LABORATORIO DE INVESTIGACION EN MICROBIOLOGÍA Y ALIMENTOS, FCS, UNAF 1; INIQUI-CONICET, UNSA 2

Introducción y Objetivos:

Las hojas de mandioca son una buena fuente de proteínas, vitaminas y minerales. Por otro lado, como es un desecho de cultivo, podría ser usado en diferentes procesos fermentativos a fin de obtener compuestos bioactivos de interés o para la elaboración de piensos para animales. El género *Bacillus* sp. es considerado GRAS con excepción de las especies *cereus* y *anthracis*. Es utilizado en la industria para la producción de una amplia variedad de enzimas y otros metabolitos. Se han realizado numerosas investigaciones utilizando este género microbiano en procesos de fermentación líquida y sólida (FFS). En este sentido la FFS presentaría una ventaja sobre la primera debido al menor requerimiento energético y bajo costo, además de permitir el uso de desechos como sustrato. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el desarrollo de una cepa de *Bacillus* en fermentadores con harina de hojas de mandioca a distintas concentraciones de humedad.

Materiales y Métodos:

Se evaluaron tres tipos de fermentación, líquida, semi-sólida y sólida, empleando como sustrato harina de hojas de mandioca cultivadas en la provincia de Formosa, al que se le adicionó distintos volúmenes de agua destilada para obtener los diferentes valores de humedad; 66% para la sólida, 80% para la semi-sólida y 90% para la líquida. Los fermentadores se inocularon con una cepa de *B. pumilus* y se incubaron durante 7 días a 37°C en condiciones de aerobiosis y sin agitación. Para valorar el desarrollo microbiano se realizó el recuento de células viables vegetativas y esporas. El análisis estadístico de los resultados consistió en un ANAVA y prueba de comparación de medias según la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% utilizando el paquete estadístico

INFOSTAT®.

Resultados:

Los recuentos de células viables vegetativas de la cepa utilizada arrojaron valores promedio de 8,9 Log de UFC/g; 10,5 Log de UFC/g y 10,3 Log de UFC/g en las fermentaciones líquida, semi-sólida y sólida respectivamente. En el caso de los recuentos de esporas se obtuvieron valores promedio de 9,2 Log de UFC/g en fermentación líquida; 11,6 Log de UFC/g en la semi-sólida y 10,5 Log UFC/g en la fermentación sólida, a los 7 días de incubación. Al aplicar la prueba de Tukey a los resultados de las células viables no se obtuvieron diferencias significativas entre la fermentación semi-sólida y sólida, pero sí con respecto a la fermentación líquida. En el recuento de esporas, al aplicar la misma prueba estadística se observó diferencias significativas únicamente entre la fermentación semi-sólida y líquida.

Conclusiones:

El mayor número de células vegetativas y esporas de *B. pumilus* se obtuvo en la fermentación semi-sólida con 80% de humedad al alcanzar los 10,5 Logs de UFC/g y los 11,6 Logs de UFC/g de muestra respectivamente. Estos resultados indican que la harina de hojas de mandioca permite un buen desarrollo de *B. pumilus* y constituye un sustrato adecuado para la producción de células viables y esporas en fermentación semi-sólida y sólida.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

EFECTO DE LAS LEVADURAS VITVINÍCOLAS SOBRE LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE LECHUGA (LACTUCA SATIVA L.)

LENCINAS, Marcos 1 | FLORES, Cintia Belen² | PEDROZO, Paula² | PESCE, Virginia² | VAZQUEZ, Fabio³ | NALLY, Cristina²

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ 1; IBT, FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ/ CONICET 2; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA - FACULTAD DE INGENIERÍA - UNSJ 3

Introducción y Objetivos:

La lechuga es una planta herbácea, anual y autógama perteneciente a la familia Compositae. En San Juan, además de la producción de lechuga para consumo interno, se producen semillas de esta hortaliza. La germinación de semillas de lechuga, en invernaderos de la provincia, fue afectada por la presencia de *Botrytis cinerea* impidiendo la emergencia de la plántula. El uso de levaduras antagonistas como agentes de biocontrol ha sido propuesto como una alternativa para reducir el uso de fungicidas químicos y sintéticos minimizando el impacto de los mismos sobre la salud humana y el medio ambiente. Sin embargo, se desconoce si las levaduras afectan negativamente o positivamente la germinación de las semillas de lechuga y por lo tanto la producción de esta hortaliza. El objetivo de

este trabajo fue evaluar el efecto de las levaduras vitivinícolas sobre la germinación de las semillas de lechuga, en condiciones in vitro.

Materiales y Métodos:

1- Inóculo de levaduras: Se ensayaron 16 levaduras vitivinícolas (15 *Saccharomyces cerevisiae* y 1 *Schizosaccharomyces pombe*) que presentaron actividad antifúngica frente a *B. cinerea* en granos de uva. 2- Análisis de toxicidad de las levaduras sobre semillas de lechuga: Semillas de lechuga preesterilizadas con hipoclorito de sodio se colocaron sobre papel humedecido con 6 mL de agua destilada estéril en cajas de plástico con tapa. Posteriormente las semillas fueron inoculadas puntualmente con una solución de levaduras vitivinícolas y agua destilada estéril (20 µL, 106 cel/mL). Las cajas se incubaron en cámara de germinación a 20° C con alternancia de luz (12 horas de luz/12 horas de oscuridad) y 90% humedad. Se consideró una semilla germinada cuando el largo de la radícula alcanzó más de 3mm. Se evaluó la capacidad germinativa de 400 semillas por tratamiento a los 4 y 7 días de haber comenzado el ensayo mediante la siguiente fórmula: % de germinación= (n° semillas germinadas/n° semillas totales) x 100. Control: Semillas inoculadas solo con agua destilada estéril (20 µL) e incubadas en las mismas condiciones anteriormente mencionadas.

Resultados:

A los 4 días, las semillas inoculadas con las cepas *S. pombe* (BSchp67) y *S. cerevisiae* (BSc92, BSc121 y BSc203) incrementaron significativamente su tasa germinativa entre un 2,08% y 4,16% en relación al control. La aplicación de las levaduras restantes no provocó aumento o disminución en la tasa de germinación en relación al control. Posteriormente, a los 7 días, las semillas inoculadas con *S. pombe* (BSchp67) y *S. cerevisiae* (BSc5, BSc16, BSc61, BSc64, BSc68, BSc92, BSc121, y BSc203) mostraron un aumento significativo en el porcentaje de germinación de un 2,04% con respecto al control. Las semillas inoculadas con las levaduras restantes no mostraron diferencias significativas con respecto al control.

Conclusiones:

Los experimentos in vitro revelaron que las levaduras vitivinícolas autóctonas (15 *S. cerevisiae*, 1 *Sch. pombe*) no afectan negativamente la germinación de las semillas de lechuga, por lo tanto podrían utilizarse como posibles agentes de biocontrol en condiciones de invernadero

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

BIOCONTROL DE BOTRYTIS CINEREA CON LEVADURAS VITIVINÍCOLAS EN LECHUGA (LACTUCA SATIVA L.)

LENCINAS, Marcos 1 | FLORES, Cintia Belen2 | PEDROZO, Paula2 | PESCE, Virginia2 | VAZQUEZ, Fabio3 | NALLY, Cristina2

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNSJ 1; INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN/CONICET 2; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ 3

Introducción y Objetivos:

La lechuga es una especie anual y autógena, perteneciente a la familia Asteraceae. En Argentina, la lechuga, el tomate y la papa se encuentran entre las hortalizas más consumidas y cultivadas del país. Invernaderos de la provincia de San Juan han evidenciado pérdidas en la calidad de las plántulas de lechuga debido a la presencia de *B. cinerea*, un hongo filamentoso de la familia Sclerotiniaceae, capaz de infectar a más de 230 especies de plantas huésped. El uso de levaduras antagonistas ha sido estudiado por grupos de investigación de todo el mundo y representa una de las estrategias con mayor potencial para el control integrado de enfermedades fúngicas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antifúngica de levaduras vitivinícolas frente a cepas de *B. cinerea* fitopatógenas y la capacidad de promover el crecimiento vegetativo de la lechuga.

Materiales y Métodos:

1- Inóculo de levaduras: Se ensayaron 16 levaduras vitivinícolas (15 *Saccharomyces cerevisiae* y 1 *Schizosaccharomyces pombe*) que presentaron actividad antifúngica frente a *B. cinerea* en granos de uva. 2- Inóculo fúngico: Se ensayaron 4 cepas de *B. cinerea* aisladas de suelo de cultivos de lechuga con síntomas de pudrición gris, las cuales fueron nombradas de la siguiente manera: B11, B15, B1687 y B1697. 3- Evaluación de la capacidad antagónica de levaduras frente a cepas de *B. cinerea* en condiciones in vivo: En macetas con sustrato estéril se colocó un disco de micelio fúngico y sobre el mismo una semilla de lechuga preesterilizada con hipoclorito de sodio. A las 24 h se inocularon las levaduras viables en forma de riego (10 mL, 108cel/mL) sobre la semilla y el disco de micelio fúngico. Las macetas se incubaron a 20° C con fotoperiodo de 12 h de luz/12 h de oscuridad, humedad relativa 90% durante 30 días. Controles: a) Semillas inoculadas solo con disco de micelio de *B. cinerea*; b) Semillas inoculadas solo con agua destilada estéril. Posteriormente a los 30 días se midieron los siguientes parámetros fisiológicos en todos los ensayos y controles: 1) Capacidad biocontroladora de las levaduras frente a *B. cinerea* como % de incidencia de la enfermedad= (n° plantas enfermas o muertas/n° plantas totales) x 100; 2) Superficie foliar (cm²); 3) Longitud de la raíz (cm); 4) Peso húmedo de hojas y raíz (g); 5) Peso seco de hojas y raíz (g).

Resultados:

La levadura *S. cerevisiae* BSc5, además de disminuir significativamente la incidencia de *B. cinerea* en plantines, incrementó de forma significativa la superficie foliar (41%), peso seco de hojas (36%) y raíces (40%) de las plantas de lechuga en presencia del patógeno en relación al control.

Conclusiones:

Los experimentos in vivo revelaron el potencial efecto biocontrolador y biofertilizante de la levadura *S. cerevisiae* BSc5, por lo tanto, puede ser una alternativa válida para el control del desarrollo de *B. cinerea* y promoción del crecimiento vegetativo mediante el empleo de este aislamiento en plantines de lechuga.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

VIGILANCIA MOLECULAR DE MENINGITIS BACTERIANAS CAUSADAS POR STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, HAEMOPHILUS INFLUENZAE Y NEISSERIA MENINGITIDIS EN PARAGUAY, 2013-2018.

LEÓN AYALA, María Eugenia 1 | KAWABATA, Anibal1 | NAGAI, Minako1 | ROJAS, Liliana1 | ZÁRATE, Noemí2 | LEGUIZAMÓN, Myrian3 | GÓMEZ, Gloria4 | IRALA, Juan5

LABORATORIO CENTRAL DE SALUD PÚBLICA 1; HOSPITAL GENERAL PEDIÁTRICO NIÑOS DE ACOSTA ÑU 2; INSTITUTO DE PREVISIÓN SOCIAL 3; HOSPITAL NACIONAL DE ITAUGUA 4; INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL 5

Introducción y Objetivos:

La meningitis bacteriana es una infección grave que produce altos índices de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, a pesar de la exitosa introducción de vacunas conjugadas dirigidas a estas bacterias. Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Neisseria meningitidis son causas importantes de meningitis y otras enfermedades invasivas, que necesitan un diagnóstico rápido y un tratamiento preciso. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de las meningitis bacterianas causadas por S.pneumoniae, N. meningitidis y H. influenzae en Paraguay, mediante técnicas moleculares, durante el periodo 2013-2018.

Materiales y Métodos:

Estudio observacional descriptivo retrospectivo de corte transversal. Se estudiaron por técnicas moleculares, 1178 muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes de todas las edades con sospecha de meningitis bacteriana (con resultados de cultivo microbiológico negativo), que fueron remitidas por los centros centinelas al Laboratorio Central de Salud Pública, durante el periodo 2013-2018, en el marco de la vigilancia epidemiológica de meningitis bacterianas en Paraguay. Para la identificación de S.pneumoniae, N. meningitidis y H.influenzae se empleó una PCR en tiempo real recomendada por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades.

Resultados:

Se incluyeron en este estudio 1178 muestras de LCR de pacientes de todas las edades. El 39,0% del total de muestras corresponde a niños menores de 5 años (n=459), el 26,0% al grupo etario de 5 a 14 años (n=308), el 12,0% al de 15 a 24 años (n=138), 6,0% al de 25 a 34 años (n=72), 4,0% al de 35 a 44 años (n=48), 45 a 54 años (n=47) y 55 a 64 años (n=48) respectivamente, 3,0% al grupo de mayores de 65 años (n=40) y 2% sin datos (n=18). Se analizaron 710 muestras de pacientes masculinos y 468 del sexo femenino. Se confirmaron por PCR en tiempo real un total de 193 casos de meningitis bacterianas, hallándose una prevalencia general del 16,4%. Se observó una frecuencia de la enfermedad del 32,5% en el año 2013 (13/40), 10,1% en 2014 (18/179), 17,8% en 2015 (31/164), 16,4% en 2016 (29/177), 13,7% en 2017 (48/349) y 20,1% en 2018 (54/269). De los casos confirmados 107 fueron causados por S. pneumoniae (56,0%), 12 por H. influenzae (6,0%) y 74 por N. meningitidis (38,0%). La distribución de la enfermedad por grupo de edad mostró una mayor frecuencia en pacientes >65 años (27,5%). La mayor frecuencia de meningitis bacterianas causadas por S. pneumoniae se observó en el grupo de >65 años (22,5 %), por H. influenzae en el grupo de <5 años (2,2%) y por N. meningitidis en el grupo de 55- 64 años (6,3%).

Conclusiones:

En este estudio se pudieron confirmar un número importante de casos de meningitis bacterianas con resultados de cultivo microbiológico negativo (n=193), encontrándose mayor frecuencia de la enfermedad en pacientes mayores de 65 años. Teniendo en cuenta que esta enfermedad es grave y puede ser mortal o dejar secuelas permanentes el uso de técnicas moleculares (PCR) puede ser de gran valor diagnóstico. Estos resultados resaltan la importancia de la vigilancia molecular de S. pneumoniae, H. influenzae y N. meningitidis y en Paraguay, aportando un mejor conocimiento de la

carga de enfermedad y el impacto de las estrategias de inmunización en la incidencia de las meningitis bacterianas.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CARACTERIZACIÓN DE BIOFILMS PRODUCIDOS POR AISLAMIENTOS DE BURKHOLDERIA CONTAMINANS RECUPERADOS AL INICIO Y EN EL TRANCURSO DE LA INFECCIÓN PULMONAR CRÓNICA EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

LEÓN, Laura Beltina¹ | MASSON, Candela ¹ | FIGOLI, Cecilia Beatriz¹ | CARRILLO, Emanuel² | BOSCH, Alejandra¹ | YANTORNO, Osvaldo¹

CINDEFI, CONICET-CCT LA PLATA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, UNLP ¹; SÃO CARLOS INSTITUTE OF CHEMISTRY, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ²

Introducción y Objetivos:

Burkholderia contaminans es la especie del Complejo Burkholderia cepacia (cBc) de mayor prevalencia en pacientes con fibrosis quística (FQ) de nuestra región. La colonización de las vías aéreas por estos organismos deriva en procesos pulmonares crónicos, que raramente pueden ser erradicados por el sistema inmune del hospedador o tratamientos con antimicrobianos. Las estrategias adaptativas desarrolladas por esta especie que llevan a su establecimiento y persistencia en los pulmones de estos pacientes aún no se han dilucidado. La formación de biofilms podría tener un rol importante como estrategia de protección bacteriana frente a las condiciones de estrés descritas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la adhesión y formación de biofilms por aislados clínicos de B. contaminans, obtenidos consecutivamente a lo largo de la infección pulmonar crónica en dos pacientes con FQ. Se buscó establecer si las fuerzas físicas generadas por el shear stress, en condiciones similares al tracto respiratorio, afectan las características estructurales de estos biofilms.

Materiales y Métodos:

Se emplearon el primer y último aislado disponibles de dos pacientes con fibrosis quística con infección pulmonar crónica. En cada paciente se aislaron uno de los dos linajes de B. contaminans (según el perfil de MLST), de mayor circulación local (ST102 y ST872). Se emplearon como controles las cepas de referencia B. cenocepacia J2315 y B. contaminans LMG 23361. Se estudió la adhesión y formación de biofilms maduros en sistemas de cultivo estático y bajo flujo continuo de nutrientes empleando cámaras convencionales (5 x 8 mm) y micro-dispositivos (0.1 x 1.0 mm) que permiten el desarrollo de biofilms bajo condiciones que simulan el ambiente de las vías aéreas del pulmón (esfuerzo de corte=0.45 din/cm²). Los biofilms obtenidos fueron analizados por microscopía de Fluorescencia (MF) y Microscopía Laser Confocal (CLSM), y su arquitectura fue parametrizada a través del software Comstat 2.

Resultados:

La capacidad de formación de biofilms y la arquitectura de los biofilms formados fue significativamente diferente para los dos distintos linajes de *B. contaminans*: mientras que los aislamientos ST102 fueron débiles formadores de biofilm, los aislados ST872 desarrollaron biofilms con un espesor promedio 3 veces mayor. A su vez los biofilms formados por aislamientos del mismo linaje para un mismo paciente mostraron variaciones estructurales asociadas al espesor y la rugosidad. Por otro lado, los biofilms formados en cámaras de microfluídica muestran que las condiciones de crecimiento tienen una gran influencia en la arquitectura de los biofilms (altura promedio, altura máxima y rugosidad).

Conclusiones:

Estos resultados demostrarían que durante el transcurso de la infección crónica la arquitectura de los biofilms, que es dependiente del linaje, podría modificarse como estrategia adaptativa a la presencia de agentes antimicrobianos y a las condiciones de estrés de las vías aéreas del hospedador.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ACIL-COA CARBOXILASAS HOMOMÉRICAS BACTERIANAS: EFECTO EN LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE SACCHAROPOLYSPORA ERYTHRAEA Y RHODOCOCCLUS JOSTII.

LIVIERI, Andrea Lourdes 1 | HERNANDEZ, Martin2 | ALVAREZ, Hector2 | GRAMAJO, Hugo1 | RODRIGUEZ, Eduardo1

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) 1; INSTITUTO DE BIOCENCIAS DE LA PATAGONIA (INBIOP), UNPSJB, CONICET. 2

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR) 1; INSTITUTO DE BIOCENCIAS DE LA PATAGONIA (INBIOP), UNPSJB, CONICET. 2

Introducción y Objetivos:

Las bacterias pertenecientes al orden de los Actinomycetes presentan diferentes características que las hacen atractivas para ser usadas en diversos procesos industriales. Algunos géneros de este grupo poseen la capacidad de generar una gran diversidad de metabolitos secundarios, de interés farmacéutico, como antibióticos, entre otros. Otras especies conocidas como oleaginosas son capaces de acumular grandes cantidades de triacilglicéridos (TAGs), de interés para la industria oleoquímica y de biocombustibles. A pesar de las diferencias estructurales de todos estos compuestos, tanto para la producción de metabolitos secundarios de tipo policetónicos como para la acumulación de ácidos grasos o TAGs, se requieren de precursores del metabolismo primario como malonil-CoA y metilmalonil-CoA, productos de la carboxilación de acetil-CoA y propionil-CoA, respectivamente por enzimas acil-CoA carboxilasas (YCC). Las YCC son enzimas que pertenecen a la familia de las carboxilasas dependientes de biotina. Estas enzimas esta compuestas por tres dominios catalíticos principales y algunos dominios no catalíticos. Dependiendo del organismo, estos

dominios pueden ser parte una misma cadena polipeptídica (complejos homoméricos) o pueden estar codificados por subunidades individuales (complejos heteroméricos). Recientemente hemos caracterizado SACE4237 de SACCHAROPOLYSPORA ERYTHRAEA como la primer YCC homodimérica esencial de bacterias cuyo rol principal es actuar como una acetil-CoA carboxilasa generando el malonil-CoA para la síntesis de ácidos grasos. Asimismo, estudios bioinformáticos permitieron identificar numerosas proteínas ortólogas a SACE4237 en diferentes géneros de Actinomycetes de importancia industrial. Por ejemplo, RHODOCOCCLUS JOSTII RHA1, un organismo modelo de bacterias oleaginosas contiene el ortólogo RO04222. Con el objetivo de dilucidar si estos complejos homoméricos, SACE4237 y RO04222, participan en la provisión de precursores para la producción de metabolitos secundarios en S. ERYTHRAEA y R. JOSTII, respectivamente, construimos cepas que sobreexpresan dichas proteínas o cepas mutantes nulas en los respectivos genes.

Resultados:

En el caso de S. ERYTHRAEA, la sobreexpresión de SACE4237 genera aumento en la producción de flavolina (producido a partir de malonil-CoA) mientras que la producción de eritromicina disminuye (producido a partir de metilmalonil-CoA). Por otro lado, la sobreexpresión de RO04222 no produce un efecto marcado en la acumulación de TAGs en R. JOSTII. Estudios realizados sobre la mutante nula, demuestran que RO04222 no es esencial para el crecimiento de R. JOSTII a diferencia de lo observado en S. ERYTHRAEA. Además, la cepa que no expresa RO04222 muestra un leve defecto en la producción de ácidos grasos libres, mono-, di- y triacilglicéridos respecto de la cepa parental.

Conclusiones:

Estos resultados sugieren que, a pesar de ser proteínas ortólogas, su función fisiológica es diferente en cada microorganismo.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

CULTIVOS LÁCTICOS COMO POTENCIADORES DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE AVENA

LLEBEILI, Yamila | CARABAJAL TORREZ, José Agustín | RODRÍGUEZ DE OLMOS, Antonieta | GEREZ, Carla

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos:

Cosméticos (cremas, jabones, emulsiones, etc.) a base de avena están actualmente disponibles en el mercado, puesto que se han realizado estudios in vitro e in vivo que demuestran la eficacia para el tratamiento de afecciones inflamatorias de la piel. La actividad anti-inflamatoria de la avena ha sido relacionada principalmente por su contenido en compuestos fenólicos (CF) con actividad

antioxidante. Sin embargo, solo el 1,5 % del contenido de CF de avena se encuentran libres y activos. Las bacterias lácticas (BL) forman parte de un grupo heterogéneo de microorganismos que presentan un inmenso potencial biotecnológico. Estos microorganismos poseen un amplio espectro de enzimas (decarboxilasas, reductasas, esterasas y/o glicosidasas) que podrían producir modificaciones químicas en los CF de la avena y potenciar sus propiedades antioxidantes. En base a lo expuesto, el objetivo del trabajo fue estudiar la fermentación láctica como bioestrategia para potenciar la acción antioxidante de la avena *Avena sativa*.

Materiales y Métodos:

Para alcanzar este objetivo las condiciones de producción de un sistema avena/agua estéril (SAA) fue estandarizado (avena/agua 1/25 p/v, 0,5 % de glucosa, 121 °C durante 20 min), se inocularon individualmente 31 cepas de BL y se evaluó crecimiento (recuento en placa), acidificación (pH) y actividad fermentativa por métodos conductimétricos [Parámetros evaluados: tiempo de detección (DT), velocidad máxima de cambio de conductancia (VMCC) y porcentaje de cambio de conductancia (PCC)]. Luego de 24 hs. de fermentación, se determinó CF (método de Folin-Ciocalteu) y actividad antioxidante (métodos DPPH• y ABTS•+) de extractos metanólicos obtenidos a partir de los sistemas SAA fermentados (SAAf). Como control se empleó un SAA no fermentado acidificado químicamente (SAAa) para evaluar el efecto del pH.

Resultados:

Los géneros *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus* mostraron mejor adaptabilidad al medio observándose altos valores de VMCC (0,34-0,47 $\mu\text{S}/\text{min}$) y PCC (53,6-66,6 %), con bajos valores de DT (inferior a 3 hs). Considerando estos parámetros, se seleccionaron 4 cepas de *L. plantarum* (CRL 685, CRL 769, CRL 778 y CRL 795) y 2 cepas de *P. pentosaceus* (CRL 768 y CRL 773). El contenido de CF de los extractos metanólicos de los SAAf de las 6 cepas seleccionadas (29,1-36,9 μg de ácido gálico /ml) fue mayor al contenido en SAAa (17,1 \pm 1,9 μg de ácido gálico /ml). Asimismo, se detectó un incremento (9-25,5 %) en la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de SAAf por ambos métodos evaluados, DPPH• y ABTS•+.

Conclusiones:

Nuestros resultados muestran el gran potencial que puede tener la fermentación láctica para incrementar el contenido de compuestos antioxidantes en la avena.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

INFLUENCIA DE MEDIOS DE CULTIVO SOBRE CARACTERÍSTICAS BENEFICIOSAS DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE COMPUESTOS AROMÁTICOS DEL PETRÓLEO

LOBO, Constanza Belén¹ | CORREA DEZA, María Alejandra¹ | FERRERO, Marcela² | JUÁREZ TOMÁS, María Silvina¹

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. 1; YPF TECNOLOGÍA (Y-TEC)-CONICET 2

Introducción y Objetivos:

Las bacterias que persisten en ambientes contaminados con compuestos aromáticos del petróleo (hidrocarburos, tiofenos) han desarrollado mecanismos fisiológicos y moleculares para contrarrestar el estrés ambiental. La acumulación intracelular de polifosfato inorgánico (polyP) en bacterias representa uno de esos posibles mecanismos. Asimismo, la hidrofobicidad de la superficie celular y producción de bioemulsionante son propiedades beneficiosas de diversos microorganismos, que facilitan su interacción con compuestos orgánicos hidrofóbicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes medios de cultivo sobre el crecimiento, la hidrofobicidad de la superficie celular, la producción de bioemulsionante y la acumulación de polyP de bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH).

Materiales y Métodos:

Se utilizaron cepas aisladas a partir de sedimentos marinos y suelos contaminados con petróleo. *Pseudomonas* sp. P26 fue seleccionada por su capacidad de remoción de naftaleno y fenantreno, *Rhodococcus* sp. P18, F27 y *Gordonia* sp. H19 por remover pireno, y *Rhodococcus jostii* RHA1 y *Rhodococcus* sp. 20 por remover naftaleno, fenantreno y pireno. Se estudiaron las propiedades de BDH cultivadas en LB (medio de cultivo estándar) y JPP (medio diseñado para bacterias marinas), a 30°C hasta el final de la fase exponencial de crecimiento. Se realizó la cuantificación de células viables por el método de diluciones sucesivas y posterior siembra en medios sólidos. El estudio de la hidrofobicidad de la superficie celular se llevó a cabo por el método de partición en solventes orgánicos no polares (tolueno), y la actividad bioemulsionante se evidenció por el método de agitación mecánica con kerosene. La acumulación de polyP se evaluó mediante tinción de Neisser y observación al microscopio óptico. Los resultados se analizaron aplicando el modelo lineal de análisis de la varianza.

Resultados:

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de células viables y porcentaje de hidrofobicidad de las cepas evaluadas. Por otra parte, las variables cepa y medio de cultivo ejercieron efectos significativos en la producción de bioemulsionante. *Rhodococcus* sp. P18 en LB fue la cepa con mayor índice de emulsión a las 24 h (IE24 = 39%) y menor hidrofobicidad. Los mayores valores de porcentaje de hidrofobicidad se observaron en *Rhodococcus* sp. 20 en LB (88%), *Rhodococcus jostii* RHA1 (87%) y *Rhodococcus* sp. F27 (68%) en ambos medios. Los resultados de la tinción de polyP fueron Neisser (+) en todos los casos, observándose la metacromasia característica de los gránulos de polyP en el citoplasma celular.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos indican que las BDH evaluadas presentan diferentes propiedades para interactuar con compuestos hidrofóbicos contaminantes y resistir a su potencial presencia. El medio de cultivo afecta esas propiedades en algunas BDH.

The logo for 'Química Viva' features a blue square with a white downward-pointing triangle on the left, followed by the text 'Química Viva' in white on a blue background.

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ACTIVIDAD ANTIBIOFILM DE FLAVONOIDES PRENILADOS Y SUS COMBINACIONES CON ANFOTERICINA B FRENTE A CANDIDA ALBICANS

LOMBARDO CAMELLO, Andrea Elizabet 1 | ORTEGA, Gabriela2 | CABRERA, Jose Luis2 | PERALTA, Mariana Andrea2 | PARAJE, Maria Gabriela1

IMBIV-CONICET. CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA 1; IMBIV- CONICET. DPTO. DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, FAC. CS. QCAS., UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA 2

Introducción y Objetivos:

Candida albicans es una especie con alta relevancia clínica por causar infecciones como candidiasis superficiales y sistémicas. El tratamiento puede resultar difícil, muchas veces asociado a la capacidad de la levadura para formar biofilm, con elevada resistencia a los agentes antifúngicos. Es constante la evaluación de compuestos de origen vegetal en combinación con antifúngicos de uso clínico en búsqueda de distintas estrategias para su erradicación. En trabajos previos se informó que un flavonoide prenilado, denominado 8PP, obtenido a partir de la especie cordobesa Dalea elegans, posee actividad antibiofilm frente a cepas de Candida. El presente trabajo propone estudiar la actividad sinérgica de Anfotericina B (AmB) en combinación con dos nuevos compuestos naturales.

Materiales y Métodos:

Se trabajó sobre biofilm maduro de una cepa de C. albicans (ATCC 5314). Los flavonoides prenilados, (2S)-5,7,2"-trihidroxi-8,3"-diprenilflavanona (F2) y (2S)-5,7,2"-trihidroxi-5'-(1"',1"'-dimetilalil)-8-prenilflavanona (F3) se obtuvieron a partir del extracto hexánico de Dalea boliviana. La formación de biofilm se realizó en placa de 96 pocillos, se incubó durante 48 h a 37 °C y posteriormente se cuantificó mediante tinción con Cristal Violeta (CV) y lectura espectrofotométrica de la Densidad Óptica (DO) a 492 nm. La unidad de biomasa de biofilm (UBB) se definió como 0.1 DO_{492nm} = 1BBU. Se trabajó con dos concentraciones de F2 y F3 (10 µg/ml y 20 µg/ml) disueltos en dimetil sulfóxido (DMSO al 2%) y AmB (100 µg/ml), o sus combinaciones, las cuales se añadieron a los pocillo conteniendo los biofilms maduros, incubando a 37 °C durante otras 48 h. Los resultados se expresaron en BBU y como porcentajes relativos de inhibición con respecto al control (sin tratamiento).

Resultados:

El compuesto F2 presentó baja actividad antibiofilm por sí solo ($42 \pm 4\%$ y $34 \pm 2\%$ a 10 µg/ml y 20 µg/ml respectivamente), mientras que en combinación con AmB (100 µg/ml, 61%) la inhibición resultó mayor al 80%. El porcentaje de inhibición se incrementó comparado con la actividad que presentó el antifúngico de referencia solo ($p \leq 0,05$). El compuesto F3 mostró buena actividad antibiofilm por sí solo ($65 \pm 6\%$ y $59 \pm 8\%$ a 10 µg/ml y 20 µg/ml, respectivamente). Las combinaciones de ambas concentraciones de F3 observándose un marcado incremento de la inhibición ($p \leq 0,05$).

Conclusiones:

Estos resultados sugieren que la actividad de AmB en el biofilm de C. albicans mejora cuando es combinada con los compuestos F2 y F3. Debido a que los biofilms de Candida presentan marcada resistencia a antifúngicos de uso clínico, es importante la obtención de nuevos compuestos activos frente a esta forma de crecimiento, por lo que ameritaría la continuidad de este tipo de investigaciones

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	--

EXPRESIÓN DE TOXINAS CRY RECOMBINANTES DE BACILLUS WIEDMANNII BIOVAR THURINGIENSIS FCC41 MEDIANTE DOS METODOLOGÍAS DE CLONADO

LOPEZ, Rocio de La Paz | GIL, Maria Florencia | BERÓN, Corina

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC-CONICET) Y FIBA

Introducción y Objetivos:

Los agentes entomopatógenos son herramientas novedosas y con gran potencial para ser utilizadas dentro de los sistemas de manejo integrado de insectos plaga y vectores. Uno de los agentes más utilizados es la bacteria *Bacillus thuringiensis* debido a que durante la esporulación forma inclusiones proteicas, principalmente formadas por proteínas Cry, que poseen acción tóxica específica contra especies de distintos órdenes de insectos, entre los que se encuentran algunas especies de mosquitos vectores de importancia en salud pública. El manejo de las poblaciones de estos dípteros se ha realizado durante años por medio de insecticidas químicos o mediante productos formulados a base de *Bacillus thuringiensis* subesp. israelensis (Bti). Sin embargo, durante los últimos años se ha observado el desarrollo de resistencia por parte de algunas poblaciones de mosquitos, por lo que la búsqueda de nuevos agentes de control es fundamental. *Bacillus wiedmannii* biovar *thuringiensis* FCC41 es una cepa nativa con actividad mosquitocida contra las especies *Aedes aegypti*, *Aedes (Ochlerotatus) albifasciatus*, *Culex pipiens*, *Culex quinquefasciatus*, y *Culex apicinus*. FCC41 posee 6 proteínas Cry identificadas como Cry4-like1, Cry4-like2, Cry52-like1, Cry52-like2, Cry24Ca y Cry41-like. El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión individual de cada una de estas toxinas.

Materiales y Métodos:

Los genes cry fueron amplificados mediante la técnica de PCR e incorporados en el vector de expresión específico pSTAB. Las construcciones fueron abordadas por dos metodologías de clonado diferente. Se utilizó un sistema tradicional mediante enzimas de restricción y para la proteína Cry4-like1, la cual no tiene sitios de restricción compatibles con el vector, se utilizó el método "Advanced Quick Assembly" (AQUA). Es una técnica novedosa que no requiere el uso de kit, enzimas de restricción o preparación de reactivos, la misma aprovecha el procesamiento intrínseco in vivo de fragmentos de DNA lineales con regiones cortas de homología de 16 a 32 pb mediadas por *Escherichia coli*. Los plásmidos obtenidos fueron introducidos en la cepa acristalífera 4Q7 de *B. thuringiensis* por medio de la técnica de electroporación.

Resultados:

Se obtuvieron cepas recombinantes portadoras de las secuencias de interés, las cuales mostraron perfiles de crecimiento y esporulación similares entre sí. La presencia de las proteínas expresadas se detectó por SDS-PAGE y mediante microscopía electrónica de barrido.

Conclusiones:

Los dos métodos fueron eficaces para clonar y expresar genes cry en sistemas heterólogos, estos podrán ser usados para estudiar la acción mosquitocida de cada toxina de manera individual y sinérgica, para ser empleadas en el control de poblaciones de mosquitos de importancia sanitaria.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

EVALUACIÓN DE LA BACTERIZACIÓN DE DISTINTOS AISLAMIENTOS PROBIÓTICOS DE PSEUDOMONAS AUTÓCTONOS POST-INOCULACIÓN EN SEMILLAS DE MAÍZ

LORCH, Melani Gisele | VALVERDE, Claudio | AGARAS, Betina

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET

Introducción y Objetivos:

Las bacterias del género *Pseudomonas* son habitantes naturales de los suelos, y diversas especies con preferencia de colonización rizosférica, capacidad de promoción del crecimiento vegetal y biocontrol son interesantes candidatas para el desarrollo de bioinsumos agrícolas. Nuestro laboratorio cuenta con una colección de 20 aislamientos de *Pseudomonas* ya caracterizados in vitro, en términos de sus propiedades probióticas y antagonismo de hongos fitopatógenos (Agaras et al. 2015, doi: 10.1016/j.biocontrol.2015.07.003). Con el fin de profundizar en el conocimiento de capacidades ligadas a un buen desempeño como bioinsumo, el objetivo de este trabajo fue poner a punto la evaluación de la recuperación en semilla de un subgrupo 6 de aislamientos de diferentes taxones, en condiciones comparables a las de tratamientos con inoculantes a campo.

Materiales y Métodos:

Para ello, en primer lugar, nos dedicamos a obtener derivados estables mediante vehiculización al cromosoma con Tn7 (Lambertsen et al. 2004, doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00605.x) de genes que codifican proteínas fluorescentes y resistencia a antibióticos. A continuación, se comprobó por PCR la inserción sitio-específica del cassette en la región neutral esperada, la conservación de los fenotipos ya caracterizados en cada derivado marcado respecto del salvaje, y la estabilidad de la inserción cromosomal mediante evaluación del % de células resistentes a antibiótico luego de 240 generaciones sin presión de selección. Para evaluar la recuperación de los aislamientos en semillas de maíz (*Zea mays*), las semillas no estériles se inocularon según la dosis recomendada (7 ml/kg) con una suspensión bacteriana de DO₆₀₀=1,0, con y sin el agregado de 28,6 % v/v del protector bacteriano Premax® (Rizobacter, Argentina). Inmediatamente luego de la inoculación, se recuperaron las bacterias adheridas y se realizaron recuentos de viables en placa por la técnica de gota en medio selectivo Gould S1, con el antibiótico del cassette Tn7. Las semillas restantes se colocaron en medio selectivo con el antibiótico para corroborar que todas hayan sido inoculadas. Como control positivo y referencia se utilizó la cepa *Pseudomonas* sp. 1008 presente en el bioinsumo comercial Rizofos® (Rizobacter, Argentina).

Resultados:

Al evaluar el efecto del Premax®, la recuperación de los aislamientos RBAN4, RPAN1, SMMP3 y SPAN5 de las semillas fue mayor en presencia del aditivo (5,0x, 2,5x, 9,5x, 12,4x, respectivamente), al igual que para el control positivo (97,2x) (Kruskal Wallis, $p < 0,05$). Los aislamientos SVMP4 y SVBP6 mostraron esta tendencia, pero no fue significativa. En todos los casos las semillas incubadas en S1 mostraron estar bacterizadas, excepto para SBVP6 sin Premax® (11 de 16 semillas). RBAN4 y la cepa comercial mostraron los valores más altos de UFC/g recuperadas en presencia del aditivo respecto de la cantidad inoculada (7,88% y 1,71%, respectivamente), e incluso RBAN4 alcanzó una buena recuperación sin Premax® (1,58% contra 0,01% de la cepa comercial). Por otro lado, los valores de UFC recuperadas no correlacionaron significativamente con el número de UFC inoculadas (Spearman, $p < 0,05$).

Conclusiones:

Estos resultados demuestran el desempeño particular de cada aislamiento, evidenciando factores intrínsecos de cada especie en la adhesión sobre la superficie de la semilla de maíz. Además, corroboramos que el uso del aditivo Premax® mejora la adherencia a la semilla, permitiendo obtener una mayor recuperación en 4 de los 6 aislamientos probados.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN SISTEMA REPORTERO PARA ESTIMAR LA TRANSFERENCIA CONJUGATIVA DE RHIZOBIUM FAVELUKESII LPU83

LUCHETTI, Abril | CASTELLANI, Lucas | NILSSON, Juliet | PISTORIO, Mariano | TORRES TEJERIZO, Gonzalo

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos:

Los rizobios son bacterias que interactúan simbióticamente con las raíces de plantas leguminosas. Durante esta interacción, estas bacterias son capaces de transformar el nitrógeno (N) del aire en amonio. Los cultivos agronómicos dependen de los niveles de N en los suelos, por lo que se suele aprovechar la capacidad fijadora de N de los rizobios al utilizarlos como inoculantes para mejorar el rendimiento de dichos cultivos. Sin embargo, poco sabemos de cómo la liberación masiva de estas bacterias afecta la biodiversidad de los suelos. La transferencia horizontal de genes es una de las mayores fuerzas que contribuye a la diversificación y adaptación bacteriana, siendo la transferencia conjugativa (TC) uno de los factores más importantes. pLPU83a, un plásmido de *Rhizobium favelukesii* LPU83, es capaz de transferirse por conjugación, evidenciando un mecanismo de

regulación de su TC que depende del regulador transcripcional TraR, pero no de Acil-homoserin lactonas. Esto hace a pLPU83a un buen candidato para el estudio de nuevos mecanismos de regulación de la TC. El objetivo de este trabajo es la construcción de un sistema reportero que nos permita evaluar la expresión de genes involucrados en la TC mediante medidas de fluorescencia y correlacionar dichos valores con la TC.

Materiales y Métodos:

Las conjugaciones fueron realizadas empleando la técnica de Simon (1989). Se midió la fluorescencia de los cultivos de las cepas en diferentes etapas de crecimiento y se relacionó con la densidad óptica (DO) a 600 nm, las UFC y la frecuencia conjugativa.

Resultados:

Se construyó un vector para realizar fusiones transcripcionales, en el cual puede clonarse cualquier promotor río arriba de la proteína verde fluorescente (GFP). En dicho vector se clonó el promotor del gen traR y se transfirió a las cepas de *R. favelukesii* LPU83 silvestre y mutante en el gen pLPU83a0146, el cual muestra un aumento en la frecuencia conjugativa. Mediante experimentos de transcriptómica, se observó que en dicho mutante la expresión de distintos genes involucrados en la TC se encontraba aumentada, siendo el gen del regulador traR el de mayor aumento. La relación entre fluorescencia y DO, en bacterias en fase exponencial, fue mayor en la cepa mutante que en la cepa silvestre, indicando una mayor expresión del gen traR. En condiciones de cultivo tardías, para la cepa salvaje, no se observó un incremento en la relación fluorescencia/densidad óptica, lo cual se corresponde con resultados reportados en nuestro grupo (Castellani et al., 2019).

Conclusiones:

Hemos observado que los datos obtenidos por transcriptómica se corresponden con aquellos obtenidos por una metodología más simple. Esto nos permitirá evaluar la expresión de otros genes involucrados en la TC y poder medir así la frecuencia conjugativa sin tener que recurrir a la técnica clásica de conjugación de plaques con antibióticos y recuento de bacterias viables.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE LÍPIDOS EN BACTERIAS GRAM-POSITIVAS

MACHINANDIARENA, Federico | DE MENDOZA, Diego | ALBANESI, Daniela

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

Las bacterias controlan estrictamente la síntesis de los fosfolípidos de membrana, pero aún se desconocen en detalle los mecanismos regulatorios subyacentes. En *Bacillus subtilis*, paradigma de las bacterias Gram-positivas, los ácidos grasos (AG) son producidos por la sintetasa tipo II (FASII) que consiste en un ciclo de reacciones repetitivas. En la FASII, las cadenas de acilo intermediarias

son transferidas de una enzima a la otra unidas covalentemente a la proteína transportadora de acilos (ACP). El malonil-CoA, sintetizado por la enzima acetil-CoA carboxilasa (ACC), es un intermediario clave de la biosíntesis de AG en todos los organismos vivos. Cuando los acil-ACPs alcanzan el largo adecuado son utilizados como sustrato por las enzimas responsables de la síntesis de fosfolípidos (SFL): PlsX (acil-ACP:PO₄ aciltransferasa), PlsY (acil- PO₄:glicerol-PO₄ aciltransferasa) y PlsC (acil-ACP:1-acilglicerol-PO₄ aciltransferasa). En nuestro laboratorio, se demostró que en *B. subtilis* la FASII y la SFL están acopladas en el paso catalizado por PlsX. En ausencia de esta enzima tanto la SFL como la biosíntesis de AG se detienen. Es por eso que en este trabajo nos planteamos investigar el mecanismo implicado en este acoplamiento.

Materiales y Métodos:

Con este fin, utilizamos una cepa mutante de *B. subtilis* que expresa al gen *plsX* en forma condicional. Se extrajeron y analizaron las distintas especies de CoA en presencia y ausencia de PlsX por HPLC-MS/MS de triple cuadrupolo. A su vez, investigamos el estado de acilación de la ACP en ambos casos mediante electroforesis en geles de poliacrilamida conformacionales y posterior western blot, utilizando anticuerpos policlonales anti-ACP de *B. subtilis*. Finalmente, estudiamos la biosíntesis lipídica en la mencionada mutante mediante el marcado de los cultivos con [14C]-acetato en presencia y ausencia de una tioesterasa soluble („TesA) que hidroliza los acil-ACPs.

Resultados:

Determinamos que en ausencia de PlsX *B. subtilis* acumula acil-ACPs de cadena larga, los que han sido propuestos en la literatura como inhibidores de retroalimentación negativa de la FASII. Llamativamente, detectamos que en ausencia de PlsX también se acumula malonil-CoA. A su vez, observamos que la hidrólisis de los acil-ACPs al expresar „TesA no libera completamente la inhibición de la síntesis de AG en ausencia de PlsX. Por otro lado, determinamos que las mutantes en las otras dos enzimas involucradas en la síntesis de fosfolípidos, PlsY y PlsC también acumulan acil-ACPs de cadena larga, mientras la síntesis de AG continúa activa.

Conclusiones:

Podemos concluir que en *B. subtilis*: i) la inhibición de la síntesis de fosfolípidos debido a la ausencia de PlsX provoca la acumulación de acil-ACPs de cadena larga, ii) la inhibición de la síntesis de AG observada en ausencia de PlsX no se debe a una represión de la actividad de la ACC, como se había sugerido y iii) los acil-ACPs de cadena larga no serían inhibidores por retroalimentación negativa de la ACC ni de la FASII.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

EL FLAGELO DE SERRATIA MARCESCENS EN LA INVASIÓN Y DISEMINACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES

MARISCOTTI, Javier Fernando | GARCÍA VÉSCOVI, Eleonora

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

Serratia marcescens es un patógeno oportunista en humanos y se encuentra ampliamente distribuida, en el medio ambiente y en un amplio rango de organismos hospedadores. En humanos puede producir una gran variedad de infecciones con creciente incidencia. Nuestro grupo demostró que *S. marcescens* es capaz de invadir, persistir y proliferar dentro de células no fagocíticas. Demostramos que la expresión flagelar es esencial para la adherencia a las células epiteliales y su posterior internalización en células no fagocíticas, lo que sugiere que el flagelo puede actuar como una adhesina. Utilizando células epiteliales, demostramos que la toxina formadora de poros ShIA de *S. marcescens* provoca una inducción extracelular de autofagia y que la bacteria puede sobrevivir y replicarse dentro de vesículas que reclutan marcadores de autofagia. Además, determinamos que *S. marcescens* puede escapar de las células no fagocíticas infectadas de una manera dependiente de ShIA. También mostramos que las bacterias que egresan de las células infectadas conservan la capacidad de invadir con éxito nuevas células epiteliales. Los objetivos de este trabajo, son analizar si la motilidad del flagelo y la quimiotaxis participan en los procesos de adherencia, invasión de células epiteliales. Además, evaluar la expresión intracelular del flagelo y su participación en el proceso de diseminación.

Materiales y Métodos:

Realizamos ensayos de adherencia, invasión de células epiteliales comparando la estirpe silvestre (Wt) con los mutantes de los genes *motA* y *motB* del motor flagelar y un mutante en el gen *cheY* de quimiotaxis. Analizamos la expresión intracelular del flagelo realizando ensayos de inmunofluorescencia indirecta y usando plásmidos reporteros en el vector pPROBE con los promotores de los genes *flhD* y *fliA*, reguladores maestros del flagelo. Determinamos los niveles de flagelina de las bacterias que egresan de las células infectadas mediante ensayos de inmunodetección.

Resultados:

Los mutantes *motA* y *motB* que tienen flagelo, pero no pueden moverlo, presentaron una menor adherencia e invasión que la cepa Wt, comportándose como las mutantes que no poseen flagelo. Mientras que la mutante *cheY* que posee un flagelo móvil pero no responde a los estímulos quimiotácticos presenta la misma capacidad de adherirse e invadir que la cepa Wt. Los resultados de inmunofluorescencia indirecta y los niveles de expresión determinados con los plásmidos reporteros muestran que *S. marcescens* expresa el flagelo en el interior de las células epiteliales, y las bacterias que egresan de las células infectadas también tienen flagelo.

Conclusiones:

La motilidad del flagelo de *S. marcescens* es esencial para la adherencia e invasión de las células epiteliales, pero la quimiotaxis es dispensable. *S. marcescens* es capaz de expresar el flagelo dentro de las células epiteliales y luego escapa al sobrenadante del cultivo de la célula hospedadora lista para propagarse con éxito a células no infectadas.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ESTUDIO PRELIMINAR DEL ROL DEL HIERRO EN LA PATOFISIOLOGIA DE ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

MARQUES DA SILVA, Wanderson | RIVIERE, Nahuel | LARZABAL, Mariano | CATALDI, Angel
INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, INTA-CONICET

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, INTA-CONICET

Introducción y Objetivos:

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es un patógeno zoonótico responsable de la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico en humanos. Durante el proceso de infección este patógeno es sometido a diferentes condiciones de estrés, como por ejemplo el estrés nutricional relacionado con la escasez del hierro. Estudios han demostrado que el hierro es requerido para el crecimiento bacteriano y su biodisponibilidad juega un rol importante en la patogénesis de diferentes patógenos. Diferentes sistemas específicos de adquisición de hierro ya fueron caracterizados en EHEC, sin embargo pocos estudios fueron realizados para evaluar como la biodisponibilidad de este metal podría influir en su fisiología y patogénesis. El principal objetivo de este trabajo es evaluar el rol del hierro tanto en la fisiología como en procesos que contribuyan en la patogénesis de EHEC O157:H7.

Materiales y Métodos:

En este estudio se utilizó la cepa EHEC O157:H7 Rafaela II aislado de un bovino en Argentina la cual fue previamente secuenciado su genoma. La bacteria fue cultivada en medio DMEM suplementado con hemina (10 μ M) o DMEM conteniendo el agente quelante de hierro 2"2-bipyridyl (BPD) (130 μ M), a 37 °C, 200 rpm. Curvas de crecimiento bacteriano fueron hechas para evaluar como las diferentes condiciones influyen en el crecimiento de EHEC. Para evaluar la formación de biofilm, adhesión celular y motilidad celular se utilizaron los ensayos de micro placa, adhesión en células epiteliales CACO-2 y soft agar (0.3%), respectivamente. La actividad del sistema de secreción de tipo 3 (SST3) fue evaluada a través de ensayos de lisis de glóbulos rojos a partir de eritrocitos ovinos y mediante la técnica de western blotting.

Resultados:

A través del análisis de las curvas de crecimiento bacteriano fue posible demostrar que la adición de hemina al medio de cultivo incrementó el crecimiento de EHEC, sin embargo, la presencia del quelante de hierro BPD disminuyó su crecimiento. Cuando evaluamos la formación de biofilm bacteriano, adhesión celular en células CACO-2 y motilidad celular, se observó una menor formación en la capacidad de formar biofilm y disminución tanto en el proceso de adhesión como en la motilidad celular cuando la cepa fue cultivada en el medio DMEM suplementado con hemina respecto a la cepa cultivada en DMEM con BPD. Finalmente, se evaluó la actividad del SST3 de EHEC en respuesta a biodisponibilidad de hierro. En el ensayo de lisis de glóbulos rojos demostramos que la actividad hemolítica del SST3 se incrementó en presencia de hemina. Además fue posible detectar mediante western blotting que la proteína efectora EspA fue más expresada cuando EHEC fue cultivada en presencia de hemina.

Conclusiones:

A través de estos ensayos preliminares es posible demostrar que el hierro ejerce un rol en algunos procesos relacionados tanto en la fisiología cuanto en la patogénesis de EHEC O157:H7.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

EFFECTOS DE LA BIOINOCULACIÓN CON AZOSPIRILLUM BRASILENSE EN LA GERMINACIÓN DE EUSTOMA GRANDIFLORUM EN SISTEMA FLOTANTE

MARTÍNEZ, Sergio Javier | CARLETTI, Susana | LARRABURU, Ezequiel Enrique | SANTOS, María Paula

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos:

Eustoma grandiflorum "Lisianthus" es una variedad de corte con dificultades en su cultivo mediante sistemas tradicionales. La germinación y el crecimiento lento generan plantines heterogéneos con reducido desarrollo. La búsqueda de estrategias para acelerar el crecimiento de las plántulas mejoraría en gran medida la producción de esta especie y su promoción en el mercado local. El sistema de cultivo flotante ha permitido mejoras en el cultivo, obteniéndose plantines más grandes, de mejor calidad y mayor homogeneidad en menor tiempo. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar aspectos fisiológicos, morfológicos y anatómicos involucrados en la germinación de *E. grandiflorum* al inocular con *A. brasilense* Az39 en cultivo flotante.

Materiales y Métodos:

La siembra de *E. grandiflorum* se realizó en plugs de poliestireno expandido rellenos con sustrato flotando en contenedores con agua destilada en cámara de cultivo con fotoperíodo de 16 h e intensidad lumínica $50 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a temperatura ambiente. La inoculación se realizó con 10^5 y 10^7 ufc mL^{-1} de Az39 sobre la superficie del sustrato al momento de la siembra o sobre la base de las plántulas a los 30 días post-siembra. Las muestras histológicas fueron fijadas, incluidas en parafina, cortadas con micrótopo rotatorio, coloreadas mediante safranina-fast-Green y montadas en bálsamo sintético. Cortes transversales de raíces y hojas fueron observados mediante microscopio óptico compuesto. Se determinaron parámetros de crecimiento, características anatómicas de raíces y hojas y el contenido de fósforo, proteínas, clorofila y la actividad de las enzimas catalasa (CAT), Polifenoloxidasas (PPO) y Peroxidasas (PO) según técnicas estandarizadas. Los experimentos fueron realizados por triplicado con diseños factoriales totalmente aleatorizados considerando como factores momento de Inoculación y concentración de inóculo.

Resultados:

Se pudo observar que la bacterización durante la siembra generó porcentajes de germinación cercanos al 70%. La bacterización con 10^7 ufc mL^{-1} de Az39 a la siembra incrementó significativamente la longitud radical y el peso fresco de raíz, aunque no exhibió diferencias con el control en el número de hojas y la longitud del tallo y produjo una menor área foliar. El grosor del mesófilo y la epidermis resultaron incrementados hasta un 40%. El ancho de la corteza rizodérmica se incrementó hasta un 35% respecto al control en los tratamientos inoculados a la siembra. El

diámetro del cilindro vascular se mostró aumentado en un 30% respecto al control en todos los tratamientos bacterizados. El contenido de clorofila se incrementó hasta en un 60% y las actividades enzimáticas de PPO, PO y CAT hasta 800-3200%.

Conclusiones:

En conclusión, el mayor efecto de Az39 sobre el desarrollo de *E. grandiflorum* se observa al inocular en el momento de la siembra con 10^7 ufc mL⁻¹. El incremento en parámetros biométricos, principalmente vinculadas al desarrollo radical, las características morfoanatómicas, el mayor contenido de clorofila, y la alta actividad CAT, PO y PPO permiten inferir que los plantines inoculados tendrían una mayor resistencia al trasplante.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

EFFECTO DE LA SOBREENPRESIÓN DE LOS GENES MSN2 Y MSN4 EN SACCHAROMYCES CEREVISIAE

MAZA, Debora Daniela 1 | GARCÍA RÍOS, Estefanía2 | VIÑARTA, Silvana Carolina3 | GUILLAMÓN NAVARRO, José Manuel2 | NAVARRO, Alvaro Martín 3 | AYBAR, Manuel Aybar1

INSTITUTO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS (INSIBIO), CONICET-UNT. 1; INSTITUTO DE AGROQUÍMICA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (IATA), CSIC. 2; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET

Introducción y Objetivos:

Estudios previos demostraron que los factores de transcripción MSN2 y MSN4 en condiciones de estrés forman dímeros e ingresan al núcleo donde se unen al elemento respuesta al estrés STRES (por sus siglas en inglés, Stress-Response Elements), el cual se encuentra en la región promotora de numerosos genes relacionados a la tolerancia a diferentes tipos de estrés (estrés oxidativo, osmótico, térmico, falta de nutrientes, etc.). Cuando MSN2 y MSN4 forman un dímero en el citoplasma, se transloca al núcleo donde se une al elemento STRES activando la transcripción de estos genes como mecanismo de la respuesta general al estrés. Esta respuesta le otorga a las levaduras la capacidad de tolerar diferentes condiciones de estrés. En condiciones normales MSN2 y MSN4, se encuentran en el citoplasma inactivos, no son necesarios para crecer ni participan en la viabilidad celular.

Materiales y Métodos:

Se prepararon cepas de *S. cerevisiae* (BY4741) que sobreexpresan MSN2 y/o MSN4 bajo su mismo promotor y terminador en plásmidos episomales (alto número de copia). La selección de las transformantes se realizó en medio SC con la correspondiente auxotrofia. Luego se procedió a estudiar el efecto de la sobreexpresión sobre el crecimiento. Las levaduras se cultivaron a 28°C, 220 rpm en medio SC con diferentes agentes estresantes, sorbitol (0,5, 1,0 M), NaCl y KCl (0,5; 1,0 y 1,5 M), H₂O₂ (3 y 5 mM). También se evaluó el efecto de la baja temperatura (12°C) durante 120 h sobre el crecimiento.

Resultados:

La sobreexpresión individual de MSN2 o MSN4 tuvieron un efecto negativo sobre el crecimiento celular, en todas las condiciones evaluadas. Mientras que las levaduras que sobreexpresan MSN2 y MSN4 en forma conjunta presentaron crecimiento en medios de cultivos con 5 mM de H₂O₂ comparado con los controles, las cuales fueron incapaces de crecer en estas condiciones. A concentraciones más bajas de H₂O₂ (3mM) se observó un mayor crecimiento de las cepas transformadas comparado con el control. También se observó un efecto positivo sobre el crecimiento cuando *S. cerevisiae* creció a 12 °C. La sobreexpresión de ambos genes se corroboró por PCR cuantitativa.

Conclusiones:

Los resultados sugieren que MSN2 y MSN4 en forma conjunta, resultan clave para la respuesta al estrés oxidativo y a baja temperatura. EL nivel de expresión de ambos genes juega un rol fundamental para generar este efecto positivo, debido a que cuando se sobreexpresan en forma individual tienen un efecto negativo en todas las condiciones evaluadas.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS MICROBIANAS DEGRADADORAS DE RESTOS VEGETALES: EFECTO DEL LABOREO EN LA DETRITÓSFERA DE SUELO DE VIÑEDOS

MEDINA, Emilce Mariel | NAVAS KALUZA, María Daniela | PAROLDI, Héctor Emilio | VÁZQUEZ, Fabio

IBT FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ

Introducción y Objetivos:

Para la evaluación de la calidad de suelos agrícolas, se han propuesto diferentes indicadores que aportan información acerca del estado de los suelos. Las enzimas extracelulares como las xilanasas, celulasas y amilasas, que intervienen en el ciclo del carbono, se emplean como indicadores biológicos de la calidad del suelo, debido a que están estrechamente relacionadas con la actividad microbiana o biomasa edáfica, son sensibles al estrés ambiental y responden rápidamente a los cambios en el manejo de la tierra. Por estos motivos, se las emplea para monitorear el estado de los agroecosistemas vitícolas y evaluar productividad. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes sistemas de manejo agrícola del cultivo de *Vitis vinifera* L., labranza mínima (LMín) y convencional (LConv), sobre las actividades de las enzimas celulasas (Ce), xilanasas (Xi) y amilasas (Am) y el contenido de materia orgánica del suelo (MOS).

Materiales y Métodos:

El diseño de muestreo fue en bloques al azar con 6 repeticiones. Se tomaron muestras de suelo de cultivo de *Vitis vinifera* L. de los primeros 10cm de profundidad; en los meses de abril y noviembre

correspondientes a los años 2013 y 2014. Las muestras se tomaron en micrositios: 6 filas (F) y 6 interfilas (IF) del cultivo en dos sistemas de manejo agrícola: LConv, en la que se utiliza agroquímicos y se aplica labranza tradicional; y LMín, donde también se usan agroquímicos, aunque prácticamente no ocurre la remoción del suelo. De cada una de las F e IF se tomaron 6 submuestras, y se homogeneizaron posteriormente para ser analizadas en laboratorio. La MOS se determinó mediante el método de digestión húmeda de Walkley y Black y las actividades de las enzimas Ce, Am y Xi, mediante la técnica colorimétrica de DNS. El procesamiento de los datos se llevó a cabo a partir de un análisis de componentes principales (ACP).

Resultados:

El ACP muestra que la componente principal 1, explica el 75% de la variabilidad entre los micrositios estudiados. Las variables Xi, Ce y Am registraron pesos negativos; mientras que la MOS presentó valor positivo. La componente principal 2, explica el 20% de la variabilidad del sistema. La MOS y las actividades de las enzimas Am y Xi recibieron pesos negativos; mientras que las Ce presentaron peso positivo. El contenido de MOS se asoció a los suelos del manejo del viñedo con LConv (F e IF). Las actividades de las enzimas Am y Xi se asociaron en mayor medida a los suelos de las F del sistema de manejo con LMín, mientras que la actividad de las Ce, se asoció mayormente a los suelos de las IF del sistema antes mencionado.

Conclusiones:

Los resultados pondrían en evidencia que, pese a que los mayores niveles de MOS se registraron en los suelos del manejo con LConv, no se vio favorecido el incremento de la actividad enzimática. Por otra parte, los mayores valores de actividad de las enzimas Am, Ce y Xi en los suelos de viñedo con LMín, estarían indicando un efecto positivo de la no remoción del suelo sobre la microbiota edáfica.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

DESARROLLO DE UN SENSOR BIOLÓGICO PARA REPORTAR CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

MENDOZA, Julián Ignacio | CHECA, Susana

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO

Introducción y Objetivos:

La contaminación por metales pesados tóxicos como mercurio (Hg) es una preocupación a nivel mundial, ya que altos niveles de este metal afectan no sólo la salud humana sino también al medio ambiente. La tecnología de biosensores bacterianos (microorganismos modificados genéticamente para acoplar la detección de un metal a la producción de una señal fácilmente cuantificable) emerge como una nueva herramienta para contribuir a dar solución a esta problemática. La principal ventaja de los biosensores es que reportan exclusivamente la fracción de metal biodisponible (como iones), siendo más apropiados para evaluar su riesgo ambiental. Además, esta tecnología tiene un bajo costo de implementación y las determinaciones se realizan de manera simples y rápidas. Nuestro

grupo se ha centrado en el estudio de proteínas metalorreguladoras, el componente central del biosensor y principal determinante de la especificidad de la determinación. Previamente, a partir de GolS, un sensor de Au presente en Salmonella, desarrollamos un biosensor de oro y otro de amplio espectro de detección de metales tóxicos. Este biosensor es capaz de reportar simultáneamente y con alta sensibilidad la presencia de Hg, Cd y Pb en muestras acuosas, tres de los metales más contaminantes según la WHO. Con el objetivo de obtener nuevas variantes de GolS capaces de reportar específicamente Hg biodisponible, y posibilitar su cuantificación, modificamos la región de unión a metal de GolS de manera programada para asimilarla a la de sensores nativos de Hg.

Materiales y Métodos:

Para modificar el sensor, aplicamos mutagénesis sitio-dirigida. Utilizamos construcciones reporteras colorimétricas y fluorescentes, y distintos chasis bacterianos, para analizar la actividad transcripcional de las variantes de GolS obtenidas en presencia de distintos metales.

Resultados:

Una de estas variantes mostró especificidad para detectar Hg soluble incluso en presencia de otros metales como Au, Cu, Cd, Pb o Co. La inclusión de una construcción reportera fluorescente en el biosensor posibilita detectar altos niveles de Hg a ojo desnudo iluminando la muestra con luz azul. La calibración del biosensor fluorescente en condiciones de laboratorio reveló una sensibilidad y rango de detección de Hg adecuadas, permitiendo su uso para evaluar muestras con concentraciones de Hg superiores a 6 ppb, el valor máximo tolerado de este tóxico en aguas de consumo recomendado por WHO y otras agencias de protección.

Conclusiones:

El biosensor fluorescente desarrollado tiene potencial aplicación para identificar y cuantificar Hg en soluciones acuosas. Sumado a los biosensores previamente desarrollados en el laboratorio, posibilita el desarrollo de un dispositivo de detección para el rápido análisis, identificación y cuantificación de metales tóxicos en aguas de consumo o ambientales.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ROL DIFERENCIAL DE LAS PROTEINAS FLIL EN LOS DOS SISTEMAS FLAGELARES DE BRADYRHIZOBIUM DIAZOEFFICIENSUSDA 110

MENGUCCI, Florencia | DARDIS, Carolina | ALTHABEGOITI, María Julia | MONGIARDINI, Elias | LODEIRO, Anibal | QUELAS, Juan Ignacio

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos:

Los flagelos son estructuras especializadas, altamente complejas, que permiten la propulsión de las bacterias en distintos ambientes. La natación es un tipo de movimiento mediado por flagelos, la cual consiste en el movimiento de células individuales en medio líquido. *B. diazoefficiens* es el único rizobio descrito que posee dos sistemas flagelares: uno subpolar y otro lateral, los cuales aportan al

movimiento de natación. Ambos sistemas están compuestos por grupos de genes distintos, que se regulan de manera independiente y, a diferencia de otras especies, se expresan simultáneamente en medio líquido suplementado con arabinosa. Las proteínas que forman la estructura flagelar se encuentran bien caracterizadas en bacterias modelo. Sin embargo, la función precisa de una pequeña proteína estructural llamada FliL, se desconoce. En *E. coli*, FliL se localiza en la base de la estructura flagelar y parece contribuir a la estabilidad del motor cuando aumenta la fuerza de torque. Para estudiar la función de FliL en la natación de *B. diazoefficiens* USDA 110, se obtuvieron mutantes delecionales en los genes *fliLS* y *fliLL*, asociados al flagelo subpolar y lateral respectivamente. Además, para eliminar interferencias entre los sistemas flagelares, se delecionó *fliL* sobre cepas carentes de los filamentos del sistema flagelar subpolar ("DELTA"*fliC*) y lateral ("DELTA"*lafA*).

Materiales y Métodos:

Las cepas mutantes se obtuvieron utilizando técnicas clásicas de biología molecular. La movilidad en medio semisólido se evaluó en medio mínimo con 0,3% agar. La velocidad de nado se adquirió mediante el análisis de bacterias filmadas en medio líquido con el software Move-tr/2D. El efecto de la viscosidad se ensayó adicionando polivinilpirrolidona (PVP) al medio de cultivo. Las flagelinas y el ARNm se extrajeron de medios líquidos y agarizados, y se analizaron mediante SDS-PAGE y RT-qPCR, respectivamente.

Resultados:

En agar semisólido se observó una mayor movilidad de la mutante "DELTA"*fliLS* respecto a la cepa salvaje, mientras que "DELTA"*fliLL* nadó menos que ambas. En relación a ello, proteínas extracelulares extraídas de la cepa "DELTA"*fliLS* mostraron mayor intensidad de señal de las flagelinas del sistema lateral (*LafA*) respecto a las subpolares. Esta mayor cantidad de *LafA* en la cepa "DELTA"*fliLS* se correlacionó con un aumento del ARNm del regulador maestro del sistema lateral (*lafR*), y también de sus genes diana. Al caracterizar la cepa "DELTA"*lafA*/"DELTA"*fliLS*, se observó una reducción en la velocidad de nado y en el diámetro del halo de natación en medio semisólido respecto a la cepa parental "DELTA"*lafA*. Por el contrario, al evaluar ambos parámetros en la cepa "DELTA"*fliC*/"DELTA"*fliLL*, no se observó movilidad alguna.

Conclusiones:

FliLL resultaría esencial para el correcto funcionamiento del sistema flagelar lateral, mientras que *FliLS* posee un rol importante pero no determinante. A su vez, la ausencia de *FliLS* en la mutante simple indicaría una señalización cruzada entre ambos sistemas flagelares, conexión que, de corroborarse, no ha sido descrita en esta especie bacteriana.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

IMPACTO EN EL PERFIL AROMÁTICO Y SENSORIAL DE VINOS REDUCIDOS EN ETANOL OBTENIDOS MEDIANTE CULTIVOS SECUENCIALES DE HANSENIASPORA UVARUM Y SACCHAROMYCES CEREVISIAE

MESTRE, Maria Victoria¹ | GALLARDO, Maria Candelaria² | VERGARA ALVAREZ, Silvia Cristina² | KUCHEN, Benjamin² | TORO, Maria Eugenia³ | VAZQUEZ, Fabio⁴ | CARRAU, Francisco⁵ | DELLACASSA, Eduardo⁵

BT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET 1; IBT, FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET 2; IBT FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ 3; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ 4; Facultad de Química - UDeLaR / Lab. de Biotecnología de Aromas 5

Introducción y Objetivos:

Vinos bien estructurados y con adecuada complejidad aromática son algunas de las preferencias de los nuevos consumidores. Con el fin de obtener dichas características es necesario asegurar una adecuada madurez fenólica en el viñedo, lo cual requiere cosechas prolongadas en el tiempo. Sin embargo, en un contexto actual de cambio climático, retrasar el tiempo de cosecha, trae aparejado ciertos problemas como ser el aumento de la concentración de azúcar y consecuentemente incremento del grado alcohólico en el producto final. El aumento de etanol en vinos causa ciertos problemas asociados a la salud, tasas impositivas y deterioro de la calidad organoléptica. Diferentes estrategias pre-fermentativas, fermentativas y postfermentativas son propuestas para mitigar dicho problema. El uso de levaduras no- *Saccharomyces* y *Saccharomyces* con metabolismos ineficientes respecto a la producción de etanol es una alternativa atractiva para ser empleada. Sin embargo, más allá de presentar ineficiencia en la transformación de azúcares en etanol es necesario que aporten un perfil organoléptico deseado en la matriz del vino. En el presente estudio se evaluó el impacto sensorial y aromático de un cultivo secuencial optimizado entre la levadura *H. uvarum* (BHu9) y *S. cerevisiae* (BSc114) (T1) en mosto Cv. Malbec (Cañada Honda – San Juan) comparado con fermentaciones en monocultivo de *S. cerevisiae* (BSc114) (TC).

Materiales y Métodos:

Se determinó la composición aromática mediante SPE- GC- MS y se evaluaron los vinos con un panel sensorial entrenado. Los ensayos se realizaron por triplicado y se trabajó con un nivel de confianza de 95 %.

Resultados:

Los vinos obtenidos a partir de la co-inoculación presentaron 0.52 % v/v menos de etanol respecto al monocultivo ($p < 0.05$). El tratamiento TC presentó mayor concentración total de alcoholes superiores, ésteres y ácidos grasos. Los compuestos etil decanoato y hexanoato, 3-etoxy-1-propanol, isoamil acetato y "gamma"-butirolactona fueron detectados con mayor concentración en el tratamiento T1 ($p < 0.05$). Mientras que los vinos obtenidos con BSc114 (TC) los compuestos con mayor aporte fueron el etil octanoato, 3 metil 1 butanol, 3 metil 1 propanol, 2 fenilalcohol y "gamma"-valerolactona ($p < 0.05$). mediante el análisis sensorial se determinó que los vinos fermentados con co-inoculación estuvieron asociados a caracteres frutales y a la intensidad de color. Los vinos producidos con *S. cerevisiae* se asociaron a características aromáticas florales, amargo, calor y astringencia, siendo estas últimas características asociadas a vinos con más alta graduación alcohólica.

Conclusiones:

A partir de los resultados obtenidos, se determina que la estrategia de co-inoculación además de producir una reducción significativa en el grado alcohólico, proporciona características visuales y organolépticas deseadas en la matriz del vino. De esta manera se propone una técnica adecuada de mitigación a la problemática actual que debe enfrentar la viticultura y enología.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

DISEÑO DE UN MEDIO MINIMIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE MANITOL POR FRUCTOBACILLUS C

MOHAMED, María Florencia | RAYA, Raúl Ricardo | MOZZI, Fernanda

ENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos:

El manitol es un edulcorante de bajas calorías ampliamente usado en la industria alimenticia. La producción microbiana de manitol por *Fructobacillus* es de gran interés ya que este microorganismo utiliza la fructosa como aceptor de electrones para su crecimiento con la concomitante formación de manitol. En estudios previos se observó que dos cepas de *Fructobacillus* eran muy buenas productoras de manitol cuando crecían en medio FYP con jarabe de fructosa (JMAF) al 9% de azúcares final (FYPj). El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de los componentes de FYPj en el crecimiento y la producción de manitol por *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034 y formular un medio de cultivo minimizado apto para la producción de este poliol.

Materiales y Métodos:

Se utilizó el diseño estadístico Plackett-Burmann para la evaluación de 2 niveles de los 8 componentes del medio FYP [presencia o ausencia en la mayoría de las variables, a excepción de peptona vegetal (0,25 y 0,5%) y extracto de levadura (0,5 y 1%)]. Se ejecutaron 12 ensayos independientes para cada cepa que se inocularon a $DO_i = 0,05$ e incubaron a 30 °C 24 h. Como respuestas para el modelo se usaron: i) logUFC 0-24 h, asociada al crecimiento microbiano y ii) la relación manitol/fructosa residual, asociada a la producción de manitol (HPLC). Se visualizaron las variables significativas sobre las respuestas estudiadas (por separado), mediante diagramas de Pareto. Para la optimización de las respuestas se usó la función D (desirability). En base a los resultados obtenidos, se diseñó un medio minimizado (FYPjmin) para ambas cepas que fue luego validado mediante la evaluación del crecimiento y la producción de manitol respecto al medio control.

Resultados:

Solo el $MnSO_4$ y el acetato de sodio (NaAc) presentaron efectos significativos en la relación man/fru para ambas cepas. El NaAc también tuvo efectos significativos en el crecimiento en *F. tropaeoli*. Por otro lado, el extracto de levadura mostró un efecto significativo sobre el logUFC 0-24 h para ambas cepas mientras fue positivo en la relación man/fru solo para *F. durionis*. Se diseñó el medio minimizado con las siguientes variables y niveles: extracto de levadura 1%, peptona 0,25%, NaAc 0,2%, $MnSO_4$ 0,001% y JMAF al 9% como fuente de carbono. Finalmente, se determinó el crecimiento, producción de manitol y actividad manitol 2-deshidrogenasa (MDH) de los cultivos crecidos en FYPjmin y FYPj (control). Ambos fructobacilos crecieron de manera similar en ambos

medios excepto por una mayor fase de latencia para *F. durionis* en FYPjmin. Respecto a la actividad MDH, no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en los cultivos crecidos en ambos medios para *F. durionis* ($3,04 \pm 0,25 - 3,71 \pm 0,18$ U/mg) y *F. tropaeoli* ($3,86 \pm 0,70 - 4,51 \pm 0,13$ U/mg).

Conclusiones:

Se diseñó un medio minimizado adecuado para el crecimiento y producción de manitol por *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

PRODUCCIÓN DE MANITOL POR FRUCTOBACILLUS EN PRESENCIA DE DIFERENTES ACEPTORES DE ELECTRONES

MOHAMED, María Florencia | RAYA, Raúl Ricardo | MOZZI, Fernanda

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos:

Las bacterias lácticas (BL) fructofílicas se encuentran en nichos ricos en fructosa como frutas y flores y poseen la capacidad de producir manitol, un edulcorante natural de bajas calorías. Dentro de este grupo, el género *Fructobacillus* es incapaz de reducir acetil-CoA a etanol por lo que usa aceptores de electrones como fructosa, piruvato u oxígeno para regenerar el poder reductor. Nuestro objetivo fue estudiar el crecimiento, producción de manitol y actividad manitol 2-deshidrogenasa (MDH) de *Fructobacillus* en presencia de fructosa, piruvato y oxígeno.

Materiales y Métodos:

Las cepas *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034 y la mutante *F. tropaeoli* CRL 2034::ldh1 se cultivaron a 30 °C 24 h en medios con: 1) glucosa (GYP) , 2) fructosa (FYP), 3) glucosa y fructosa (1:2, FGYP), 4-6): medios 1-3 con piruvato (+pir) y 7-9): medios 1-3 con agitación (+ag). Se evaluó crecimiento (DO600) y se midió producción de manitol y actividad MDH (4 h) en medios con fructosa.

Resultados:

Todas las cepas crecieron óptimamente en medios con glucosa y fructosa (con piruvato, agitación o en ausencia de ambos) y en GYP+pir mientras que no crecieron solo con glucosa. *F. durionis* creció más lentamente en FYP con piruvato u oxígeno. La mutante CRL 2034::ldh1 presentó menor crecimiento en todos los cultivos debido al desbalance redox celular causado por ausencia de actividad LDH. La producción de manitol por los fructobacilos fue de 7,9-12,3 g/l en los medios FYP y FGYP siendo menor en los medios con piruvato (1,3-9,3 g/l) indicando competencia de piruvato con fructosa por los electrones. Este efecto fue más marcado con *F. durionis* que mostró los menores rendimientos de producción de manitol. La producción de manitol por la mutante ::ldh1 fue 8,4–12,3 g/l en todos los medios siendo su producción específica mayor que la de las cepas salvajes. La actividad MDH de *F. durionis* CRL 2054 y *F. tropaeoli* CRL 2034 fue mayor en el medio FGYP con

respecto a los demás medios para ambas cepas siendo la de *F. trophaeoli* (6,63 U/mg) 1,6 veces mayor que la de *F. durionis* (3,59 U/mg). La adición de piruvato causó una disminución de la actividad en todos los casos.

Conclusiones:

Los resultados demostraron que el piruvato compite con la fructosa como aceptor de electrones provocando un descenso en la producción de manitol y actividad MDH en los fructobacilos estudiados. Este efecto no fue tan marcado para el oxígeno. *F. trophaeoli* presentó mayor actividad MDH que *F. durionis* que mostró disminución en el crecimiento y en el consumo de fructosa en presencia de otros aceptores de electrones. Finalmente, la mutante de *F. trophaeoli* produjo elevadas cantidades de manitol a pesar de su lento crecimiento en las diferentes condiciones.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

EXPRESIÓN DE UNA LACASA DE PHEBIA BREVISPORA EN KLUYVEROMYCES LACTIS

MOLINA, Melisa Antonella 1 | MILDE, Laura² | SGROPPO, Sonia Cecilia³ | ZAPATA, Pedro Darío⁴ | FONSECA, Maria Isabel⁵

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR - INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" 1; LABORATORIO 204. MÓDULO FARMACIA Y BIOQUÍMICA. UNAM 2; IQUIBA- NEA 3; LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR - INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" 4; LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR. INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES "DRA. MARÍA EBE RECA" 5

Introducción y Objetivos:

Phlebia brevispora BAFC 633 es un hongo de pudrición blanca que produce una lacasa principal de 60 kDa y una de 75 kDa, que han sido purificadas y caracterizadas. Ésta enzima puede ser utilizada en procesos industriales, para lo que es necesario producirla en grandes cantidades y una manera de lograrlo es expresándola en la levadura GRAS *Kluyveromyces lactis*, que es de elevado interés biotecnológico debido a que tiene el potencial de expresar altos niveles y a gran escala proteínas recombinantes mediante rápido crecimiento de alta densidad celular y sin presentar background de expresión celular durante los pasos de clonación en *Escherichia coli*.

Materiales y Métodos:

El presente trabajo tuvo como objetivo obtener lacasa recombinante a partir del ADNc aislado del hongo de pudrición blanca *P. brevispora* BAFC 633. Para ello, se realizó una amplificación por PCR utilizando como templado el gen previamente subclonado por el grupo y luego se digirió con las enzimas de restricción NotI y XhoI, al igual que el vector de expresión utilizado, pKLAC2. Estos

productos fueron ligados y utilizados para realizar la transformación de las bacterias Escherichia coli utilizando ampicilina para la selección. Luego se llevó a cabo la extracción del ADN plasmidico mediante un procedimiento de lisis alcalina. La calidad de estos plásmidos se analizaron mediante electroforesis en geles horizontales de agarosa. Seguidamente se procedió a la linealización con la enzima Sac II, de los plásmidos que resultaron contener el gen de interés y se prosiguió a la clonación dentro de la levadura K. lactis. Los recombinantes se seleccionaron mediante la aparición de un halo verde en medio YCB suplementado con ABTS. En todas las etapas se verificó la identidad de la secuencia mediante secuenciación y herramientas bioinformáticas.

Resultados:

De esta manera, los recombinantes que mostraron halos más intensos y grandes se seleccionaron para continuar posteriormente con el estudio exhaustivo en medio líquido. Finalmente, se verificó que el marco de lectura de la proteína de interés es correcto con 1500 pb.

Conclusiones:

Estos resultados confirman que K. lactis es un hospedero apropiado para producir lacasa, sentando del mismo modo las bases para futuras investigaciones de la proteína, como así también para su aplicación en diferentes procesos.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA (EHEC): ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN Y FUNCIONALIDAD DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III

MONTAÑEZ-CULMA, Johanna¹ | BERNAL, Alan Mauro¹ | FUENTES, Federico¹ | BRUBALLA, Andrea¹ | PINEDA, Gonzalo¹ | RAMOS, María Victoria¹ | MCATEER, Sean² | GALLY, David² | PALERMO, Marina¹ | FERNANDEZBRANDO, Romina Jimena¹

LABORATORIO DE PATOGÉNESIS E INMUNOLOGÍA DE PROCESOS INFECCIOSOS, IMEX-CONICET-ANM 1; DIVISION OF INFECTION AND IMMUNITY, THE ROSLIN INSTITUTE, UNIVERSITY OF EDINBURGH. 2

Introducción y Objetivos:

Los genes para las toxinas Shigas (Stx) están codificados en bacteriófagos lamboides que lisogenizan a las Escherichia coli enterohemorrágicas (EHEC), constituyendo un factor determinante en el desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico; sin embargo, la capacidad para la formación de lesiones características de attaching and effacement (A/E) en el epitelio intestinal, debido a la actividad del Sistema de Secreción Tipo III (T3S), establece un factor esencial en la adherencia y colonización de EHEC. El T3S se expresa desde la isla de patogenicidad Locus of enterocyte effacement (LEE), en donde el regulador Ler, codificado en el primer operon controla la transcripción

de los demás operones (LEE2-5). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que tiene in vitro e in vivo la sobreexpresión del regulador Ler del T3S en cepas EHEC.

Materiales y Métodos:

Transformamos con un plásmido que codifica para el regulador interno del LEE (Ler) dos cepas EHEC una productora de Stx2, aislada en humanos (125pLer) y su isogénica mutante que no expresa Stx2 (Δ Stx pLer). Como control usamos el mismo plásmido sin la secuencia de Ler (125pW y Δ Stx pW). Analizamos la expresión de proteínas del T3S mediante SDS-PAGE y Western blot (Esp B/D), la adhesión bacteriana in vitro a células epiteliales intestinales (HCT-8 y Caco-2), la colonización bacteriana in vivo en un modelo murino de SUH por inoculación intragástrica de las cepas clonadas y la motilidad mediante pruebas microbiológicas.

Resultados:

Observamos un aumento en la expresión de Esp B/D en 125pLer y Δ Stx pLer por SDS-PAGE y WB, además 125pLer mostró mayor adhesión a células HCT-8 y Caco-2 con respecto a las demás cepas, evidenciado también por microscopia confocal (% de adherencia \pm DS: HCT-8 = 125pLer: 69 \pm 2; 125pW: 20 \pm 3; Δ Stx pLer: 35 \pm 1; Δ Stx Pw: 15 \pm 1; Caco-2 = 125pLer: 49 \pm 1; 125pW: 10 \pm 1; Δ Stx pLer: 36 \pm 4; Δ Stx Pw: 12 \pm 1; ANOVA $p < 0.05$). Así mismo, se encontraron diferencias en la colonización entre las cepas en Materia fecal (MF) log UFC/g y en Intestino Grueso (IG), Intestino Delgado (ID) y Ciego (C) log UFC/cm (Media \pm ESM) 125pLer MF: 3,3 \pm 0,4 IG: 3,7 \pm 0,3 ID: 4,2 \pm 0,3 C: 3,9 \pm 0,4; 125pW: MF: 2,3 \pm 0,4 IG: 3,2 \pm 0,3 ID: 4,3 \pm 0,3 C: 3,0 \pm 0,4; Δ Stx pLer: MF: 3,7 \pm 0,3 IG: 3,7 \pm 0,4 ID: 3,5 \pm 0,6 C: 3,3 \pm 0,7; Δ Stx Pw: MF: 2,1 \pm 0,4 IG: 2,7 \pm 0,5 ID: 2,9 \pm 0,5 C: 3,3 \pm 0,7; ANOVA $p < 0.012$). Igualmente se vio que 125pLer produjo mayor mortalidad en un modelo murino (% de mortalidad: 125pLer: 100; 125Pw:60 Log-rank $p < 0.05$). Las pruebas de motilidad mostraron mayor diámetro (mm) a las 48 hs en las cepas que no tenían sobreexpresión de Ler (media \pm ESM: 125pLer: 34 \pm 6; 125pW: 45 \pm 8; ANOVA $p < 0.05$; Δ Stx pLer: 37 \pm 8; Δ Stx Pw: 80 \pm 3; ANOVA $p < 0.05$).

Conclusiones:

La sobreexpresión de Ler favorece el aumento de la producción de proteínas del T3S que, por un lado, lleva a una disminución en la motilidad y, por otro lado, a una mayor adhesión bacteriana y colonización intestinal. Todas estas observaciones en conjunto determinan un aumento en la patogenicidad in vivo.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

[Volver al índice de resúmenes](#)

INOCULANTES MICROBIANOS: MARCAJE GÉNICO DE UNA CEPA COMERCIAL BASADA EN PSEUDOMONAS SP. 1008 PARA ANALIZAR SU PERMANENCIA EN MUESTRAS DE SUELO

MORELLATO, Agustín Ezequiel 1 | WALL, Luis2 | AGARAS, Betina2

Introducción y Objetivos:

Los efectos benéficos de los inoculantes microbianos probióticos sobre plantas son conocidos, pero aún no se ha estudiado en detalle sus dinámicas de crecimiento, persistencia y efectos microambientales en el suelo. El inoculante Rizofos® (Rizobacter Argentina S.A.) está basado en la cepa *Pseudomonas* sp. 1008 y se comercializa para favorecer la disponibilidad de fósforo en gramíneas. Con este producto como modelo, nos propusimos obtener una variante marcada y caracterizarla fenotípicamente para realizar ensayos en invernáculo y analizar su trazabilidad en distintas porciones del sistema suelo-raíz.

Materiales y Métodos:

En la caracterización fenotípica, se cuantificaron *in vitro* la producción de fosfolipasas (agar yema de huevo, AYH), exoproteasas (agar leche, AL) y la solubilización de fosfatos inorgánicos (agar NBRIP), y se evaluó la producción de ácido cianhídrico (HCN) y la susceptibilidad a los antibióticos kanamicina, gentamicina y cloranfenicol. La variante marcada (1008-VM) se obtuvo por conjugación tetraparental (Lambertsen et al. 2004, doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00605.x), incorporando un cassette que expresa la proteína fluorescente YFP y resistencias a estreptomycin (Str) y kanamicina (Km). Se realizó un ensayo en invernáculo en macetas de 1l con mezcla suelo:perlita, plantas de trigo y 1 mes de duración. Los tratamientos fueron 4: A) trigo sin inoculación; B) trigo inoculado en semilla; C) trigo inoculado en sustrato; D) sin planta, sustrato inoculado. El seguimiento de 1008-VM en las muestras de raíces, suelo rizosférico (SR) y suelo libre (SL) se hizo mediante recuentos en placa en medio selectivo Gould's S1 con Str100 y Km50. Además, se observó al microscopio de fluorescencia el patrón de colonización sobre las raíces. El efecto sobre el desarrollo vegetal (PGP) se evaluó midiendo biomasa radical y aérea y altura.

Resultados:

La cepa comercial expuso gran capacidad para solubilizar fosfatotricálcico, como se esperaba, pero además se observaron altas actividades relativas en AL y AYH, las cuales están relacionados con el biocontrol en otras *Pseudomonas* (Sacherer et al. 1994, doi: 10.1111/j.1574-6968.1994.tb06694.x). El fenotipo de 1008-VM fue idéntico al salvaje y la inserción fue estable, representando un buen modelo para el ensayo en invernáculo. En éste, se observó que en los tratamientos B y C la colonización radical fue alta (con títulos entre 107-108 UFC/gr de muestras R). Sin embargo, en las muestras SL y SR, la variante marcada fue observada sólo en el tratamiento C. En conjunto, esto sugiere la existencia de un comportamiento direccional no descrito hasta ahora: estas bacterias podrían desplazarse desde el sustrato hacia la raíz, pero no podrían colonizar el SL partiendo desde la superficie radical. Esto también indicaría que si se inocula en semilla, el efecto microambiental residual sería mínimo. Además, los títulos obtenidos en SL fueron 2 órdenes de magnitud menores en D respecto de C, sugiriendo que la planta también tiene un efecto sobre la supervivencia de la bacteria en el SL circundante. Los efectos PGP acompañaron las tendencias de colonización radical. Por microscopía de fluorescencia, se observaron dos patrones de colonización en superficie radical: difuso o en forma de cordón, según si la inoculación había sido en sustrato o en semilla, respectivamente, sugiriendo que la dinámica de colonización sería distinta en cada caso.

Conclusiones:

Estos resultados sugieren que el comportamiento de Rizofos® en el suelo varía según la metodología de la inoculación. JU 236

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

ESTUDIO COLABORATIVO DE VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS EN LA ARGENTINA

MORONI, Mirian Patricia 1 | VIÑAS, Maria Rosa1 | PANAGÓPULO, Marcela1 | BRENGI, Silvina1 | ALCAIN, Andrea1 | CATALANO, Florencia1 | CAFFER, María Inés1 | JURQUIZA, Veronica2

SERVICIO DE ENTEROBACTERIAS - DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA - INEI ANLIS "DR. CARLOS G MALBRAN" 1; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PESQUERO (INIDEP), MAR DEL PLATA 2

Introducción y Objetivos:

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria gram negativa halófila, vive naturalmente en ambientes marinos costeros y estuarios de todo el mundo. Puede encontrarse en una gran variedad de alimentos de origen marino, como camarones, moluscos bivalvos y peces, siendo un potencial patógeno para el humano. Su infección puede causar gastroenteritis aguda con cefalea, vómitos, dolor abdominal, infección de heridas y hasta septicemia. El objetivo del estudio fue caracterizar feno-genotípicamente casos humanos y ambientales de *V. parahaemolyticus* de Argentina como parte de la vigilancia integrada.

Materiales y Métodos:

En el 2011, el Laboratorio Nacional de Referencia recibió dos aislamientos de *V. parahaemolyticus* provenientes de dos pacientes; uno consumió mariscos en Río de Janeiro, Brasil, y el otro pescado en Mar del Plata, Buenos Aires. Además, el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), que realiza periódicamente el monitoreo de vibrios potencialmente patógenos, seleccionó 45 aislamientos procedentes de muestras de agua, berberechos y mejillones, de la costa Atlántica de Buenos Aires y del Río de la Plata, entre 2008 y 2018. Se realizó la identificación mediante pruebas bioquímicas y la caracterización molecular con la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE). Por PCR se confirmó la especie y la presencia de los principales genes de virulencia: hemolisina termoestable directa (TDH) y hemolisina relacionada a TDH (TRH). Por PFGE se estableció la relación genética, según el protocolo de la Red PulseNet, utilizando la enzima de restricción Sfil y NotI. El análisis se realizó con el programa BioNumerics, método UPGMA, Coeficiente de Dice y tolerancia de 1,5%. Los perfiles genéticos obtenidos por PFGE se incorporaron a la Base de Datos Nacional (BDN) de *V. parahaemolyticus*

Resultados:

Se determinaron 33 patrones genéticos de PFGE con la enzima de restricción Sfil. El aislamiento de *V. parahaemolyticus* del paciente que denunció haber consumido mariscos en Río de Janeiro (2011)

tiene un porcentaje de similitud del 97,14% con respecto a dos aislamientos de berberechos de Mar Azul (2009) y con un aislamiento de agua del Río de la Plata (2017). No hubo similitud genética del aislamiento de *V. parahaemolyticus* del paciente que consumió pescado en Mar del Plata con los del estudio. Por PCR se determinó que los 2 aislamientos de origen humano fueron positivos para TDH y TRH, así como 5 de agua (Río de la Plata 2017) y 1 de berberecho (Mar Azul 2009). No se observó correlación entre los patrones de PFGE y la presencia de genes de virulencia.

Conclusiones:

Si bien es conocido el potencial riesgo de contaminación de productos marinos con este patógeno, se cuenta con poca información sobre la ocurrencia de casos en la Argentina. Por tal motivo, es de vital importancia fortalecer la vigilancia en la clínica y en bromatología para evitar su diseminación, como el monitoreo en los alimentos de origen marino.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

IDENTIFICACIÓN DE UNA NOVEDOSA ACIL ACP DESATURASA EN CEPAS DE BACILLUS CEREUS

MOYANO, Martina | TORRES MANNO, Mariano | ESPARIZ, Martín | ALTABE, Silvia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

Bacillus cereus “sensu lato” o sl. es un grupo bacteriano ecológicamente diverso que comprende un número creciente de especies, muchas de las cuales son de importancia médica o agrícola. Estas bacterias son capaces de crecer en un rango de temperaturas entre 4°C y 50°C. En base a esto, se las ha clasificado en siete “termotipos” que abarcan especies psicrotolerantes, mesófilas y termotolerantes. Estudios recientes sugieren que *B. cereus* ha ido adaptándose para crecer a temperaturas cada vez más bajas, evolución que tiene importantes implicancias en la Industria Alimenticia. A bajas temperaturas los organismos experimentan una importante disminución de la fluidez de membrana que afecta su funcionalidad. Las bacterias poseen la habilidad de ajustar dicha fluidez modulando la composición de ácidos grasos (AG) en respuesta a las fluctuaciones de temperatura. En bacterias Gram positivas el mecanismo más importante utilizado para este fin es la incorporación de insaturaciones a AG de membrana mediante el empleo de enzimas denominadas desaturasas.

Resultados:

Para comprender el rol de la composición de AG en la adaptación a bajas temperaturas determinamos el patrón de AG de la cepa de *B. cereus* ATCC 10876 mediante cromatografía

gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se identificaron AG insaturados (AGI) delta 5, delta10, productos de las desaturasas DesA y DesB ya caracterizadas y, llamativamente, AGI delta 9 aún no descriptos en *Bacillus*. El análisis bioinformático del genoma de esta cepa permitió identificar un marco abierto de lectura (ORF) anotado como una Acil ACP desaturasa (AAD). En plantas, este tipo de desaturasa sintetiza AGI-delta 9. Este ORF codificaría para una proteína de 310 AA que comparte con la AAD de plantas una identidad del 27% y 43% de similitud. El modelado estructural de esta proteína ajusta perfectamente con la estructura cristalina de la AAD de plantas, por lo que hipotetizamos que este ORF estaría codificando para una AAD que sería la responsable de las síntesis de los AGI-delta 9. Este tipo de desaturasa ha sido descripta únicamente en plantas y micobacterias por lo que decidimos establecer la relación entre la presencia de la misma y la capacidad de crecer a bajas temperaturas en distintas cepas del grupo *B. cereus*. A su vez, hemos iniciado su caracterización bioquímica. Mediante estudios filogenómicos de 2160 cepas de *B. cereus* establecimos que la distribución de los genes de la AAD no coincide con la historia evolutiva del grupo, sugiriendo eventos de transferencia horizontal. Avalando esta hipótesis, se identificó la presencia del gen de la ADD en al menos nueve plásmidos distintos, los cuales poseen asociados el gen *cpsA* que codifica para una proteína inducida significativamente en respuesta al estrés por frío (cold shock protein).

Conclusiones:

Estas observaciones sugieren una correlación entre la presencia de dichos genes y la adaptación de estas cepas a menores temperaturas de crecimiento

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS EPIFITAS DE HOJAS DE VID PARA SU APLICACIÓN COMO BIOCONTROLADORES

MUNICOY, Julieta¹ | BERNABEU, Pamela² | LUNA, María Flavia² | PISTORIO, Mariano ¹

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP 1; CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CONICET-UNLP) 2

Introducción y Objetivos:

La vid es uno de los frutales más cultivados en el mundo; se trata de una planta perenne con alrededor de 24000 especies descriptas, siendo *Vitis vinifera* L. la única empleada para elaboración de vino. Se estima que el 66% de la producción mundial de uva se destina a la obtención de vinos y mostos. Sin embargo, y como consecuencia del cambio climático, se ha registrado una reducción de la superficie cultivada con viñedos, así como una mayor exposición de las plantas a la acción de patógenos que las afectan durante todo su ciclo vegetativo, razón por la cual se realizan múltiples

esfuerzos destinados a proteger este cultivo durante todo su ciclo biológico. Una estrategia simple ha sido la aplicación de fungicidas y fertilizantes químicos, con los consiguientes problemas de contaminación ambiental, sumados a la inducción de mutaciones en los fitopatógenos por acción de los fungicidas químicos, que pueden resultar en el desarrollo de resistencia a los mismos. Por esto, tanto los vitivinicultores como la comunidad científica buscan alternativas para el manejo de plagas y la preservación de la fertilidad de los suelos en los viñedos, consistiendo una de ellas en la aplicación de microorganismos como sustituto de los productos químicos. Una característica importante para el éxito de la aplicación de microorganismos es la persistencia de los mismos en el ambiente a ser utilizado.

Resultados:

En la provincia de Salta las vides se encuentran en altitudes que pueden superar los 1700 msnm. Este hecho plantea la necesidad de que los microorganismos a utilizar para controlar fitopatógenos de la parte aérea de la plata deban sobrevivir a la alta radiación UV. Entonces, con el fin de encontrar microorganismos que sean capaces de crecer en estos ambientes adversos y que presenten características promotoras del crecimiento vegetal y de biocontrol se realizaron aislamientos de hojas de vid. Se analizaron en total 328 aislamientos, realizados en medio LB y PSY a partir de las caras abaxial y adaxial de hojas de los cultivares Malbec y Cabernet Sauvignon provenientes de viñedos cultivados a 1700, 2200 y 2600 msnm. Posteriormente, se cultivaron en medios específicos para la detección de actividades enzimáticas normalmente involucradas en la capacidad de ejercer biocontrol y en la colonización y promoción del crecimiento vegetal. De los aislamientos analizados, se encontró que el 27% presentó actividad de la enzima celulasa, el 50% expresó proteasas, el 41% amilasas, el 10% celulasas, el 20% pectinasas y el 45% pudo solubilizar carbonato. Posteriormente, con aquellos aislamientos más promisorios luego del screening enzimático se realizaron ensayos de antagonismo con los hongos fitopatógenos *Alternaria alternata* y *Botrytis cinerea*, presentando algunos de ellos la capacidad de inhibir el crecimiento de estos hongos.

Conclusiones:

Estos resultados nos permitirán avanzar en los ensayos de invernadero y a campo para la generación de un producto amigable con el medio ambiente.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA Y GENÉTICA DEL ANTAGONISMO ANTE EL HONGO FITOPATÓGENO *MACROPHOMINA PHASEOLINA*, EN EL AISLAMIENTO NATIVOSVBP6 PERTENECIENTE A LA NUEVA ESPECIE *PSEUDOMONAS DONGHUENSIS*

MUZIO, Federico Matías | AGARAS, Betina | VALVERDE, Claudio

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET

sólida estrategia a la hora de mejorar la productividad agrícola de la región y disminuir el impacto ecológico debido al uso de pesticidas. En esta línea, nuestro laboratorio obtuvo una colección de aislamientos bacterianos del género *Pseudomonas* provenientes de lotes agrícolas de la región. Entre ellos se destaca el aislamiento SVBP6, perteneciente a la especie *Pseudomonas donghuensis*, por su amplio espectro de antagonismo fúngico. Sin embargo, el genoma de SVBP6 carece de los determinantes genéticos asociados al control biológico de otras especies de *Pseudomonas*, como los clusters génicos para la producción de diacetilfluoroglucinol, fenazinas o lipopéptidos (Agaras et al 2018, doi:10.1016/j.apsoil.2011.11.016). Esto vuelve a SVBP6 un candidato interesante para la identificación de nuevas moléculas o mecanismos intervinientes en el antagonismo de hongos fitopatógenos en el suelo. El objetivo de este trabajo ha sido caracterizar fisiológicamente y genéticamente la producción de los factores determinantes del antagonismo fúngico en SVBP6.

Materiales y Métodos:

Mediante mutagénesis al azar mediada por transposón Tn5 se obtuvo una colección de aproximadamente 60 mutantes de la cepa SVBP6, seleccionados a partir de la pérdida de capacidad antagonista frente al hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* 131.2010. Llamativamente, se detectaron 6 inserciones localizadas en un mismo clúster génico, cuya región homóloga ha sido descrita en el aislamiento *P. donghuensis* HYS como relacionado a la biosíntesis de 7-hidroxitropolona (7-HT) (Chen et al 2018, doi:10.1128/JB.00087-1). Con estos mutantes y la versión salvaje, se realizaron cultivos líquidos en medio King's B, cuyo espectro de absorbancia UV-visible fue analizado. El sobrenadante del cultivo fue utilizado para realizar extracciones en acetato de etilo y ensayos de antagonismo vs *M. phaseolina* 131.2010, adicionando el sobrenadante y/o extracto a agar papa dextrosa.

Resultados:

Constatamos que el sobrenadante libre de células de SVBP6 en fase exponencial tardía retiene la actividad antagonista de hongos y posee picos de absorción UV compatibles con los de 7-HT, en contraste a todos los mutantes Tn5 del cluster identificado, los cuales revelaron una marcada reducción de los picos UV correspondientes, sugiriendo una asociación entre los genes interrumpidos en los mutantes, el antagonismo a *M. phaseolina* y la producción de 7-HT por parte de SVBP6. La producción de al menos un compuesto compatible con 7-HT se activa en fase exponencial media en medio King's B, alcanzando un máximo en la fase exponencial tardía. Se logró extraer la actividad antagonista y su patrón de absorción UV, siendo este extracto capaz de restaurar el antagonismo en un sobrenadante de un mutante Tn5 incapaz de producir 7-HT. La capacidad del extracto conteniendo 7-HT de disminuir el crecimiento de *M. phaseolina* resultó directamente proporcional a la dosis ensayada.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos indican que el aislamiento *P. donghuensis* SVBP6 produce al menos una molécula relacionada a 7-HT, que es un factor preponderante del antagonismo in vitro ante *M. phaseolina*, lo cual podría replicarse en el antagonismo por parte de SVBP6 a otros hongos fitopatógenos.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

¿CUÁLES SON LOS MARCADORES GÉNICOS MÁS ROBUSTOS PARA LA ASIGNACIÓN TAXONÓMICA DE AISLAMIENTOS DEL GÉNERO PSEUDOMONAS?

MUZLERA, Andrés 1 | GARAVAGLIA, Matias2 | VALVERDE, Claudio1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES 1; INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE HURLINGHAM 2

Introducción y Objetivos:

Desde los años 80, la secuencia del ARN y del ADN ribosomal son utilizados como estándar para evaluar diversidad microbiana y clasificar las bacterias en especies. Esta elección se basa en su distribución ubicua y su baja tasa evolutiva, lo que permite realizar comparaciones entre bacterias muy divergentes (Busse, et. al. 1996. doi: 10.1016/0168-1656(96)01379-x). Además, los dominios altamente conservados del ADN ribosomal permiten el diseño de PRIMERS capaces de amplificar una gran variedad de secuencias tanto de eubacterias como de arqueas. Pero, a pesar de estas ventajas, la información que proporcionan no es suficiente para diferenciar bacterias muy emparentadas filogenéticamente (Santos, et. al. 2004. doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00617.x). Además, como el 16S rDNA no codifica ninguna proteína, las inserciones y deleciones pueden introducir problemas en el momento de alinear secuencias. Por otro lado, la selección evolutiva de una secuencia que determina una estructura secundaria en el ARN puede causar convergencia y saturación distorsionando el análisis. Teniendo en cuenta esto, se han propuesto distintos genes codificantes como marcadores filogenéticos para el género PSEUDOMONAS, aunque para su elección solo se tomaron en cuenta 3 factores: que sean codificantes, que estén conservados y que se puedan diseñar PRIMERS (Mulet, et. al. 2010. doi: 10.1111/j.1462-2920.2010.02181.x). En este trabajo planteamos la identificación de aquellos marcadores filogenéticos para el género PSEUDOMONAS, que otorguen mayor capacidad de discriminación de especies de acuerdo a, principalmente, su calidad de contenido informativo.

Materiales y Métodos:

Este trabajo se desarrolló en 4 etapas: 1. Generación y depuración de la base de datos con 215 genomas completos anotados a partir de www.pseudomonas.com; 2. Búsqueda de genes conservados ("core genes"); 3. Análisis de calidad informativa de los genes y sus regiones; 4. Diseño de PRIMERS y generación de concatenados para un análisis multilocus de secuencia (MLSA).

Resultados:

Para definir los CORE GENES se establecieron los siguientes requisitos: 1. Que los genes posean un alto grado de similitud a nivel de secuencia y un porcentaje de identidad mayor a 60%; 2. Ser genes de simple copia. En base a esto se encontraron 52 CORE GENES en nuestra base de datos. Para analizar su calidad informativa se generaron fragmentos de 1000pb con corrimientos de 50pb sobre cada gen. Por cada fragmento se realizó una Correlación de matrices de Mantel, Correlación de topologías de árboles de distancias de Robinson-Foulds y Correlación de topologías de clúster. Se generó un ranking comparando la distancia euclidiana en cuatro dimensiones de cada valor de correlación contra el valor de correlación de un concatenado de los 52 genes conservados (MLSA52) y contra un análisis del índice de nucleótidos promedio (ANI) de cada genoma correspondiente. Una vez obtenidos los fragmentos con mejor score (menor distancia contra MLSA52 y ANI) se diseñaron PRIMERS para amplificar dichas secuencias IN SILICO. Finalmente se generaron todos los posibles concatenados de a tres amplicones y se repitió la comparación de sus valores de correlación contra MLSA52 y ANI.

Conclusiones:

Los concatenados compuestos por amplicones de los genes SPOVR (proteína conservada no caracterizada), PEPN (aminopeptidasa N), GLTB(subunidad mayor de glutamato sintasa) y UVRA

(subunidad A de excinucleasa ABS) presentan los mejores scores postulándose como los ideales para una asignación filogenética robusta de especies dentro del género PSEUDOMONAS.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

IDENTIFICACION DE MUTACIONES PUNTUALES OCURRIDAS LUEGO DEL PROCESO DE ATENUACIÓN DE UNA CEPA DE INTERÉS PECUARIO DE LEPTOSPIRA INTERROGANS

NAGEL, Ariel 1 | AMADIO, Ariel Fernando2 | CAIMI, Karina

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (IABIMO). INTA-CONICET. 1; ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA, INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) 2

Introducción y Objetivos:

Leptospira interrogans es el principal agente causal de la leptospirosis, una zoonosis distribuida mundialmente debido a que se contrae a través del agua contaminada con orina de animales infectados. En Argentina, el serogrupo más frecuente en bovinos es Pomona produciendo una infección severa que puede causar mortalidad en terneros. Previamente, nuestro grupo caracterizó mediante marcadores moleculares una cepa perteneciente a este serogrupo denominada AKRFB que forma parte de una formulación vacunal para bovinos y porcinos y de la cual se obtuvo el genoma completo (Varni et al, 2016). Estos resultados son de suma importancia epidemiológica, pero no permiten explicar los atributos patogénicos y de virulencia de este clon. El objetivo de este trabajo fue entonces, estudiar e identificar las bases moleculares de la cepa AKRFB mediante un análisis genómico comparativo que puedan afectar a la bacteria.

Materiales y Métodos:

Para llevar a cabo este estudio, se logró la atenuación de la cepa AKRFB Pasaje 1 (P1) mediante subcultivos en medio líquido obteniéndose su contraparte atenuada en el Pasaje 19 (P19). La atenuación se confirmó inoculando hámsters que es el modelo de enfermedad aguda (Nagel et al, 2019). Posteriormente, se extrajo ADN del cultivo de la variante P19 mediante un método casero. Se construyeron las bibliotecas genómicas utilizando el kit Nextera XT con extremos pareados. La secuenciación se realizó en el equipo Illumina MiSeq. Luego de filtrar las lecturas crudas se analizaron las características generales y se visualizaron cambios estructurales mediante GenoPlotR comparando contra P1 y un genoma de referencia para *L. interrogans* (serovar Lai cepa 56601). Por otro lado, se evaluaron polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) entre P1 y P19 con el software BreSeq seleccionando solamente aquellas que produjeron cambios no sinónimos en regiones codificantes.

Resultados:

Las características generales que presentó el genoma de P19 fueron: tamaño del genoma de 4.767.933 pb, porcentaje de GC de 35%, 3816 secuencias codificantes (CDS), 34 ARNs de transferencia y 3851 genes. A nivel estructural no se produjeron grandes reordenamientos entre P1 y P19, sólo se identificó una región ausente en la cepa de referencia que codifica para el antígeno O que se encuentra presente en P1 y P19. Mediante el análisis de SNPs se obtuvieron 91 mutaciones totales que fueron filtradas quedándonos sólo las que produjeron un cambio de aminoácido no sinónimo en regiones codificantes. Esto dió una lista final de 10 SNPs (4 caracterizados y 6 no caracterizados) ubicados en genes que codifican para proteínas directamente implicadas en la virulencia de *Leptospira* como *lolA*, *katE*, *ompL1* y *ligB*. produce cambios puntuales en su genoma afectando diferentes funciones relacionadas con la virulencia. Adicionalmente, se presentan genes hasta el momento no caracterizados que pueden ser de importancia en la virulencia de *Leptospira* spp.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

EFECTO DE INDUCTORES ENZIMÁTICOS EN LA DECOLORACIÓN DE NEGRO REACTIVO 5 POR LEVADURAS DEL ORDEN TRICHOSPORONALES

NAVARRO, Alvaro Martin | BULACIO GIL, Natalia M. | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucía I. | PAJOT, Hipólito F.

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET

Introducción y Objetivos:

Haglerozima *chiarellii* ATCC MYA-4694, *Cutaneotrichosporon curvatum* ATCC 10567 y *Trichosporon akiyoshidainum* HP-2023 son levaduras del orden Trichosporonales. *T. akiyoshidainum* producen enzimas como Fenol Oxidasas (FOX), Lacasas (Lac), Manganese Peroxidasas (MnP), Peroxidasas Independiente de Manganese (PIM) en cultivos con Negro Reactivo 5 (NR5). Estas enzimas, por su baja especificidad, podrían estar involucradas en la modificación de lignina y la degradación de compuestos xenobióticos, como los colorantes textiles. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diversos inductores sobre la decoloración de NR5, por *H. chiarellii* y *C. curvatum* y compararlos con los resultados obtenidos en cultivos de *T. akiyoshidainum*.

Materiales y Métodos:

Para confirmar el poder decolorante de *H. chiarellii* y *C. curvatum*, se realizaron cultivos de 50 mL en medio NDM (Normal Decolourization Medium) líquido, con 200 mg/L del colorante e incubados a 25°C y 250 rpm por 24 horas. Se tomaron muestras cada 3 horas de cultivos y se evaluaron las actividades enzimáticas y la cinética de decoloración de NR5. A continuación se prepararon cultivos de 5 mL en medio NDM, con 200 mg/L del colorante NR5 y uno de los siguientes inductores: Fe²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, ácido 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), alcohol veratrílico, vainillin, ácido cafeico y lignina en una de dos concentraciones. Los cultivos fueron inoculados con las

diferentes levaduras e incubados a 25 °C y 250 rpm durante 6 horas. Posteriormente, se evaluó la actividad Lac, FOX, MnP y PIM en los sobrenadantes de cultivo, y el porcentaje de decoloración para cada cultivo.

Resultados:

A las 24 h de cultivo, ambas levaduras produjeron una decoloración superior al 80% en ambos casos. Las actividades enzimáticas medidas fueron comparables a las obtenidas en cultivos de *T. akiyoshidainum* (< 0.5 UI/L), con picos de actividad entre las 6 y las 12 horas, medidos sólo en cultivos con el colorante. Ninguna de las actividades enzimáticas en cultivos de *H. chiarellii* y *C. curvatum* aumentó a causa de los inductores ensayados, en ninguna de las concentraciones probadas tras 6 horas de cultivo. Los cultivos de ambas levaduras a las 6 h mostraron una decoloración promedio inferior al 10%, y no se registraron mayores valores de decoloración atribuibles a los inductores evaluados.

Conclusiones:

Se comprobó que *H. chiarellii* y *C. curvatum* decoloran eficientemente NR5 en cultivos líquidos. Además, se demostró que el colorante puede inducir actividades Lac, FOX, MnP y PIM en estas levaduras, pero que el agregado de inductores de enzimas ligninolíticas no tiene efecto sobre las actividades medidas ni sobre la velocidad de decoloración, sugiriendo la participación de otras enzimas o de mecanismos inespecíficos de decoloración en levaduras del orden Trichosporonales

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

EXIGUOBACTERIUM SP. S56A: PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL Y POTENCIAL AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO

NIEVA MURATORE, Luciana | SANTOS, Ana Paula | FARÍAS, María Eugenia | BELFIORE, Carolina

PROIMI

Introducción y Objetivos:

El hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid es un patógeno expandido mundialmente, con más de 500 especies de plantas hospedantes. Infecta, entre otros hospedantes de importancia agrícola, al sorgo, algodón, maní y soja causando en esta última, la enfermedad conocida como “podredumbre carbonosa”. Esta enfermedad se la observa todos los años en las zonas sojeras de la Argentina, con una incidencia y severidad relacionadas directamente a períodos de estrés hídrico y térmico. El patógeno infecta tanto plantas jóvenes como adultas, produciendo en tallos y raíces; al principio lesiones negras y posteriormente manchas extensas de color gris blanquecino, en donde se localizan las estructuras reproductivas del patógeno (esclerocios y picnidios).

Materiales y Métodos:

Se realizaron pruebas bioquímicas siguiendo protocolos descriptos en la bibliografía y pruebas de antagonismo frente a *Macrophomina phaseolina* mediante el Método de cultivo Dual. La microscopía electrónica se llevó a cabo en el CISME - CONICET

Resultados:

Los resultados mostraron que nuestro aislamiento es capaz de inhibir a las tres cepas de *Macrophomina phaseolina* evaluadas, en un 25% aproximadamente. Se pudo observar que es capaz de producir sustancias con efecto antibiótico difusibles pero no volátiles. Observaciones con microscopía electrónica muestra el daño ocasionado en las hifas de las cepas ensayadas. Por otro lado, los métodos cualitativos realizados demostraron que *Exiguobacterium* sp. S56a produce enzimas degradadoras de la pared celular de hongos como glucanasas y proteasas. Además resultó productora de sideróforos y catalasa, aunque resultó negativa para la producción de HCN y ácidos orgánicos. *Exiguobacterium* es capaz de fijar nitrógeno, solubilizar fósforo, producir catalasa y ácido indol acético. Las semillas inoculadas disminuyen el tiempo de germinación comparadas con las semillas control (sin inocular).

Conclusiones:

Estos resultados alientan a continuar estudiando el uso de *Exiguobacterium* como alternativa para la formulación de un bioinoculante.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

[Volver al índice de resúmenes](#)

ROL DEL MECANISMO DE QUORUM SENSING EN LA CAPACIDAD BIOCONTROLADORA DE BACTERIAS RIZOSFERICAS DE MANÍ (*ARACHIS HYPOGAEA* L)

NIEVAS, Fiorela Lujan | FORESTO, Emiliano | GIORDANO, Walter Fabian | BOGINO, Pablo Cesar

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO-DPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR- FCEFQYN

Introducción y Objetivos:

El maní (*A. hypogaea*) es una leguminosa de importancia agronómica para la provincia de Córdoba, ya que constituye una economía regional casi exclusivamente dedicada a la exportación. Resulta fundamental cuidar la calidad del grano que se produce, razón por la cual es necesario aplicar estrategias que impidan el desarrollo de enfermedades. En la rizosfera de esta leguminosa se encuentra establecida una amplia y diversa comunidad microbiana que interacciona entre sí y con su hospedador a través de un mecanismo de comunicación denominado quorum sensing (QS). Este proceso depende de la producción de señales químicas que se acumulan hasta alcanzar un umbral

de concentración que permite la regulación coordinada de la expresión de genes y por lo tanto del comportamiento bacteriano. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el rol de QS sobre la capacidad de biocontrol de un aislamiento rizosférico de maní, identificado como *Burkholderia* sp. Q53, sobre el patógeno fúngico *Sclerotium rolfsii*, agente causal del marchitamiento blanco.

Materiales y Métodos:

La actividad biocontroladora de esta bacteria fue claramente establecida en ensayos in vitro e in vivo. La detección de moléculas señales de QS del tipo acil homoserin lactonas (AHL) fue determinada mediante bioensayos utilizando las cepas biosensoras *C.violaceum* CV026 y *A. tumefaciens* NTL4 (pZLR4); y mediante HPLC-MS/MS. Para la determinación de la actividad antifúngica tanto de la cepa wt como de las respectivas mutantes, se colocó un taco del hongo de aproximadamente 5mm de diámetro en el centro de la placa conteniendo el medio PDA. A continuación a una distancia de unos 3 cm se sembró el inóculo bacteriano. El efecto antagonista se determinó midiendo el crecimiento fúngico del margen del micelio en dirección a la bacteria.

Resultados:

Los resultados mostraron que la cepa es capaz de producir moléculas QS con diferente longitud de cadena de acilo (entre 6 y 14 átomos de C). Por otra parte, análisis moleculares permitieron identificar dos sistemas de QS responsables de sintetizar estas moléculas señal: QS1 (genes *cepI/R*) para AHLs de cadena acilo corta; y QS2 (genes *bafI/R*) para AHLs de cadena acilo larga. En función de ello fueron construidas mutantes defectivas en la AHL sintasa y en la proteína reguladora de unión a AHL. En general pudo observarse que tanto la cepa wt como las mutantes en QS inhibieron el crecimiento in vitro de *S. rolfsii*, sin embargo la mutación en los genes del sistema de QS1 mostraron mayor porcentaje de inhibición respecto de las mutantes del sistema QS2, indicando que la señalización por QS dependiente de este último sistema es crucial para el desarrollo de la actividad antifúngica de esta bacteria.

Conclusiones:

Estudios posteriores resultan necesarios para determinar si el compuesto capaz de ejercer esta capacidad antifúngica es secretado por la bacteria como un metabolito secundario y a la vez determinar el mecanismo de expresión del mismo a través de QS. De acuerdo a lo expuesto se concluye que la cepa nativa de *Burkholderia* sp. Q53 aislada de la rizosfera de maní, establecería interacciones benéficas con esta leguminosa, promoviendo su crecimiento a través de actividades biocontroloras contra agentes patógenos de origen fúngico.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

ANÁLISIS GLOBAL DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS ÁCIDO DE RHIZOBIUM FAVELUKESII LPU83

NILSSON, Juliet Fernanda | LUCHETTI, Abril | CASTELLANI, Lucas Gabriel | DRAGHI, Walter | TORRES TEJERIZO, Gonzalo A. | PISTORIO, Mariano

Introducción y Objetivos:

La limitación del cultivo de alfalfa en suelos ácidos está fuertemente determinada por su asociación simbiótica con la bacteria fijadora de nitrógeno, *Ensifer meliloti*. El manejo de dicha simbiosis es un factor importante para maximizar su producción de manera sustentable. Los rizobios usualmente son más sensibles a bajos pHs que las leguminosas. En este contexto, resulta relevante caracterizar la respuesta a la acidez de *Rhizobium favelukesii*, un rizobio tolerante a la acidez muy competitivo para la nodulación de alfalfa, pero ineficiente en la fijación biológica de nitrógeno, siendo un potencial factor riesgo al competir con *E. meliloti*.

Resultados:

Para caracterizar dicha tolerancia se realizó un análisis de la respuesta global tanto del proteoma (shotgun proteomics) como el transcriptoma (RNA-Seq) bajo estrés ácido. Los resultados ómicos mostraron que este rizobio presenta una compleja respuesta multigénica, encontrándose varios metabolismos involucrados. Sin embargo, además de la visión global otorgada por los análisis ómicos resulta relevante estudiar la contribución real a la tolerancia a la acidez de los genes identificados expresados diferencialmente (GED). Por lo que se evaluó el fenotipo frente al estrés ácido de una serie de mutantes (*livK*, *braD*, LPU832016 y LPU83pLPU83a 0021) a través de cinéticas de crecimiento y de muerte. Todos los mutantes presentaron un fenotipo diferencial bajo estrés ácido comparado con la cepa salvaje. Asimismo, se evaluó la respuesta a la acidez de una cepa de *R. favelukesii* curada de su pSym, ya que el 60% de los genes del pSym fueron inhibidos en condiciones de acidez. Como resultado dicha cepa evidenció un menor tiempo de duplicación en estrés ácido comparado con su cepa parental, sugiriendo que una menor expresión de los genes presentes en el pSym ante el estrés podría contribuir a un gasto de energía que en la cepa curada no sucede, aportando así energía extra para el crecimiento. Los resultados ómicos revelaron además una expresión diferencial en numerosas proteínas asociadas a la síntesis del peptidoglicano. En consecuencia se evaluó la permeabilidad celular a través de un ensayo de la actividad β -galactosidasa, donde las células expuestas al estrés ácido presentaron una menor permeabilidad. Dichas modificaciones podrían otorgarle a *R. favelukesii* una mayor barrera contra la entrada de H⁺.

Conclusiones:

Todos estos resultados en principio apoyan y ponen de manifiesto la utilidad, potencia y fiabilidad de los resultados obtenidos con las técnicas masivas y apuntan, además, a que *R. favelukesii* presenta 2 tipos de respuesta. Una global donde se observan grandes cambios en el metabolismo celular, incrementando la respiración y la biosíntesis celular; consecuencia en parte del deterioro celular por las altas concentraciones de H⁺. Sumado en paralelo a una respuesta para afrontar y contrarrestar el estrés ácido como el metabolismo de GABA, cambios en la envoltura celular, aumento de la concentración de histidina, entre otros.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

CONTROL INTEGRADO DE LA POLILLA DE LA VID CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

OLIVIERI, Gabriela¹ | DEYMIÉ TERZI, María Celina² | TORRENTE, Karina Andrea³ | CABALLERO, Juan José⁴ | HERRERA, María Eugenia⁵ | VAZQUEZ, Fabio⁴ | AGUILERA, Juan²

SENASA¹; IBT, FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ/CONICET²; IBT/DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA FACULTAD DE INGENIERÍA-UNSJ³; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ⁴; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA - EEA MENDOZA⁵

Introducción y Objetivos:

La polilla de la Vid *Lobesia botrana* es la plaga más importante en los cultivos vitícolas de todo el mundo. En la actualidad su control depende del uso de insecticidas químicos. Sin embargo, su uso desmedido ha conducido a la aparición de fracciones poblacionales resistentes a los insecticidas, y ha impactado sobre otros organismos benéficos. Esto pone de manifiesto la necesidad de implementar prácticas de control más amigables con el ambiente, en favor de la sostenibilidad de los agroecosistemas. Bajo estas circunstancias, se encuentra en auge el desarrollo de biocontroladores como parásitos, parasitoides, nemátodos, bacterias, y hongos entomopatógenos. Respecto a estos últimos, los hongos entomopatógenos son considerados importantes agentes naturales de control que limitan las poblaciones de insectos. Por esta razón constituyen una herramienta potencial para ser utilizados en un manejo integrado de plagas en conjunto con dosis reducidas de pesticidas.

Materiales y Métodos:

Para llevar a cabo estos ensayos, se utilizaron 20 larvas con seis repeticiones por cada tratamiento. Las larvas fueron infectadas individualmente con 2 μ L de una formulado correspondiente a distintos tratamientos. Estos fueron: 1-Spinosad 48% en dosis de 0.15 μ L/mL), 2- CEP591 en dosis de 1x10⁸ c/mL, 3-Spinosad 48% en dosis de 0.075 μ L/mL + CEP591 en dosis de 1x10⁴ c/mL y 4-agua destilada como control. Las larvas tratadas se llevaron a campo y se colocaron sobre racimos de vid los cuales se cubrieron con mallas antiáfidos que se fijaron cuidadosamente al raquis de cada racimo. De esta manera se mantuvo un sistema cerrado de conteo efectivo pero sin alterar las condiciones de temperatura, humedad o intensidad lumínica. Para asegurar la independencia de los tratamientos, éstos se separaron espacialmente por al menos 20 metros. Las plantas seleccionadas para los tratamientos fueron elegidas al azar. Ningún producto químico fue aplicado mientras los tratamientos estuvieron en proceso. A las 96 horas los racimos cerrados junto con las larvas fueron transportados al laboratorio para el conteo de cadáveres.

Resultados:

Los resultados obtenidos señalan que el análisis de la varianza no detectó diferencias significativas entre la mortalidad obtenida en los tratamientos donde se utilizó el insecticida en su dosis recomendada (98,33 %), el insecticida combinado con la CEP591 en dosis reducida a la mitad (100 %) y el tratamiento con la cepa CEP591 (92,41 %). Además estos 3 tratamientos se diferenciaron del tratamiento control (0%) (H= 15,54; p=0,0005).

Conclusiones:

Se puede concluir que la cepa (CEP591) de *Metarhizium* sp. nativa de San Juan, puede resultar efectiva para controlar a *L. botrana* en condiciones de campo, permitiendo reducir el uso de insecticidas.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

[Volver al índice de resúmenes](#)

IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA FÚNGICA DEL GÉNERO PENICILLIUM NATIVA DE LA PROVINCIA DE MISIONES PRODUCTORA DE ACTIVIDAD LIPASA.

ORTELLADO, Laura Ester | LISOWIEC, Leandro Antonio | FONSECA, Maria Isabel | ZAPATA, Pedro Darío

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES – UNIVERSIDAD NACIONAL

Introducción y Objetivos:

Los daños que ocasionan los lípidos y carbohidratos generados por la industria alimentaria al medio ambiente son ampliamente conocidos. Las lipasas son enzimas capaces de modificar los aceites a través de la reacción de hidrólisis; rompiendo el enlace éster del triglicérido en presencia de agua produciendo glicerol y ácidos grasos. La aplicación de enzimas puede llegar a resolver los problemas en los procesos de tratamiento biológico de aguas residuales con un alto contenido de grasa y sólidos en suspensión. Los hongos presentan una amplia capacidad degradativa produciendo lipasas como parte de su metabolismo. Estudios previos de este grupo de trabajo han logrado evidenciar que la cepa LBM081 presenta un gran potencial lipolítico por lo cual su identificación a nivel específico se vuelve crucial, en vistas a potenciales aplicaciones en biotecnología. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue identificar la cepa fúngica del género *Penicillium* LBM081 nativa de la Provincia de Misiones empleando diferentes marcadores moleculares para ello.

Materiales y Métodos:

La cepa que se utilizó de *Penicillium* sp. está disponible en el cepario del Laboratorio de Biotecnología Molecular (Instituto de Biotecnología Misiones). Para la identificación de la cepa seleccionada, se realizó una extracción de ADN a partir de micelio obtenido de cultivos de 7 días en medio líquido YES (Extracto de levadura 5 g/L; Glucosa 30 g/L) utilizando el protocolo propuesto por Fonseca et al (2013). La calidad del ADN se verificó mediante la visualización en geles de agarosa 1 % (p/v) teñidos con gel red. Para la identificación de la cepa se utilizaron los cebadores ITS1-ITS4, Bt2a-Bt2b y RPB2-5-RPB2-7R. Se realizó una PCR a partir de 60ng de ADN como molde. Una reacción sin el agregado de ADN se utilizó como control negativo. Los productos de las PCR se corrieron en un gel de agarosa 2% y se tiñó con gel red. Los productos se secuenciaron y se emplearon para realizar una búsqueda de secuencias homólogas del reino Fungi mediante el programa BLASTN. Se recuperaron las primeras 100 secuencias de especies tipo relacionadas y de ese conjunto de secuencias se eliminaron las secuencias redundantes. Para realizar el alineamiento

se tomaron las primeras 43 secuencias y se llevó a cabo el alineamiento con el programa MUSCLE.

Resultados:

El dendrograma concatenado se llevó a cabo mediante el programa MEGA 6.0 a partir de secuencias de ITS; BenA y RPB-2 utilizando el método de NEIGHBOR JOINING (NJ) con un bootstrap de 1000 repeticiones. Se corroboró la pertenencia al género *Penicillium* de los aislamientos LBM081 al observar a nivel macro y microscópico la presencia de conidios, metúlas y fiálides. Las estructuras observadas micro y macroscópicas fueron las estructuras típicas del género *Penicillium*. Del análisis bioinformático de las secuencias obtenidas y la construcción de un árbol concatenado se obtuvo que el aislamiento LBM 081 se agrupó en un clado con *P. rubens* con un 96% de identidad.

Conclusiones:

Los resultados indican que el aislamiento LBM 081 se corresponde con *P. rubens*

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO DE AISLADOS CLÍNICOS MULTIRRESISTENTES A ANTIBIÓTICOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y CITOTOXICIDAD DE CONSTITUYENTES DEL FRUTO DE PERSEA AMERICANA (PALTA)

OSPINA MATEUS, Laura¹ | CÁCERES GUIDO, Paulo² | WILMAN, Delgado³ | NELSON, Hurtado⁴ | LUIS, Franco⁵ | CATALINA, Van Baren⁶ | MORENO, Silvia

GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA SUSTANCIAS PROMISORIAS, FAC. CS FARMACÉUTICAS, UNIV. DE CARTAGENA 1; GRUPO DE MEDICINA INTEGRADORA, HOSPITAL DE PEDIATRÍA GARRAHAN. 2; LAB DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES VEGETALES, DTO DE QUÍMICA, UNIV NACIONAL DE COLOMBIA 3; GRUPO DE INV EN PRODUCTOS DE IMPORTANCIA BIOLÓGICA, DTO DE QUÍMICA – UNIV DENARIÑO 4; GRUPO EVALUACIÓN BIOLÓGICA SUSTANCIAS PROMISORIAS, FAC. CS FARMACÉUTICAS, UNIV. DE CARTAGENA 5; CÁTEDRA DE FARMACOGNOSIA-IQUIMEFA (UBA-CONICET), FFYB, UBA 6; CEBBADCONICET, LAB FARMACOLOGÍA DE BIOACTIVOS VEGETALES, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES

Introducción y Objetivos:

El control de infecciones estafilococcales multirresistentes es un gran desafío en el ámbito de la salud. Se ha descrito que el fruto de palta (*Persea americana* Mill), además de su valor nutricional, presenta propiedades analgésicas, anti-inflamatorias y es utilizado en la medicina tradicional en enfermedades infecciosas, aunque se conoce poco sobre sus bioactivos particulares y menos sobre su eficacia contra bacterias multirresistentes a antibióticos. En la búsqueda de nuevos compuestos antimicrobianos eficaces evaluamos extractos acetónicos y acuosos obtenidos del

epicarpio y semilla de palta, así como avocatin (mezcla de avocadeno y avocadino obtenido de la pulpa) frente a tres aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* multirresistentes a antibióticos (oxacilina, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina, cefoxitina, gentamicina y levofloxacina).

Materiales y Métodos:

La actividad antimicrobiana se determinó mediante el ensayo de microdilución en placa y se determinó la concentración inhibitoria mínima. Los frutos de *P. americana* fueron colectados en los departamentos de Bolívar y Nariño, Colombia. Además, el efecto citotóxico se probó sobre diversas líneas celulares de cáncer humano mediante el método de reducción metabólica del MTT y se determinó su concentración letal 50 (CL50), y su citotoxicidad, clasificándose esta última según sea: activos (CL50 < 20 µg/mL), moderadamente activos (20 < CL50 < 100 µg/mL) y altamente activos (CL50 > 100 µg/mL).

Resultados:

Los resultados muestran que los extractos acetónicos de epicarpio y semilla inhibieron significativamente el crecimiento bacteriano de todos los aislados clínicos testeados (concentración mínima inhibitoria 50, CMI50 de 110-310 y 250-280 µg/mL, respectivamente) en comparación con el grupo no tratado ($P < 0.05$, análisis de varianza de una vía ANOVA, seguido de la prueba de Tukey). Por su parte, Avocatin mostró mayor eficacia inhibitoria con CMI50 de 89-205 µg/mL. En cuanto al efecto citotóxico, los extractos no mostraron actividad frente a las líneas celulares de cáncer colorectal HT-29 y cáncer pulmonar H292, mientras que el avocatin afectó en forma moderada la viabilidad de ambas líneas celulares con CL50 de 34 y 60 µg/mL, respectivamente. Frente a la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231 el extracto acetónico de semilla y avocatin mostraron efecto moderado con CL50 de 42 y 44 µg/mL, respectivamente.

Conclusiones:

En resumen, los extractos evaluados y el avocatin presentaron eficacia antibacteriana contra cepas multirresistentes de *S. aureus*, esta propiedad asociada a la actividad citotóxica mostrada frente a las líneas de cáncer humano, podrían ser de utilidad para enriquecer el arsenal terapéutico disponible contra patologías que actualmente cuentan con escasos recursos para su tratamiento. Por lo tanto, dichos metabolitos secundarios vegetales son promisorios para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas en el campo de la infectología y la oncología.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

VARIABILIDAD EN EL GENOMA ACCESORIO DE ACINETOBACTER BAUMANNII: IMPACTO EN LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y VIRULENCIA EN CEPAS CLÍNICAS FILOGENÉTICAMENTE RELACIONADAS

PAGANINI, Julian¹ | CAMERANESI, María Marcela² | LIMANSKY, Adriana² | VIALE, Alejandro Miguel² | REPIZO, Guillermo Daniel²

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO 1; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

Acinetobacter baumannii (Aba) multi-resistente (MR) a antimicrobianos es un microorganismo de prioridad crítica dada la creciente incidencia de un número limitado de complejos clonales (CC) MR en infecciones nosocomiales. Las metodologías últimas de secuenciación han permitido el análisis comparativo de genomas de aislamientos bacterianos relacionados permitiendo identificar sus relaciones filogenéticas y cambios adaptativos. Nosotros comparamos aquí los genomas de 3 cepas clínicas MR locales de Aba epidemiológicamente relacionadas con énfasis en su genoma accesorio a fin de dilucidar cambios genéticos involucrados en la adaptación al ambiente hospitalario.

Materiales y Métodos:

Los genomas de las cepas Ab244 (sensible a carbapenemes, carbS), y Ab242 y Ab825 (resistentes a carbapenemes, carbR) fueron secuenciadas mediante pirosecuenciación 454 e Illumina. Los cromosomas respectivos fueron ordenados según la cepa Aba ATCC17978 empleando Mauve, y la anotación se realizó empleando Rast. Las cepas fueron asignadas a secuenciotipos (ST) según PubMLST. Elementos genéticos móviles (EGM) como plásmidos, islas genómicas (IG) y secuencias de inserción (IS) fueron detectados utilizando IslandViewer/ISFinder; y factores de virulencia mediante la Virulence Factor DataBase. La virulencia se evaluó usando el modelo del insecto *Galleria mellonella*.

Resultados:

Las 3 cepas fueron asignadas al CC15 (Pasteur) o CC104 (Oxford). El análisis comparativo de sus genomas completos reveló elevada sintonía, pero se detectaron diferencias en el genoma accesorio incluyendo plásmidos portadores de bla_{OXA-58} en Ab242 y Ab825 (carbR) ausentes en Ab244 (CarbS), y una IG de 40 kpb conteniendo genes de resistencia a metales pesados solo en Ab244. Asimismo se identificaron 43 IS en Ab825, 12 en Ab242 y 9 en Ab244. En Ab825, ISAba125 fue la más frecuente con 13 copias. Dos nuevas IS pertenecientes a las familias IS256 e ISL3 fueron identificadas en las 3 cepas siendo designadas ISAba42 e ISAba43, respectivamente. In silico, identificamos genes de virulencia y persistencia en todas estas cepas, si bien Ab825 mostró una mayor capacidad infectiva en *G. mellonella* respecto a las otras. Ab825 mostró asimismo diversos genes interrumpidos por IS codificantes para proteínas de superficie celular, sugiriendo una explicación para su mayor virulencia.

Conclusiones:

Proponemos aquí que una ampliación en el genoma accesorio, en particular la adquisición de IS y plásmidos, contribuyen tanto a una estrategia de ocultamiento del patógeno por la eliminación de moléculas antigénicas de superficie como a una incrementada resistencia antimicrobiana. Ello facilita una mayor persistencia y adaptabilidad a un ambiente hospitalario fluctuante.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

MITIGACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO DE SCENEDESMUS OBLIQUUS POR PARTE DE AZOSPIRILLUM BRASLENSE

PAGNUSSAT, Luciana Anabella 1 | MARONICHE, Guillermo1 | FERNÁNDEZ, Macarena1 | CURATTI, Leonardo2 | CREUS, Cecilia1

CONICET / FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNMDP) 1; INBIOTEC, MAR DEL PLATA, ARGENTINA 2

Introducción y Objetivos:

La utilización de microalgas para la producción de biodiesel, constituye una alternativa sustentable a la utilización de combustibles fósiles, que demanda investigación y desarrollo de tecnologías para su perfeccionamiento. Se ha comprobado que en situaciones de estrés de nutrientes, las microalgas generan gran cantidad de triacilglicéridos (TAGs) que se acumulan en nuevos cuerpos lipídicos. El desafío actual es generar condiciones de crecimiento que permitan la obtención de niveles de biomasa más elevados en condiciones de sustentabilidad económica y ambiental. Las rizobacterias del género *Azospirillum* spp. son promotoras del crecimiento vegetal que presentan una elevada producción de auxinas, principalmente a través de la enzima indol-3-piruvato decarboxilasa (codificada por el gen *ipdC*). El Objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la coinoculación de la microalga *Senedesmus obliquus* con *A. brasilense* sobre el estatus oxidativo de la microalga en condiciones de deficiencia de nitrógeno.

Materiales y Métodos:

Microalgas (*S. obliquus* C1S) fueron cocultivadas con cepas de *A. brasilense* salvaje, mutante en el gen *ipdC* (AIAd) y con una cepa que contiene un plásmido que restituye su capacidad para producir auxinas (cepa AIAd*ipdC*) durante 3 y 8 días. Posteriormente se cuantificaron especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares en las microalgas mediante incubación con el marcador fluorescente de ROS H2DCFDA (Thermo) y cuantificación mediante lector de fluorescencia Floroskan (Ex: 485 nm Em: 525 nm).

Resultados:

Cuando las microalgas fueron coinoculadas con las cepas de *A. brasilense* salvaje y AIAd*ipdC* pudo observarse un menor contenido de ROS que en el tratamiento control. Por otra parte, el contenido de ROS en las microalgas coinoculadas con la cepa de *A. brasilense* AIAd fue similar al tratamiento control.

Conclusiones:

La coinoculación de *S. obliquus* C1S con la bacteria *A. brasilense* mejora el estatus oxidativo de la microalga. Dicho efecto sería dependiente de la capacidad de la bacteria para producir auxinas. Avanzar en el conocimiento de los mecanismos subyacentes a esta respuesta tendrá importantes implicancias en el cultivo extensivo de microalgas.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

ESTRATEGIA DE ENSEÑANZA DE MICROBIOLOGIA EN UN PROFESORADO EN QUÍMICA

PASTOR, Maria Alejandra | VARELA, Patricia

Introducción y Objetivos:

La cultura de la enseñanza y del aprendizaje, obliga al docente a realizar profundas transformaciones en el campo de los objetivos, contenidos, métodos, modos de evaluación y recursos tecnológicos empleados. Todo esto condiciona un proceso dentro del cual, tanto la enseñanza como el aprendizaje como subsistemas, se basan en una educación desarrolladora, que implica una comunicación y actividades intencionales, cuyo accionar didáctico genera estrategias de aprendizajes para el desarrollo de una personalidad integral y autodeterminada del educando, en los marcos de la universidad como institución social transmisora de la cultura. La Asignatura Microbiología General forma parte del plan de estudio del Profesorado en Química (UNSJ); se encuadra en el segundo semestre de 4° y último año de la carrera. Considerando que es una ciencia de gran interés y actualidad, y la importancia que tiene para los futuros docentes, nos propusimos competencias tales como estimular el deseo de aprender; incentivar en los alumnos el deseo de investigar, etc. Se usó recursos didácticos entre los cuales estuvo el desarrollo de un trabajo monográfico para el logro de las competencias propuestas, además de las específicas para la experiencia, tales como: aprender la estructuración de un trabajo científico, aprender a ordenar y priorizar contenidos en una exposición, favorecer la transversalidad de cátedras relacionadas, comprensión lectora y producción de textos, resolución de problemas, análisis crítico, mejora en la comunicación oral y escrita y capacidad de innovar. El presente trabajo se llevó a cabo durante los ciclos lectivos 2016 a 2018 inclusive.

Materiales y Métodos:

Cada alumno trabajó individualmente, con los docentes como guía y con la aplicación de la siguiente metodología: 1-Selección del tema. 2-Investigación bibliográfica; 3-Elaboración del trabajo; 4-Presentación; 5- Evaluación de la experiencia (mediante encuesta de 31 preguntas con valoración numérica, donde 4 es completamente satisfecho y 0 completamente insatisfecho).

Resultados:

Resultados:

82.85% de respuestas con valoración 4; 14.85% con 3; 1.25% con 2; 0.38% con 1 y con 0.

Conclusiones:

Con los valores obtenidos en esta evaluación se evidencia tanto el logro de las competencias y objetivos propuestos, como una amplia conformidad con lo logrado individualmente y como grupo, demostrando la efectividad de la experiencia en la profundización de cada tema en particular, de la asignatura en general y un alto grado de motivación, siendo esto último una estrategia de aprendizaje en sí misma, contribuyendo todo esto a la formación integral del futuro docente

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

EFECTO DEL METABISULFITO DE SODIO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LEVADURAS BIOCONTROLADORAS Y *PENICILLIUM EXPANSUM*, PATOGENO DE UVA DE MESA EN POSTCOSECHA

PEDROZO, Paula 1 | RODRIGUEZ, Leticia² | FLORES, Cintia Belen¹ | PESCE, Virginia¹ | LENCINA, Marcos³ | NALLY, Cristina¹ | VAZQUEZ, Fabio⁴

IBT-FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ/CONICET 1; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES - UNSJ 2; IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ 3; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA - FACULTAD DE INGENIERÍA - UNSJ 4

Introducción y Objetivos:

San Juan es el primer productor y exportador de uva en fresco del país, fruto que en condiciones de cámara frigorífica es sensible al ataque de *P. expansum*. El método comúnmente empleado para controlar a este hongo fitopatógeno es a través de generadores de SO₂, cuyo ingrediente activo es el metabisulfito de sodio (Na₂S₂O₅). El control biológico usando levaduras antagonistas resulta promisorio para reducir el uso de fungicidas químicos. Sin embargo, su aplicación puede ser insuficiente para controlar satisfactoriamente enfermedades fúngicas. Una propuesta es la integración de antagonistas y fungicidas sintéticos, con el fin de disminuir las dosis de químicos e incrementar la aceptación a nivel comercial, permitiendo así su uso en un marco de manejo integrado de enfermedades fúngicas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia de levaduras biosupresoras y hongos fitopatógenos al Na₂S₂O₅ en condiciones de postcosecha.

Materiales y Métodos:

Se emplearon 20 aislamientos de levaduras biosupresoras pertenecientes a las especies *Aeurobasidiuim pullulans* (Ap13, 77, 88), *Cryptococcus magnus* (Cm15, 23, 85), *Metschnikowia pulecherrima* (Mp8, 11, 16, 22, 36, 43, 45, 46, 47, 53), *Rhodotorula glutinis* (Rg4, 14, 19, 56); y 4 hongos fitopatógenos de la especie *P. expansum* (PSS4, PSS6, PM3RG, PRG2). Las levaduras y los hongos se sembraron individualmente en YEPD-Agar y PDA, respectivamente. Cada medio se suplementó con diferentes concentraciones de Na₂S₂O₅: 0 (tratamiento control), 2.5, 5, 7.5, 10 y 12.5 mM. Las placas se incubaron a 2 ± 1 °C durante 4 semanas. Luego, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para todos los microorganismos y, la concentración que reduce 50% el crecimiento (EC50) para los fitopatógenos. La EC50 se calculó con análisis Probit. Los ensayos se realizaron por triplicado y se repitieron dos veces.

Resultados:

La actividad antifúngica de Na₂S₂O₅ mostró efectos variables sobre el crecimiento de los 4 fitopatógenos. La inhibición completa de crecimiento de PSS4 y PRG2 se alcanzó a la concentración de 10 mM, mientras que la CMI de los aislamientos PSS6 y PM3RG fueron a 5 y 7.5 mM, respectivamente. Las EC50 mostraron diferencias significativas entre los patógenos, siendo PSS6 el aislamiento más sensible y PM3RG el patógeno más resistente a la sal inorgánica. Los aislamientos restantes no mostraron diferencias significativas para estos valores. Respecto a las CMI de las levaduras, 12 de ellas presentaron resistencia a diferentes concentraciones de Na₂S₂O₅. Los aislamientos Mp8, 11, 22 y 43 fueron inhibidos por completo a 12.5 mM. El aislamiento Cm16 fue el único que mostró resistencia a todas las concentraciones probadas. Todos los aislamientos de *R. glutinis* fueron sensibles a la sal inorgánica.

Conclusiones:

De acuerdo a los resultados obtenidos se podría implementar la aplicación combinada de la levadura Cm16 con Na₂S₂O₅, para controlar a *P. expansum* en condiciones de postcosecha.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

EFFECTO DE DOSIS SUBLETALES DE RADIACIÓN UVA EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA

PEZZONI, Magdalena 1 | DE TROCH, Marleen2 | PIZARRO, Ramon A1 | COSTA, Cristina S1

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA - CENTRO ATÓMICO CONSTITUYENTES 1; UNIVERSIDAD DE GANTE (GHENT UNIVERSITY, BELGICA) 2

Introducción y Objetivos:

La radiación ultravioleta A (UVA; 315-400 nm) es un importante factor de estrés ambiental que las bacterias deben enfrentar en la naturaleza. Cuando las mismas son expuestas a este tipo de radiación en presencia de oxígeno, se generan especies reactivas (ROS) capaces de generar daño a macromoléculas. *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno oportunista de humanos que también puede ser encontrado en múltiples ambientes, es muy utilizado como modelo de estudio por su versatilidad y capacidad de adaptación a diversos factores de estrés. La membrana de las bacterias juega un rol fundamental en la sobrevivencia de las mismas creando una barrera entre las células y el medioambiente. Estudios previos han reportado que los ROS son capaces de modificar la composición de los ácidos grasos de las membranas bacterianas, afectando así sus propiedades biofísicas (fluidez, flexibilidad) y, consecuentemente, la eficiencia de las funciones dependientes de las mismas. Con el propósito de analizar posibles adaptaciones a la radiación, se analizó el efecto de dosis subletales de UVA en la composición de los ácidos grasos de membrana en *Pseudomonas aeruginosa*.

Materiales y Métodos:

Se obtuvieron cultivos de la cepa PAO1 crecidos bajo dosis subletales de UVA o en oscuridad (control). En diferentes etapas de cultivo (DO650 0.1, DO650 0.3 y a las 24 h) se tomaron alícuotas que, previa liofilización, se sometieron a un proceso de extracción lipídica y posterior análisis de ácidos grasos. Este procedimiento fue realizado por el Grupo de Investigación de Biología Marina de la Universidad de Gante (Ghent University, Bélgica)

Resultados:

El perfil de ácidos grasos obtenido a partir de células crecidas bajo UVA hasta fase logarítmica temprana (DO650 0.1) no presentó cambios respecto del control: 49 % corresponde a ácidos grasos insaturados y 41 % a ácidos grasos saturados. En extractos de células crecidas bajo UVA hasta fase logarítmica más avanzada (DO650 0.3), se observó un incremento significativo de los ácidos grasos insaturados (53%) respecto del control (49%) ($p < 0.01$). A su vez el tratamiento produjo una disminución de los ácidos grasos saturados (40%) comparando con el control (42,5 %) ($p < 0.01$). Por el contrario, cuando las células fueron expuestas a la radiación UVA durante 24 h no se observaron cambios significativos respecto de los controles en cuanto a los porcentaje de ácidos grasos saturados (44 % UVA, 43% control) e insaturados (46% UVA, 48% control).

Conclusiones:

-El crecimiento a bajas dosis de UVA es capaz de modificar el perfil de los ácidos grasos de la membrana de *Pseudomonas aeruginosa*. -La exposición a bajas dosis de UVA incrementa el porcentaje de ácidos grasos insaturados durante la fase logarítmica de crecimiento. -Dado que altas dosis de radiación generan daño a membrana (aumento de rigidez y permeabilidad), un incremento del porcentaje de ácidos grasos insaturados por exposición a dosis subletales sería ventajoso por su capacidad de otorgar mayor fluidez a la misma.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

INDUCCIÓN DE FORMACIÓN DE BIOFLM EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA POR RADIACIÓN UVA: ROL DE QUÓRUM SENSING Y RESPUESTA ESTRICTA

PEZZONI, Magdalena | PIZARRO, Ramon A. | COSTA, Cristina S

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA - CENTRO ATÓMICO CONSTITUYENTES

Introducción y Objetivos:

Los biofilms son comunidades de microorganismos que crecen adheridas a superficies. La formación de biofilm está regulada genéticamente, por ejemplo, por el sistema de quorum sensing (QS); además, ciertos factores externos pueden inducir la formación del mismo. Recientemente se describió que la radiación ultravioleta A (UVA) induce la formación de biofilm en *Pseudomonas aeruginosa*. En este trabajo se analizó la hipótesis de que la inducción de formación de biofilm por UVA obedezca a una activación del sistema de QS.

Materiales y Métodos:

Las cepas empleadas fueron el tipo silvestre PAO1, mutantes de los principales sistemas de QS (SI: Las, SII: Rhl) y una mutante relA, deficiente en la síntesis de ppGpp (principal efector del sistema de regulación genética Respuesta estricta). Las cepas descritas se hicieron crecer bajo dosis subletales de UVA o en oscuridad (control) en vasos de precipitado donde se colocaron cupones de vidrio a fin de permitir la formación de biofilms. Se retiraron cupones en diferentes etapas del crecimiento del cultivo (DO650 0.1, DO650 0.3 y a las 24 h) a fin de cuantificar los biofilms formados. En el caso de las cepas PAO1 y relA se tomaron además muestras de cultivo planctónico para extracción de RNA para ensayos de RT-PCR de los genes de QS que codifican para autoinductores (lasI y rhII) y reguladores (lasR y rhIR) y para extracción de autoinductores (cuantificados mediante sistemas reporteros específicos).

Resultados:

La exposición a dosis subletales de UVA indujo la formación de biofilm en la cepa PAO1, no así en las mutantes de QS. Se observó que extractos de PAO1 crecida hasta fase logarítmica bajo UVA activaron significativamente el SI de QS, comparado con el control en oscuridad. Similares resultados

se observaron en el caso del SII de QS, con la diferencia de que la activación sólo se observó con extractos de cultivos en fase estacionaria. Se observó que dosis subletales de UVA inducen significativamente la transcripción de los genes *lasR* y *lasI* en fase logarítmica temprana (DO650 0.1), *rhII* en fase logarítmica más avanzada (DO650 0.3), mientras que en la fase estacionaria se observó inducción de *lasR* y *rhIR*. No se observó activación de QS cuando se analizaron extractos obtenidos de la cepa *relA* crecida bajo UVA, tanto en fase logarítmica como estacionaria. De la misma manera no se registró inducción de la transcripción de ninguno de los genes de QS estudiados mediante RT-PCR en dicha cepa.

Conclusiones:

-La exposición a bajas dosis de UVA induce la formación del biofilm en *P. aeruginosa* en forma dependiente, al menos en parte, de QS. -La radiación UVA subletal es capaz de inducir la transcripción de los genes que codifican para la síntesis de autoinductores y reguladores de los principales sistemas de QS. -La inducción del sistema de QS por dosis subletales de UVA depende del gen *relA*, indicando que la activación de este sistema por la radiación ocurre vía Respuesta estricta.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA DE LA OXIDACIÓN DE MANGANESO Y LA FORMACIÓN DE BIOFILMS EN BACTERIAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO

PIAZZA, Ainelen | CIANCIO CASALINI, Lucila | SERRA, Diego Omar | OTTADO, Jorgelina | GOTTIG, Natalia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

Las biopelículas se conocen comúnmente como poblaciones de microorganismos unidos a una superficie dada, pueden formarse por una única o múltiples especies de organismos y constituye una estrategia de supervivencia. Las condiciones de crecimiento promueven cambios en las actividades enzimáticas microbianas que pueden alterar su organización estructural. En estudios previos, se observó que el desarrollo de biopelículas de *Pseudomonas veronii* 2E sobre vidrio en cultivos estáticos se perturba de acuerdo a cambios nutricionales y temperatura de incubación. Conocer cómo es la estructura de la biopelícula de *P. veronii* 2E es esencial para desarrollar y optimizar biorreactores para remediar efluentes contaminados con metales. El objetivo del presente trabajo es estudiar las características de células aisladas observadas en biopelículas desarrolladas por *P. veronii* 2E sobre vidrio bajo diferentes condiciones de cultivo mediante la adquisición de imágenes y

su procesamiento posterior con el programa ImageJ®.

Materiales y Métodos:

Se estudió la cinética de formación de biopelículas sobre cubreobjetos en microplacas de 6 cavidades con 3,0 ml de cada medio de cultivo base con diferentes fuentes de carbono. Se trabajó con dos medios de cultivos base, un medio mínimo salino y un medio complejo. Se extrajeron los cubreobjetos a 4 tiempos de muestreo (de 0 a 55 h), luego de teñir con violeta cristal, se observaron por microscopía de campo claro y se adquirieron las imágenes a cada tiempo y condición. Dichas imágenes se analizaron digitalmente con el programa ImageJ® para identificar células aisladas a partir del reconocimiento de partículas, seleccionando, en píxeles, las partículas de menor tamaño (entre 20 y 200). Sobre este conjunto inicial, se estudió la dispersión en los tamaños de las partículas y se acotó el rango al de mayor frecuencia. Se analizaron diferentes parámetros característicos (como el área promedio o la longitud y ancho promedios) al conjunto de partículas seleccionado.

Resultados:

El tamaño de las células aisladas (determinado por el área cubierta, el largo y ancho de cada célula) inmovilizadas en los cubreobjetos cambió conforme variaron las condiciones nutricionales. Se halló una diferencia del 50% mayor en el tamaño celular al comparar el crecimiento con medios complejos respecto del crecimiento con medios mínimos. Por otro lado, con los medios complejos y glucosa como fuente de carbono se halló una disminución del tamaño celular en función del tiempo, mientras que, con medios mínimos, el tamaño celular prácticamente no varió en función del tiempo.

Conclusiones:

La aplicación del ImageJ® permitió determinar que el tamaño y características de las células aisladas identificadas en biopelículas de *P. veronii* 2E está determinada por las condiciones nutricionales. Estos resultados refuerzan y complementan los obtenidos previamente en cuanto a la cobertura de la superficie por parte de la biopelícula.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA ERRADICACIÓN DE BIOFILMS DE CANDIDA TROPICALIS

QUINTEROS, Melisa 1 | GARCÍA MARTÍNEZ, Joaquín C.2 | PÁEZ, Paulina L.3 | PARAJE, María Gabriela1

CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA. 1; FACULTAD DE FARMACIA DE ALBACETE, UNIVERSIDAD DE CASTILLA 2; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Introducción y Objetivos:

La erradicación de biofilms resulta crucial en el estudio de las infecciones clínicas debido a que son

considerados una forma de crecimiento multiresistente. A diferencia de los antibióticos, existen muy pocos medicamentos disponibles para el tratamiento de infecciones fúngicas, la mayoría de los cuales son fungistáticos. Además, la aparición continua de infecciones causadas por cepas de *Candida* resistentes agravado por la formación de biofilms, alienta la búsqueda de nuevos agentes quimioterapéuticos. Un nuevo enfoque es el estudio de sistemas aromáticos simples, tales como los dendrímeros de primera generación, específicamente los llamados oligoestirilbencenos (OSBs). Además de sus propiedades ópticas, recientemente se han reportado como una nueva clase de agentes antibacterianos promisorios, efectivos contra diferentes cepas bacterianas. Por otro lado, en trabajos previos, se obtuvo que una serie de compuestos OSBs, demostraron actividad antifúngica contra células planctónicas de *C. tropicalis* NCPF 3111.

Materiales y Métodos:

La actividad antibiofilm se evaluó sobre un biofilm maduro de 48 h en placas multiwell por tinción con cristal violeta (CV) y posterior cuantificación por espectrofotometría UV-visible. Se sonicó y se determinaron las células sésiles viables por recuento en placa (unidades formadoras de colonias/ml), posterior a la exposición del biofilm a los diferentes tratamientos. El porcentaje de inhibición del crecimiento del biofilm se calculó con respecto al control sin tratamiento. La determinación de la actividad sinérgica, entre el OSB14 y AmB, se realizó mediante la técnica del tablero de ajedrez, calculando el índice fraccional de concentración inhibitoria (FICI). Se consideró sinergia cuando el valor de FICI obtenido fue menor a 0,5. Se evaluaron 3 concentraciones del compuesto OSB14, una subCIM (concentración 10 veces por debajo de la CIM), CIM y supraCIM (concentración 25 veces por encima de la CIM), las cuales fueron 0,16, 16 y 400 µg/ml, respectivamente. La combinación se realizó con 4 concentraciones de AmB, 2 supraCIM (100 y 200 µg/ml), CIM (0,250 µg/ml) y una subCIM (0,0250 µg/ml).

Resultados:

Los resultados obtenidos demostraron que el compuesto presentó actividad antibiofilm, con un porcentaje de erradicación del 60% a los valores correspondientes a la CIM (* $p < 0,05$). Además, se observó efecto sinérgico en combinación con AmB (a valores de CIM), llegando a un 90% de erradicación del biofilms de *C. tropicalis*(* $p < 0,05$).

Conclusiones:

El compuesto OSB14, solo y en combinación con AmB, podría ser una alternativa prometedora para el tratamiento de infecciones producidas por biofilms de *C. tropicalis*.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

ALTERACIONES EN LA ARQUITECTURA DEL BIOFILMS DE CANDIDA TROPICALIS: EFECTO DE UN NUEVO COMPUESTO CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

QUINTEROS, Melisa 1 | GARCÍA MARTÍNEZ, Joaquín C.2 | PÁEZ, Paulina L.3 | PARAJE, María Gabriela1

Introducción y Objetivos:

Se ha descrito que las infecciones por *Candida* asociadas a biofilms son clínicamente relevantes debido a la resistencia multifactorial y la tolerancia a los agentes antifúngicos. Previamente, nuestro grupo de investigación demostró que un nuevo compuesto, el oligoestirilbenceno 14 (OSB14), presentó actividad antibiofilm y efecto sinérgico asociado a anfotericina B (AmB), con una erradicación del hasta 90% sobre el biofilm de *Candida tropicalis*. El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios en la topografía y arquitectura de biofilms maduros de *C. tropicalis* producidos por la acción del compuesto OSB14 y de la asociación sinérgica con AmB.

Materiales y Métodos:

La estructura del biofilm se estudió mediante microscopía óptica (MO) por tinción con cristal violeta y por microscopía confocal de exploración láser (MCEL) utilizando calcofluor-white, como colorante. El análisis de las imágenes por MCEL fue realizado utilizando el software ImageJ. La caracterización de la arquitectura y morfología del biofilms se realizó mediante el análisis con el programa COMSTAT, que permitió evaluar y comparar distintos parámetros tales como biomasa, espesor, rugosidad, distancia de difusión y relación biomasa/biovolumen.

Resultados:

Por MO se observó que el biofilm formado por *C. tropicalis* NCPF 3111 presentaba blastosporas ovaladas, pseudohifas e hifas verdaderas. El análisis de las imágenes obtenidas de los biofilms tratados con el compuesto OSB14 solo y su combinación con AmB, tanto por MO como por MCEL, evidenció la reducción de la biomasa total de los biofilms, con respecto al control sin tratamiento. El análisis COMSTAT del biofilm tratado con el compuesto OSB14, arrojó una reducción de la biomasa del 90% con respecto al control y una reducción del 94% en la combinación sinérgica con AmB (* $p < 0,05$). Los parámetros de COMSTAT arrojaron que, tanto la combinación como el antifúngico usado como referencia (AmB), presentaron el menor valor de espesor del biofilm y de distancia de difusión. Además, el coeficiente de rugosidad del biofilm tratado con el compuesto OSB14 fue mayor al control y similar a la combinación con AmB.

Conclusiones:

La información obtenida resulta relevante para comprender las modificaciones en la arquitectura y en el microentorno de biofilms de *Candida* tratados con este nuevo agente antifúngico, permitiendo profundizar distintos aspectos de su mecanismo de acción.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

MUR, UN REGULADOR TRASCRIPCIONAL DE HOMEOSTASIS DE MANGANESO INHIBE LA EXPRESIÓN DE LA ADHESINA BTAE EN BRUCELLA ABORTUS RAMIS, Lila | SYCZ, Gabriela | BIALER, Magalí | ZORREGUIETA, Angeles | SIEIRA, Rodrigo FUNDACIÓN INSTITUTO LELOIR

RAMIS, Lila | SYCZ, Gabriela | BIALER, Magalí | ZORREGUIETA, Angeles | SIEIRA, Rodrigo
FUNDACIÓN INSTITUTO LELOIR

Introducción y Objetivos:

Brucella es el agente causal de la brucelosis, una enfermedad zoonótica que afecta a una amplia variedad de mamíferos. La adhesión inicial de este patógeno intracelular a las células del hospedador constituye un paso crítico en la infección, siendo el autotransportador trimérico BtaE una de las adhesinas relevantes para su virulencia. Análisis previos realizados por nuestro grupo demostraron que VjbR, un regulador transcripcional de tipo LuxR esencial para la patogénesis de Brucella, se une a un gran número de promotores y regula la expresión de distintos factores de virulencia incluyendo al gen btaE. Por medio de análisis bioinformáticos, recientemente identificamos una secuencia altamente conservada adyacente al motivo de unión de VjbR en numerosos promotores. Dicha secuencia presenta similitud con sitios de unión para factores de transcripción de la familia Fur (ferric uptake regulator). El objetivo principal del presente trabajo consistió en analizar la posible funcionalidad de dicha secuencia y su influencia en la expresión de BtaE.

Materiales y Métodos:

Se analizó la actividad promotora de btaE mediante ensayos de "beta"-galactosidasa con fusiones transcripcionales a lacZ. Para estudiar la expresión de la adhesina se realizó Western blot contra la proteína BtaE etiquetada con 3xflag, bajo condiciones que imitan el ambiente intracelular que Brucella encuentra en células fagocíticas del hospedador. Para identificar posibles reguladores de la familia FUR involucrados en la regulación de btaE, se analizó la actividad promotora en cepas mutantes para distintos reguladores de homeostasis de metales (irr, rirA y mur) en presencia o ausencia de distintos metales.

Resultados:

Se observó que la expresión de la adhesina se encuentra regulada en forma negativa y selectiva por manganeso y hierro, tanto transcripcionalmente como a nivel proteína. Al realizar los ensayos de "beta"-galactosidasa con las diferentes mutantes se observó ausencia del efecto del hierro sobre la expresión de btaE en la mutante mur.

Conclusiones:

Parte de la respuesta del hospedador frente al ingreso de un patógeno involucra un proceso llamado inmunidad nutricional, que consiste en secuestrar metales esenciales y disminuir su disponibilidad para el microorganismo invasor. Nuestros resultados demuestran que la expresión de la adhesina trimérica btaE se encuentra regulada de modo metal dependiente a través del factor transcripcional Mur en condiciones que imitan el ambiente intracelular de Brucella, donde los nutrientes son escasos y el pH es ácido. Al igual que lo observado en otros géneros bacterianos, el factor Mur de Brucella es capaz de responder tanto a Fe como a Mn. Estos resultados constituyen una evidencia a favor de que Brucella es capaz de responder a situaciones de estrés por ausencia o de toxicidad por exceso de metales específicos en el interior del hospedador mediante cambios en la expresión de adhesinas de superficie

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR TRICHOMONAS VAGINALIS EN MUJERES EMBARAZADAS ATENDIDAS EN UN HOSPITAL PÚBLICO DEL CONURBANO BONAERENSE

RAMPULLA, Santiago Sebastian | IRURTIA, Maria Cecilia | MAGDALENO, Maria Alejandra | CASANOVA, Norma | LEONINO, Patricia | PEREYRA, Adriana | MONTENEGRO, Graciela

HOSPITAL

Introducción y Objetivos:

La tricomoniasis es una infección de transmisión sexual (ITS) tratable causada por el parásito *Trichomonas vaginalis*. Representa la ITS no viral más frecuente (OMS 2019) cuya prevalencia está infraestimada por la falta de utilización de métodos sensibles como el cultivo o los métodos moleculares. Los signos clínicos son flujo verdoso, maloliente, irritación vulvar y la colpitis macularis (patognomónico). Los síntomas pueden ser disuria, picazón y/o dolor abdominal. Particularmente en las embarazadas, se las asocia a complicaciones obstétricas como la ruptura prematura de membrana, parto pretérmino y bajo peso para la edad gestacional. En el laboratorio se realiza examen en fresco y tinción de Giemsa para visualizar los trofozoitos; esta técnica es de bajo costo y rápida pero requiere de una observación dentro de las 3 hs de obtenida la muestra y su sensibilidad es baja. Por otra parte, el cultivo requiere de trofozoitos viables, es laborioso y puede demorar una semana para obtener resultados. El objetivo del trabajo es conocer la prevalencia de *Trichomonas vaginalis* en mujeres embarazadas y evaluar una técnica molecular respecto a la microscopía.

Materiales y Métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y transversal. Se trabajó con muestras endo y exocervicales provenientes de mujeres embarazadas HIV negativas que concurren a controles obstétricos durante los años 2015 y 2016. Se registró la edad, presencia de síntomas y semanas de embarazo. Se realizó observación en fresco y coloración de Giemsa para la observación del parásito y de la reacción inflamatoria. Se extrajo el ADN de las muestras mediante un kit comercial automatizado de Abbott y luego se hizo una PCR convencional utilizando los cebadores TVC11 y TVC12 (Muresu 1991). Aquellas muestras positivas fueron confirmadas en una nueva largada utilizando los mismos cebadores.

Resultados:

Se estudiaron 207 muestras, edad promedio de 25,8 años (rango 14-41) y 22,5 semanas de embarazo (rango 8-38 sem). La prevalencia obtenida por PCR fue 8,2% (17/207) versus 3,4% con el examen en fresco (7/207). La prevalencia en el grupo de asintomáticas fue de 6,6% (9/136) y en el grupo de sintomáticas de 11,3% (8/71). De las 17 muestras positivas sólo 8 (47%) presentaron reacción inflamatoria. No se halló ninguna muestra con fresco positivo y PCR negativa. No se halló ninguna muestra con fresco positivo y PCR negativa. 5 pacientes presentaron coinfecciones: 1/17 con *Chlamydia trachomatis*, 1/17 con *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma genitalium*, 1/17 con

Neisseria gonorrhoea, 2/17 presentaban condilomas. Ninguna de ellas refirió tener síntomas.

Conclusiones:

La incorporación de la PCR en la búsqueda de Trichomonas vaginalis aumenta 2.4 veces la cantidad de muestras positivas respecto a la observación en fresco. Considerando las complicaciones obstétricas que este microorganismo podría causar y el alto porcentaje de mujeres asintomáticas y sin reacción inflamatoria, sugerimos un screening a la población de embarazadas en nuestro hospital

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

PROPÁGULOS INFECTIVOS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN PARCHES E INTERPARCHES DE UN ECOSISTEMA ÁRIDO DEL MONTE AUSTRAL

RE, Micaela | ÁLVAREZ, Anahí Soledad

FACULTAD DE CIENCIAS DEL AMBIENTE Y LA SALUD. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

Introducción y Objetivos:

Los ecosistemas áridos se caracterizan por la distribución de la vegetación en mosaicos espaciales, con montículos de vegetación (parches) separados por suelo desnudo (interparches). Por su actividad biológica, los parches representan un componente estructural y funcional clave, en donde los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) cumplen un rol fundamental promoviendo el desarrollo vegetal en condiciones de déficit hídrico y escasez de nutrientes. Los propágulos de HMA (esporas, raíces colonizadas y redes de hifas) se activan mediante diversos factores ecológicos, para iniciar la simbiosis micorrícica. La desertificación de ecosistemas áridos deteriora la cobertura vegetal y la calidad biológica del suelo. El objetivo de este trabajo fue determinar la carga de propágulos infectivos de HMA en suelo de parches e interparches del "Parque Universitario Provincia del Monte", un ecosistema árido degradado del Monte Austral (Neuquén).

Materiales y Métodos:

Se realizaron 5 transectas de 50 metros, tomando muestras de suelo de parches e interparches (n=50). Se analizó la textura y la concentración de fósforo extractable. El recuento de propágulos se realizó a través de la técnica Número Más Probable (NMP), en la que se diluyó suelo de cada muestra en una proporción 1:10 con suelo previamente esterilizado proveniente de la misma muestra, en una serie de seis diluciones, por triplicado, sembrando una planta hospedadora (Medicago sativa) por dilución y réplica, cultivándose durante 6 semanas. La presencia (+) o ausencia (-) de micorrizas en cada planta se realizó por observación al microscopio óptico de raíces teñidas con azul de tripán, calculando la probabilidad de presencia de propágulos según las tablas probabilísticas del NMP. El análisis estadístico consistió en una prueba T ($p < 0,05$), utilizando Infostat.

Resultados:

Los resultados evidenciaron que los suelos presentaron textura arenosa, con una carga de propágulos infectivos de HMA mayor en parches que en interparches (8,28 10² y 1,8 10² NMP/gr de suelo, respectivamente) con diferencias significativas ($p=0,045$), presentando el mismo comportamiento en la concentración de fósforo extractable (12,13 y 5,62 ppm, respectivamente).

Conclusiones:

Se concluye que ante las limitantes concentraciones de fósforo en estos suelos, la presencia de los propágulos infectivos actuarían como factor ecológico crítico en el desarrollo y establecimiento de la vegetación. La vegetación de los parches estarían conservando la calidad microbiana del suelo, con una carga de HMA que favorece la simbiosis con las plantas, aumentando la resiliencia de este ecosistema árido. La presencia de propágulos en interparches sugeriría la existencia de ecotipos resistentes a los factores de perturbación.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS Y PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES POR LACTOBACILLUS PARACASEI 90

RETAMAR, Celeste | WOLF, Irma Verónica | CAPRA, María Luján | HYNES, Erica | PERALTA, Guillermo | BERGAMINI, Carina

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL/ INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL

Introducción y Objetivos:

El metabolismo de aminoácidos (AA) es uno de los principales caminos metabólicos implicados en el desarrollo de compuestos de sabor y aroma en quesos, siendo las bacterias lácticas las principales responsables de esta transformación. Este catabolismo comienza con una reacción de transaminación, catalizada por aminotransferasas (AT), en la cual es necesaria la presencia de un compuesto aceptor del grupo amino, que generalmente es el alfa-cetoglutarato (AKG), el cual se produce a partir de ácido glutámico por actividad glutamato dehidrogenasa (GDH). En el presente trabajo se evaluó el catabolismo de AA de la cepa autóctona *Lactobacillus paracasei* 90 (L90) en condiciones de deprivación de azúcares simulando lo que ocurre durante la maduración de un queso. En estudios previos se determinó que L90 tiene actividad AT hacia distintos AA con preferencia hacia el Asp; además demostró baja actividad GDH.

Materiales y Métodos:

Resting cells de la cepa L90, desarrolladas en MRS hasta fase de crecimiento estacionaria, se inocularon (en niveles de 9 log UFC/mL) e incubaron (37°C-48h) en mezclas simples de reacción, que consistieron de buffer fosfato adicionado de un pool de 9 aminoácidos (2mM de cada uno) y piridoxal fosfato 0,05mM (cofactor de las AT). La actividad metabólica de L90 se evaluó en estas

mezclas a dos valores de pH: 5,5 y 7,0, y en tres condiciones: sin ningún otro compuesto agregado (a) o adicionadas de piruvato de sodio 10mM (b) o de AKG 10 mM (c). Luego de la incubación se evaluó la viabilidad (recuentos en placa) y la actividad metabólica de L90 (pH y perfil de ácidos orgánicos, aminoácidos y compuestos volátiles). 423

Resultados:

Durante la incubación se observó una disminución de los recuentos de la cepa L90. Sin embargo, se mantuvo viable en niveles entre 4 y 7 log UFC/mL, y metabólicamente activa en las condiciones ensayadas. A ambos valores de pH evaluados, la disponibilidad de AKG y piruvato incrementó la sobrevida de L90 y su capacidad de metabolizar AA y producir compuestos derivados. El AKG disminuyó aprox. un 10%, indicando probablemente su participación como cosustrato en las reacciones de transaminación; consecuentemente en estas mezclas se incrementó el nivel de Glu derivado del metabolismo del AKG. El piruvato fue consumido casi totalmente; en estas mezclas se produjeron cantidades significativas de diacetilo y acetoína, compuestos volátiles de interés en quesos. En todas las mezclas se detectaron cambios en los niveles de AA reflejando su consumo por L90. Además, se observó que el perfil de catabolismo de AA se correlacionó con el perfil de actividad AT de esta cepa, y que los mayores niveles de degradación se obtuvieron en presencia de AKG, sobre todo a pH 7,0.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos permitieron incrementar el conocimiento acerca de la potencialidad de la cepa L90 para su uso como fermento adjunto mejorador del flavor. La información obtenida sirve como base racional para proponer estrategias dirigidas a incrementar la actividad metabólica involucrada en la producción de compuestos de importancia en las características organolépticas del queso.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA PMA-QPCR PARA DETECTAR VIABILIDAD DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA (STEC) EN HAMBURGUESAS DE CARNE VACUNA

REY, María de Los Ángeles 1 | CAP, Mariana1 | VAUDAGNA, Sergio2 | MOZGOVOJ, Marina2

INSTITUTO TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE AGROINDUSTRIA, INTA 1; INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, CIA, INTA. CONICET 2

Introducción y Objetivos:

El PMA (propidium monoazide) es un colorante que se intercala en el ADN de bacterias muertas con su membrana plasmática comprometida e inhibe su amplificación por PCR. La membrana bacteriana es impermeable al colorante por lo que sólo puede penetrar células cuyas membranas se encuentren

afectadas. Una vez en el interior de la célula, el PMA se une al ADN irreversiblemente intercalándose entre las bases gracias a la fotoactivación del colorante con luz azul LED. El complejo PMA-ADN así formado inhibe la acción de la polimerasa. De esta forma, la señal obtenida por qPCR solo es atribuible a células viables remanentes post procesamiento. El objetivo del presente trabajo fue poner a punto la técnica PMA-qPCR para evaluar viabilidad de STEC en hamburguesas de carne vacuna.

Materiales y Métodos:

Para ello, se determinó la concentración mínima de PMA necesaria para inhibir la señal de bacterias muertas, la posible influencia del PMA en la amplificación de distintas concentraciones de bacterias vivas y, la capacidad de discriminar diferentes concentraciones de bacterias vivas en presencia de una alta concentración de bacterias muertas, tanto en cultivo como en hamburguesa. La cepa seleccionada para los ensayos fue STEC O157:H7 (EDL 933). El PMA se agregó junto con el PMA enhancer y se sometió a un proceso de fotoactivación durante 15 min. Luego se realizó la extracción de ADN y se amplificó un fragmento del gen *stx2* por PCR en tiempo real.

Resultados:

La concentración mínima de PMA necesaria para inhibir la señal de 5 log UFC/ml de bacterias muertas fue de 100 μ M. La ausencia de influencia del PMA sobre la amplificación de distintas concentraciones de células viables se demostró comparando los valores de Ct obtenidos entre un grupo de muestras con concentraciones crecientes de bacterias vivas (3 a 6 log UFC/ml) tratado con PMA y otro grupo igual de muestras sin el colorante. Al no observarse diferencias significativas entre esos grupos se confirmó la ausencia de influencia. La capacidad de discriminar entre bacterias vivas y muertas se evaluó preparando un grupo de 9 muestras conteniendo 5 log UFC/ml de bacterias muertas combinadas con concentraciones crecientes de células vivas, desde 1 hasta 7 log UFC/ml, tanto en cultivo como en hamburguesa. Los resultados mostraron una disminución del Ct consistente con el aumento de la concentración de células vivas. Esto evidencia la capacidad del PMA para discriminar células viables de no viables, tanto en cultivo como en hamburguesa.

Conclusiones:

La técnica de PMA-qPCR resulta una alternativa novedosa y con gran potencial para detectar viabilidad de STEC en hamburguesas.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

BACTERIAS INDÍGENAS EN EMBUTIDOS SECOS FERMENTADOS: CAPACIDAD DE IMPLANTACIÓN E IMPLICACIONES EN LA CALIDAD DEL PRODUCTO

RIVAS, Gabriel Alejandro 1 | SÁNCHEZ, Mariana² | VALDÉS LA HENS, Danay¹ | SEMORILE, Liliana C.¹ | DELFEDERICO, Lucrecia¹

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR, DEPARTAMENTO DE C. Y T., UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES 1; INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL 2

Introducción y Objetivos:

Los embutidos cárnicos fermentados artesanalmente revisten importancia socioeconómica para la Argentina, con las fábricas de chacinados habilitadas ubicadas principalmente en las provincias de Bs. As., Santa Fé y Córdoba, según la Cámara Argentina de la Industria de Chacinados y Afines (CAICHA). En especial, los salames de Colonia Caroya, Pcia. de Córdoba, con su certificación de Indicación Geográfica (IG), son un producto regional de renombre. En este trabajo nos hemos propuesto, por un lado, contribuir a la caracterización de la diversidad bacteriana de una muestra de esta procedencia, y por otro, obtener aislamientos de los grupos bacterianos más emblemáticos para este proceso: Bacterias del Ácido Láctico (BAL) y Cocos Coagulasas Negativos (CCN), adecuados para ser utilizados como iniciadores de fermentación.

Materiales y Métodos:

Partiendo de una muestra de un salame artesanal de Colonia Caroya, se analizó la diversidad bacteriana de la misma mediante técnicas independientes (PCR-DGGE) y dependientes de cultivo, y se obtuvieron 36 aislamientos de BAL y 17 CCN. Los mismos fueron identificados molecularmente por secuencia de un fragmento del gen 16S rRNA, tipificados por RAPD-PCR y caracterizados teniendo en cuenta ciertas propiedades tecnológicas: actividades proteolíticas y lipolíticas sobre distintos sustratos, y capacidad de crecimiento frente a diferentes condiciones de estrés: pH y NaCl. Asimismo, en lo referente a inocuidad, se evaluaron la presencia/ausencia del gen codificante de histidina descarboxilasa involucrado en la síntesis de Histamina, y presencia/ausencia de resistencias transferibles frente a antibióticos inhibidores de la síntesis de pared celular y síntesis proteica. Estos resultados nos permitieron formular un Cultivo Iniciador de Fermentación (CIF), compuesto por cepas autóctonas (CIF-UNQ). En este contexto, se estudió la capacidad de implantación de las cepas, en condiciones controladas en la planta piloto del INTI Carnes, a lo largo de un proceso fermentativo. Para ello, se elaboraron 2 lotes cárnicos, uno inoculado con el CIF-UNQ y el otro con un CIF-comercial, usando este último con fines comparativos. En ambos casos se realizaron: recuentos totales de BAL y CCN y el seguimiento de implantación de los CIF se realizó mediante RAPD-PCR. Asimismo, se monitorearon la evolución del pH y de la merma de peso y se realizó un análisis del perfil de textura de los productos finales.

Resultados:

A partir de los resultados de caracterización tecnológica y de inocuidad de los aislamientos, se seleccionaron 1 BAL, *Lactobacillus sakei*, y cinco CCN (*Micrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus equorum*, *Rothia* sp., *Staphylococcus saprophyticus*), a fin de constituir el CIF-UNQ. El mismo, demostró una efectiva capacidad de implantación de las BAL, con la consiguiente disminución del pH en los primeros estadios, una paulatina pérdida de peso a lo largo del proceso fermentativo, un perfil adecuado de textura para cada uno de los productos finales, y una sensibilidad a antibióticos cepa-dependiente.

Conclusiones:

Estos resultados son promisorios para el uso de las cepas estudiadas como posibles iniciadores de fermentación en la industria cárnica. Las mismas asegurarían el correcto desarrollo del proceso

fermentativo, contribuyendo a mejorar la calidad sanitaria del producto final y conservando características fisicoquímicas y organolépticas similares a las del producto artesanal.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

OPTIMIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE EDICIÓN GÉNICA CRISPR/CAS9 EN ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

RIVIERE, Nahuel | MARQUES DA SILVA, Wanderson | CATALDI, Angel | LARZABAL, Mariano
IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

Introducción y Objetivos:

La baja eficiencia en la obtención de mutantes para las cepas *Escherichia coli* patógenas generó la implementación del sistema CRISPR/Cas9. El sistema CRISPR/Cas9 utiliza un ARN guía (ARNg) el cual hibrida de manera complementaria con la doble hebra de ADN (dsADN) blanco. La asociación ARNg-dsADN es reconocida por la endonucleasa Cas9 que produce un corte en dsADN del gen de interés. El aporte de un nuevo ADN donador (ADNd) combinado con el sistema de recombinación homóloga lambda Red permite incrementar considerablemente la eficiencia de mutagénesis. Se estableció como objetivo optimizar la metodología de edición génica CRISPR/Cas9 en *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7.

Materiales y Métodos:

Se seleccionó el gen no esencial *mipA* como blanco de mutación de una cepa *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7. A partir de la secuencia de *mipA* se identificó la región PAM (protospacer adjacent motif) de mayor eficiencia de corte mediante el software online CHOPCHOP (<http://chopchop.cbu.uib.no>). Se diseñó y clonó la secuencia del ADN guía (codifica para el ARNg) para dicha región PAM en el vector pCRISPR-SacB. Luego, una cepa EHEC O157:H7 fue transformada con el vector pCRISPR-SacB-ADNg. Posteriormente, la cepa fue transformada con el vector pCasRed que codifica tanto para la endonucleasa Cas9, necesaria para el corte de la doble hebra de ADN, como para la maquinaria de recombinación homóloga lambda Red compuesta por los genes *exo*, *beta* y *gamma*. Durante la transformación también fue incorporado el ADNd que posee un codón stop prematuro y una delección de 30 nucleótidos en relación al gen blanco. La recombinación del ADNd en el gen blanco generó una bacteria EHEC O157:H7 deficiente en la expresión del gen *mipA*. En presencia de sacarosa la bacteria puede eliminar al vector pCRISPR-SacB-ADNg. Esto nos permitiría volver a diseñar un nuevo ADNg contra otro gen de interés para la obtención de múltiples mutantes.

Resultados:

Para la optimización de la metodología de CRISPR/Cas9 se evaluó la eficiencia de obtención de mutantes de la cepa EHEC O157:H7. Se demostró que la concentración óptima de plásmido pCRISPR-SacBDNAg para la transformación de la cepa EHEC O157:H7 fue de 100 ng totales. Por otro lado, fue necesaria una concentración de 25 mM de ADNd para la obtención de un mayor número de bacterias mutantes. También se pudo observar un mayor número de bacterias mutantes al

ser recuperadas a 30°C durante 3 hs luego de ser transformadas. Estas condiciones permitieron obtener la máxima eficiencia de mutagénesis en EHEC O157:H7.

Conclusiones:

La optimización de la técnica de CRISPR/Cas9 permitió obtener cepas mutantes EHEC O157:H7 del gen no esencial *mipA*. Los resultados demostraron que CRISPR/Cas9 es una técnica, versátil, reproducible y altamente eficiente para la obtención de mutantes en EHEC O157:H7.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

EL SISTEMA DE SECRECIÓN DE TIPO VI PERMITE LA SUPERVIVENCIA DE ESCHERICHIA COLI O157:H7 EN MACRÓFAGOS MURINOS

RIVIERE, Nahuel | MARQUES DA SILVA, Wanderson | CATALDI, Angel | LARZABAL, Mariano
IABIMO INTA-CONICET; CICVYA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

Introducción y Objetivos:

El sistema de secreción de tipo VI (SST6) se ha propagado ampliamente en bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* enterohemorrágico (EHEC) O157:H7. Este sistema de secreción atraviesa la doble membrana bacteriana permitiendo que los factores de virulencia sean translocados directamente desde el citoplasma de la bacteria hacia la célula blanco. El SST6 posee 13 componentes esenciales conservados, entre ellos se encuentra la proteína TssB (componente de la cola retráctil). Durante la infección, EHEC O157:H7 coloniza regiones intestinales asociadas a los folículos donde se encuentran componentes del sistema inmune innato, principalmente macrófagos. Estos macrófagos fagocitan las bacterias EHEC O157:H7 adheridas al epitelio e inducen la producción y liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) para eliminarlas. Estudios recientes demostraron que EHEC es capaz de sobrevivir y de replicar dentro de los macrófagos luego 24 hs de ser fagocitado. Se estableció como objetivo evaluar si el SST6 de la cepa EHEC O157:H7 permite la supervivencia intracelular en macrófagos murinos.

Materiales y Métodos:

Se obtuvo una cepa EHEC O157:H7 mutante para el gen *tssB* por la metodología de CRISPR/Cas9. Se realizaron ensayos de supervivencia infectando monocapas de macrófagos murinos (RAW264.7) con las cepas EHEC O157:H7 salvaje y delta *tssB* (MOI 100). Luego de 30 minutos de infección, los macrófagos fueron lavados tres veces con PBS y posteriormente fue agregado medio DMEM fresco conteniendo 100 µg/ml del antibiótico gentamicina para eliminar las bacterias no fagocitadas. La placa se incubó durante 24 hs a 37°C en una atmósfera de 5% de CO₂. Luego los macrófagos fueron lisados con una solución de SDS al 0.025% para liberar las bacterias internalizadas. Se realizaron diluciones seriadas para los diferentes tiempos postinfección (2 y 24 hs) y fueron plaqueadas en LB agar donde se cuantificaron las bacterias fagocitadas viables. El ensayo fue realizado por triplicado.

Resultados:

Mediante la técnica de CRISPR/Cas9 se obtuvo una cepa EHEC O157:H7 mutante para el gen *tssB*. La cepa EHEC O157:H7 delta *tssB* fue evaluada en ensayos de supervivencia en macrófagos. Se pudo

demostrar que no hay diferencias significativas entre la cantidad inicial de bacteria salvaje y mutante del SST6 fagocitadas a las 2 hs de incubación. Sin embargo, se observó una diferencia significativa al cuantificar un 86 % menos de sobrevivida de bacterias mutantes para el SST6 luego de 24 hs de incubación en comparación con la cepa salvaje.

Conclusiones:

La obtención de la cepa EHEC O157:H7 defectiva para el SST6 nos permitió evaluar la relación entre dicho sistema de secreción y la sobrevivida de la bacteria en macrófagos. La cepa EHEC O157:H7 delta tssB demostró una menor sobrevivida al ser fagocitada por macrófagos. Estos resultados sugieren que la sobrevivida de EHEC O157:H7 en el macrófago es dependiente de un SST6 funcional

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CARACTERIZACIÓN DE UNA MUTANTE DE HALOMONAS TITANICAE KHS3 POR INTERRUPCIÓN EN EL GEN POLIHIDROXIALCANOATO SINTASA PHAC1

RODRIGUEZ, Ailen Natali 1 | REDERSDORFF, Ingrid2 | STUDDERT, Claudia1 | HERRERA SEITZ, María Karina2

INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGÍA DEL LITORAL 1; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, IIB CONICET UNMDP, FCEYN 2

Introducción y Objetivos:

Los polihidroxicanoatos (PHAs) son polímeros de reserva que son sintetizados por muchos microorganismos y pueden ser utilizados en la generación de bioplásticos. Halomonas titanicae KHS3 (Ht KHS3) es una cepa ambiental que fue aislada del agua del puerto de Mar del Plata por su capacidad de crecer utilizando fenantreno como única fuente de carbono y responder quimiotácticamente a dicho sustrato. Se secuenció su genoma completo, y se identificaron genes involucrados en la síntesis de polihidroxicanoatos, entre los que se encuentran dos genes de tiolasa (phaA), uno de acetoacetyl CoA reductasa (phaB), dos de PHA sintasa (phaC). Además se identificaron tres genes que codifican proteínas tipo fasin que recubren los gránulos de PHAs (phaP), un gen homólogo a una proteína reguladora de la síntesis de PHAs (phaR) y dos genes de PHA depolimerasas (phaZ). Todos estos genes se encuentran dispersos en el genoma, y sólo los genes phaC1 y phaP1 se encuentran adyacentes uno de otro. En nuestro laboratorio hemos demostrado que Ht KHS3 es capaz de acumular más del 50% de su peso seco de polihidroxibutirato (PHB), cuando crece tanto en medios con 1% de glucosa como fuente de carbono, como cuando se la priva de nitrógeno en medios que contienen glicerol o fenantreno como fuente de carbono. El objetivo de este trabajo es analizar el rol de las PHA sintasas codificadas en el genoma en la acumulación de PHB en las distintas condiciones.

Materiales y Métodos:

Se obtuvo una mutante de Ht KHS3 (SF18) por interrupción en el gen de phaC1, mediante recombinación homóloga de un fragmento interno del gen clonado en un plásmido suicida. Se realizaron curvas de crecimiento en distintas fuentes de carbono (glucosa, glicerol y fenantreno) de la cepa WT y de la mutante. La acumulación de PHAs en estas curvas se determinó por diferentes técnicas: peso seco, tinción de gránulos de PHB con Nile Blue y su observación en microscopio o lupa de fluorescencia, tratamiento con hipoclorito de sodio y relación de turbidez.

Resultados:

En curvas de crecimiento realizadas en medio con glucosa 1% como fuente de carbono, se observó una notable reducción de la velocidad de crecimiento de la mutante, así como una reducción del 50% en la densidad máxima alcanzada en fase estacionaria. Se observó que la mutante no es capaz de acumular PHB en cultivos crecidos en glucosa como fuente de carbono, y en cultivos crecidos en glicerol al ser privado de nitrógeno. En cambio, mostró una capacidad prácticamente inalterada de acumular PHB en cultivos crecidos en fenantreno y sometidos a la privación de nitrógeno.

Conclusiones:

En conjunto, nuestros resultados indican que la sintasa PhaC1 tiene un rol fundamental en la acumulación de PHB que se produce en cultivos crecidos a expensas de glucosa o glicerol. Pero no cumple un papel esencial en la síntesis de PHAs en cultivos de fenantreno. Adicionalmente, la reducción en la velocidad de crecimiento de la mutante sugiere un rol importante de esta sintasa en la fisiología de este microorganismo.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
--	--

COMPARACIÓN GENÓMICA INTRA E INTERESPECÍFICA DE PSEUDOMONAS CON INTERACCIONES POSITIVAS Y NEGATIVAS CON PLANTAS

RONDÓN, Johnma | RONDÓN, Yossmayer

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

Introducción y Objetivos:

La destacada versatilidad metabólica y variabilidad genética observada en bacterias del Género Pseudomonas han permitido a miembros de este grupo ser ecológicamente exitoso en la colonización de un amplio rango de ambientes. Pseudomonas constituye un grupo de gran plasticidad desde el punto de vista genético y ecológico, hecho que dificulta la delimitación taxonómica de especies dentro del grupo. Allí se encuentran especies de vida libre, simbiotes y patógenos facultativos de animales y plantas, dicho potencial genético y metabólico ha despertado el interés de su estudio, especialmente bajo un enfoque biotecnológico en la producción de insumos y el mejoramiento de procesos: biofertilizantes y biopesticidas, biorremediación de compuestos orgánicos complejos, control de patógenos, entre otros. En la literatura se destacan interacciones positivas de Pseudomonas promoviendo el crecimiento de plantas o defendiéndolas de fitopatógenos

a través de la producción de metabolitos tóxicos, así como también interacciones negativas con cepas patógenas. Diferencias genómicas entre cepas y especies de *Pseudomonas* que se asocian a plantas expondrían la dualidad de estilos de vida (simbiontes o patógenos). Descubrir las determinantes genéticas responsables de esta dualidad y así poder establecer un límite genómico que permita explicar el switch fenotípico presente en este grupo proporcionaría elementos de valor para comprender la diversidad ecológica dentro y entre especies del grupo.

Materiales y Métodos:

Para cumplir con esta meta fueron seleccionados cuatro genomas completos y curados de *Pseudomonas* disponibles en el GenBank. Dos del grupo *P. fluorescens* (*P. protegens* CHA0 y *P. fluorescens* SBW25) y dos del grupo *P. syringae* (*P. syringae* pv. *syringae* B728a y *P. syringae* pv. *tomato* DC3000). Utilizando herramientas bioinformáticas de alineamientos profundos con MUMmer 3

Resultados:

fueron encontrados elementos génicos comunes dentro de los genomas analizados (coregenome), algunos de ellos citados por mediar procesos propios de la interacción con plantas y un alto porcentaje de elementos genéticos únicos, tales como genes de biocontrol que participan en la producción de metabolitos tóxicos del tipo diacetilfloroglucinol, fenazinas, pioluteorina y pirrolnitrina que estuvieron ausentes en *P. syringae*.

Conclusiones:

La variabilidad en el contenido génico a nivel intraespecífico fue un hallazgo de especial atención en este trabajo (pan-genome) pudiendo ser considerado como uno de los principales factores responsables de la adaptación a nuevos nichos y/o estilos de vida. El secuenciamiento de más genomas será necesario para dilucidar las bases que definen el estilo de vida en estas especies, su capacidad de adaptación y las relaciones filoecológicas que existen entre ellas.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE LINFOCITOS T GAMMA DELTA Y CÉLULAS ENDOTELIALES RENALES EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN POR LA TOXINA SHIGA TIPO II

ROSSO, David Antonio¹ | ALVAREZ, Romina Soledad² | SHIROMIZU, Carolina Maiumi¹ | IBARRA, Cristina² | AMARAL, María Marta² | JANCIC, Carolina Cristina 1 INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL CONICET - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA 1; LABORATORIO DE FISIOPATOGENIA, DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UBA 2

Introducción y Objetivos:

Las células T gamma delta constituyen un subconjunto funcionalmente especializado de linfocitos T que actúan como sensores tempranos de estrés celular e infección. El Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) asociado a diarrea es una consecuencia de la infección por ESCHERICHIA COLI productora de toxina Shiga (Stx) y es la causa más frecuente de insuficiencia renal aguda pediátrica en Argentina. Está bien establecido que la Stx tipo 2 (Stx2) causa daño directo a las células renales, y además induce una inflamación local que involucra la secreción de citoquinas y quimioquinas por células renales endoteliales y epiteliales, y el reclutamiento de neutrófilos y monocitos. En este trabajo, nuestro objetivo fue investigar la participación de los linfocitos T gamma delta en la patogénesis del SUH.

Materiales y Métodos:

Para llevar a cabo dicho objetivo, analizamos el estado de activación de las células T gamma delta humanas, purificadas a partir de sangre periférica, después de la incubación con sobrenadantes obtenidos de cultivos primarios de células endoteliales glomerulares humanas (HGEC) tratadas con diferentes concentraciones de Stx2 (0.001-1 ng/ml). Por otra parte, evaluamos la activación de las células T gamma delta luego de ser cultivadas con HGEC estimuladas con Stx2, como así también la viabilidad del endotelio. Para evaluar el estado de activación de los linfocitos T gamma delta, analizamos la expresión del marcador de activación CD69 por citometría de flujo y la producción de TNF-alpha por ELISA.

Resultados:

Nuestros resultados indican que los linfocitos T gamma delta exhibieron un aumento en la expresión de CD69 ($p < 0.05$, $n = 7$) y en la secreción de TNF-alpha ($p < 0.05$, $n = 3$) cuando fueron incubados con sobrenadantes de HGEC estimuladas con Stx2. También observamos un aumento en la expresión de CD69 ($p < 0.05$, $n = 5$) y en la producción de TNF-alpha ($p < 0.05$, $n = 5$) después de 24 horas de co-cultivo con HGEC. Llamativamente, la mortalidad de HGEC inducida por Stx2 se vio incrementada por la presencia de células T gamma delta ($p < 0.05$, $n = 4$).

Conclusiones:

Nuestros resultados sugieren que los linfocitos T gamma delta podrían contribuir a la patogénesis de SUH a través del daño endotelial y de la generación de un microambiente pro-inflamatorio.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

CARACTERIZACION DE UN SISTEMA TIPO I DE SECRECION DE PROTEINA RTX EN RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM

RUSSO, Daniela 1 | DOWNIE, J.Allan2 | ZORREGUIETA, Angeles1

IIBBA-CONICET Y FUNDACION INSTITUTO LELOIR 1; JOHN INNES CENTER 2

Introducción y Objetivos:

Identificamos el sistema de secreción de proteínas tipo I (SST1) en el plásmido simbiótico pRL1JI de la cepa 248 de *Rhizobium leguminosarum* RssDM (RTX-secretion system). El locus plasmídico está compuesto por un transportador ABC (ATP Binding Cassette) y su adaptador MFP (Membrane Fusion Protein), rssD y rssM respectivamente. Rio abajo y en el mismo sentido, dos ORFs codifican proteínas de la familia RTX (Repeated in ToXin), RTX-1 y RTX-2. Las proteínas RTX están ampliamente distribuidas y comprenden diversas funciones como la formación de poros en membranas lipídicas, proteasas, lipasas o bacteriocinas. Nos proponemos estudiar el rol del sistema secretor RssDM y las proteínas RTX en el ciclo de vida de la bacteria.

Materiales y Métodos:

En este trabajo se emplearon cepas mutantes derivadas de *R. leguminosarum* bv. *viciae* 248 (Rlv 248) afectadas en los genes rssD, rtx-1, rtx-2 y rtx-1 rtx-2. Se transfirió el cósmido pIJ1552 que contiene una región de 30kb proveniente del pSym que comprende el locus rssD rssM rtx-1 rtx-2. Este cósmido fue transferido la cepa Rlv 248 curada del pSym y mutagenizado en el gen rssD. Se analizó el secretoma de cepas de Rlv 248 mediante LC-MS y LFQ empleando tres réplicas de las muestras proteicas. Se evaluó la capacidad inhibitoria del crecimiento de los rizobios en placa en agar blando co-polimerizado con la cepa indicadora (sensible) e inoculando la cepa a testear (actividad bacteriocina). Los estudios de la capacidad de nodulación y competencia de los rizobios se realizaron inoculando plántulas de *Pisum sativum* y *Vicia fabra*.

Resultados:

El análisis comparativo (LFQ) de los secretomas de las cepas derivadas de Rlv 248 WT y la mutante rssD sugiere que secreción de la proteína Rtx-1, codificada en el pRL1JI, depende del sistema SST1 RssDM mientras que las proteínas Rtx-2, RzbA y NodO son independientes. En cuanto al análisis del secretoma de la cepa curada del pSym y portadora del cósmido pIJ1552, se verificó que confiere la capacidad de secretar Rtx-1, Rtx-2 y péptidos derivados de Rzb248 mientras que la interrupción de rssD eliminó la capacidad de exportar Rtx-1. Los resultados del estudio de la actividad bacteriocina sugiere la presencia de al menos dos actividades inhibitorias del crecimiento de rizobios en Rlv 248. Una potente actividad bacteriocina presente en la cepa curada del pSym fue capaz de inhibir el crecimiento de la cepa silvestre. Esta bacteriocina no estaría codificada en el pRL1JI sino que asociada al cromosoma. La presencia del pSym reprimió fuertemente esta actividad mientras que el cósmido lo hizo en forma parcial, lo que sugiere que contiene un modulador de su actividad. La segunda actividad bacteriocina inhibió el crecimiento de rizobios pertenecientes a *Mesorhizobium* spp y requirió del sistema RssDM funcional, sin embargo, no estaría asociada a las proteínas RTX-1 y RTX-2. Finalmente, los ensayos realizados en plántulas de arveja no evidenciaron diferencias significativas entre la cepa rssD y la WT en la capacidad de nodulación. Sin embargo, la competencia del rizobio se vio reducida significativamente en la cepa mutante rssD al ser co-inoculada con la cepa silvestre.

Conclusiones:

El sistema tipo I RssDM codificado en el pRL1JI de *R. l. viciae* 248 es responsable de la secreción de la proteína RTX-1 mientras que RTX-2, Rzb 248 y NodO son independientes. La actividad bacteriocina asociada al sistema secretor RssD fue capaz de inhibir el crecimiento de rizobios emparentados y no depende de RTX-1 ni RTX-2. Los ensayos en plantas sugieren que el sistema RssDM no sería esencial en la nodulación aunque tendría participación en el desempeño del rizobio durante la competencia por colonizarla

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	--

PURIFICACIÓN A ESCALA PILOTO DE UNA ACTIVIDAD LIPASA PRODUCIDA POR ASPERGILLUS NIGER MYA 135. CARACTERIZACIÓN CINÉTICA Y MOLECULAR

SALVATIERRA, Hebe Natalia 1 | NAVARRO, Agustín² | WOLMAN, Federico² | DONAMARÍA, Julián² | BAIGORI, Mario¹ | PERA, Licia¹ | VAZQUEZ, Susana²

PROIMI 1; CÁTEDRA DE BIOTECNOLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UBA; NANBIOTEC UBA-CONICET 2

Introducción y Objetivos:

Las lipasas (EC 3.1.1.3) son enzimas de gran importancia industrial debido a la heterogeneidad de aplicaciones que presentan en la industria alimenticia, farmacéutica y otras y en la producción de biocombustibles. Cada una de estas aplicaciones requiere propiedades específicas de las lipasas tales como especificidad, estabilidad térmica, habilidad para catalizar la síntesis de ésteres en solventes orgánicos, etc. En tal sentido, este trabajo tiene como objetivo purificar una actividad lipasa a escala piloto y caracterizar el producto obtenido.

Materiales y Métodos:

Para esto, se obtuvo 3 l de sobrenadante de cultivo con actividad lipasa a partir de *Aspergillus niger* MYA 135 utilizando un medio salino suplementado con aceite de oliva (2%, v/v). Se optimizó el proceso de purificación. Se propuso un paso de ultrafiltración seguido de cromatografía hidrofóbica por FPLC (Fast protein liquid chromatography).

Resultados:

Se logró purificar una proteína con una actividad específica de 13,4 U/mg, con un rendimiento de 6,2% y un factor de purificación de 17,8. La proteína purificada reveló dos bandas en SDS-PAGE. Las mismas fueron analizadas por espectrometría de masa MS y MS/MS, dando como resultado: a) para la banda superior, una identificación en MASCOT con Lipasa Extracelular de *Aspergillus niger*; Masa: 61 kDa; pI: 4,42; Score: 110; Base de datos: NCBIprot y b) para la banda inferior una identificación con Lipasa de *Aspergillus niger* CBS 513.88; Masa: 31,7 kDa; pI: 4,67; Score: 5,8; Base de datos: NCBIprot. Se determinaron: el punto isoeléctrico (3,75), temperatura (30°C) y pH (7.0) óptimos, y los parámetros cinéticos V_{max} (19,16 $\mu\text{mol}/\text{min}$) y K_m (0,26 mM), utilizando buffer A (buffer fosfato 100 mM pH 7, goma arábica 0,1% y tritón 0,4%), una temperatura de incubación de 37°C y p-nitrofenil palmitato como sustrato. Además, se estudió el efecto de agentes que modifican aminoácidos (5 mM): NAI (N-acetylimidazole), NBS (N-bromosuccinimide), EDAC (1-ethyl-3-(3-

dimethylaminopropyl) carbodiimide), IA (idoacetate), DEPC (diethylpyrocarbonate), CA (citraconic anhydride) y PG (phenylglyoxal); y otros compuestos (g/l): FeCl₃ 1, CaCl₂ 0,5, ácido oleico 1, glicerol 10, aceite de oliva 20 y Tritón X100 20. Se detectó un efecto de inhibición frente a CA, NAI, PG, DEPC, CaCl₂ y Tritón; mientras que con el agregado de FeCl₃ (K_a=0,17mM) y ácido oleico (K_a=0,05mM) se observó un efecto de activación. Finalmente, se realizaron estudios relacionados con la síntesis de biodiesel utilizando la lipasa purificada e inmovilizada en silica gel por adsorción como catalizador, con aceite de soja crudo y butanol en relación (1:4).

Conclusiones:

Como resultado, se logró sintetizar biodiesel con éxito, pudiéndose comprobar que esta enzima tiene la capacidad de reaccionar con un sustrato natural y catalizar la transesterificación. Agradecimientos: PICT 2015 2596 (FONCyT) y PIUNT 606 (UNT).

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

ACTIVIDAD FITASA DE LACTOBACILLUS PLANTARUM CRL 1964 Celestina

SANDEZ PENIDEZ, Sergio Hernán | VELASCO MANINI, Marina Andrea | GEREZ, Carla | ROLLAN, Graciela

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos:

El ácido fítico (AF) es una molécula cargada con 6 grupos fosfatos ligados a un anillo central mio-inositol que constituye 1-4 % del peso de granos de cereales y seudocereales, representando la mayor forma de almacenamiento de fósforo. Por su estructura, el AF es un factor antinutricional al quelar cationes, minerales y proteínas, formando complejos insolubles y disminuyendo su biodisponibilidad. El AF puede ser hidrolizado por fosfatasas o fitasas, produciendo mio-inositol (penta- a mono-fosfatos) y fosfato libre. La fermentación por bacterias lácticas (BL) seleccionadas puede modificar la composición fisicoquímica y funcional de sustratos vegetales alterando la relación de componentes anti-nutritivos/nutritivos. En estudios previos, *Lactobacillus (L.) plantarum* CRL 1964, fue seleccionada entre 73 cepas de BL aisladas de quinoa y amaranto, por presentar la mayor actividad fitasa asociada al crecimiento óptimo en medio de cultivo en presencia de fitato (MRSm). En base a lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar la producción y actividad fitasa de *L. plantarum* CRL 1964.

Materiales y Métodos:

La producción de la enzima por la cepa CRL 1964 fue evaluada en medio de cultivo MRSm en presencia de diferentes fuentes de carbono y fósforo, así como a pH libre y controlado (pH 5.5). Los valores de pH y temperatura óptimos de la actividad fitasa así como la estabilidad térmica y a diferentes valores de pH también fueron evaluados. Asimismo, se determinó el efecto de diferentes moduladores (Zn²⁺, Ca²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, NaF, o-fenantrolina, EDTA,

H₂O₂, SDS, DTT, PMSF, urea y ácido ascórbico) sobre la actividad enzimática.

Resultados:

La presencia de fitato en el medio de cultivo indujo (45%) la producción de la enzima, la cual no fue reprimida por el contenido de fósforo del medio. Respecto a la fuente de carbono, la presencia de maltosa ó rafinosa en el medio de cultivo incrementó (20-23%) la producción de la enzima. El valor de pH del medio tuvo influencia en la producción de la enzima, la cual fue máxima al comienzo de la fase estacionaria de crecimiento (8h) en condiciones de pH libre, mientras que a pH controlado (pH 5.5) la máxima producción fue a las 6h y 26% mayor respecto al valor a pH libre. La actividad fitasa de CRL 1964 presenta valores óptimos de pH y temperatura de 4.5 y 55 °C, respectivamente. Respecto a la estabilidad térmica de la enzima, mantiene 100% su actividad hasta los 60 °C, a mayores temperaturas (80 °C) la actividad disminuye (75%) . Entre los efectores evaluados, los agentes desnaturalizantes de enlaces disulfuro, agentes oxidantes y metales pesados inhibieron entre 4 % y 78-%, mientras que EDTA, Co²⁺ y ácido ascórbico estimularon la actividad enzimática (7% a 65%).

Conclusiones:

Los resultados obtenidos indican el potencial de la fitasa de *L. plantarum* CRL 1964 para ser incluida en el procesamiento de productos a base de cereales o seudocereales a fin de incrementar la biodisponibilidad de minerales y su valor nutricional.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

PRODUCCION FOTOSINTETICA DE AZUCARES FERMENTABLES A PARTIR DE AGUA DE MAR

SANZ SMACHETTI, María Eugenia 1 | CORONEL, Camila Denise¹ | SALERNO, Graciela L.2 | CURATTI, Leonardo¹ INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC-CONICET) Y FIBA 1; FUNDACIÓN PARA INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS APLICADAS (FIBA) 2

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGÍA (INBIOTEC-CONICET) Y FIBA 1; FUNDACIÓN PARA INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS APLICADAS (FIBA) 2

Introducción y Objetivos:

La producción a gran escala de biocombustibles de tercera generación presenta varias limitaciones que deben superarse para lograr una comercialización masiva y rentable de los mismos. El pretratamiento y la sacarificación de la biomasa que se utiliza para transformar los carbohidratos insolubles en azúcares fermentables son algunas de ellas. Una alternativa es cultivar cepas que acumulen sacarosa, un azúcar soluble y de fácil extracción, como respuesta a estrés salino. Esta

estrategia se podría combinar con la utilización de agua de mar o salobre para la inducción, reduciendo los costos y el impacto ambiental en cultivos a gran escala. Este trabajo buscó identificar y seleccionar cepas de microalgas que acumulen sacarosa, y optimizar las condiciones de cultivo en agua de mar sintética.

Materiales y Métodos:

Se realizó una bioprospección de 30 cepas de microalgas de agua dulce y se seleccionó a *Desmodesmus* sp. cepa P5. Para el análisis del efecto de la preaclimatación al estrés salino, P5 fue inducida inicialmente con 100 mM NaCl y a los tres días llevada a 400 mM NaCl; o cultivada por tres días en medio estándar y luego inducida con 400 mM NaCl. Para estudiar el efecto de la concentración de nitrógeno (N), el medio fue suplementado con 1, 3, 6 o 10 mM NaNO₃, y en ausencia o en presencia de NaCl. Para evaluar la posibilidad de utilizar agua de mar, las cepas fueron cultivadas inicialmente en medio BG11 con suficiencia de N (10 mM NaNO₃) y 100 mM NaCl. Luego de tres días, se agregaron 3 volúmenes de medio BG11 preparado en agua de mar artificial y se dejó crecer por seis días más. Todos los experimentos fueron realizados en luz continua a 270 $\mu\text{mol photons}^{-1}\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, temperatura constante a 28 °C, y con burbujeo de aire húmedo con 2% de CO₂.

Resultados:

La preaclimatación permitió incrementar el rendimiento volumétrico de sacarosa de $78 \pm 12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, conseguidos en el cultivo control, a $98 \pm 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Esta diferencia aumentó sustancialmente en suficiencia de N, alcanzando $228 \pm 24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Por lo tanto, se decidió evaluar el efecto de la concentración de N sobre la acumulación de sacarosa y la posibilidad de coproducir lípidos, ya que aumentaría el rendimiento volumétrico de biocombustibles. Se observó que los niveles más altos de sacarosa se alcanzaron con suficiencia de N y en presencia de NaCl, mientras que los niveles más altos de lípidos se lograron en privación de N (1 o 3 mM NaNO₃), independientemente de la concentración de NaCl. Por lo tanto, la hiper acumulación conjunta de sacarosa y lípidos no sería factible. Teniendo en cuenta estos resultados, se evaluó el crecimiento en agua de mar y en suficiencia de N para potenciar la acumulación de sacarosa, alcanzando 10% (p/p), contenido comparable al de la caña de azúcar.

Conclusiones:

Los resultados de este trabajo sugieren la posibilidad del uso de agua de mar para la obtención de biomasa rica en sacarosa, un sustrato con aplicabilidad en diversas fermentaciones industriales, entre ellas, la producción de biocombustibles.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CARACTERIZACIÓN DEL ROL FISIOLÓGICO DE LA ENZIMA FABH EN MICOBACTERIAS: IMPACTO EN LA SÍNTESIS DE LÍPIDOS Y VIABILIDAD

SAVORETTI, Franco | CROTTA ASIS, Agostina | HUGO, Gramajo | GAGO, Gabriela INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR

Introducción y Objetivos:

La tuberculosis es un grave problema de salud a nivel mundial, siendo la novena causa de muerte global y la primera causa de muerte por un único agente infeccioso. El agente causal de la tuberculosis es el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que junto con otras micobacterias comparten la característica de poseer una extensa membrana externa formada principalmente por ácidos micólicos, los cuales son esenciales para la viabilidad y patogénesis. Esta compleja membrana externa está relacionada con la particularidad de poseer dos sintetasas de ácidos grasos, FAS-I y FAS-II. Los sistemas FAS están conectados por una enzima condensante clave, FabH, la cual cataliza la condensación descarboxilativa de malonil-ACP con los C16-18-CoAs producidos por FAS-I. El producto de esta condensación es el sustrato inicial del sistema FAS-II. Nuestra hipótesis de trabajo consiste en que la regulación coordinada de los sistemas FAS I y FAS II es fundamental para la viabilidad y el normal desarrollo del metabolismo de las micobacterias. Si bien hay mucha información sobre la biosíntesis, estructura y función biológica de los lípidos presentes en la envoltura de las micobacterias, se sabe poco acerca de los mecanismos que permiten modular y adaptar la biosíntesis de los componentes de la pared celular en respuesta a cambios en el ambiente. Con el fin de profundizar conocimientos que podrían aportar nuevos y valiosos conceptos en la regulación de la síntesis de ácidos grasos y ácidos micólicos, nos propusimos caracterizar el rol fisiológico de la enzima FabH en micobacterias y analizar su impacto sobre la síntesis de lípidos y viabilidad.

Resultados:

Si bien hay estudios bioquímicos sobre la actividad de la enzima FabH de *M. tuberculosis*, no hay análisis genéticos que ayuden a establecer inequívocamente el rol fisiológico de esta enzima. En este trabajo, mediante un doble evento de recombinación se construyó una cepa mutante por delección del gen putativo *fabH* *msmeg3953* de la bacteria *Mycobacterium smegmatis* y se realizó una caracterización fisiológica de la misma. Determinamos que el gen no es esencial para la viabilidad de la bacteria, al menos en las condiciones de crecimiento analizadas. Al estudiar la síntesis de ácidos micólicos mediante la incorporación de [14C]-acetato el resultado no reflejó lo esperado, ya que la cepa mutante no fue deficiente en la síntesis de los mismos. Sin embargo, la cepa mutante presenta algunas diferencias en su comportamiento respecto de la cepa salvaje, como una fase de adaptación más larga en 5 horas, diferente fenotipo de las colonias en medio sólido ante la presencia de los antibióticos cerulenina e isoniacida y diferencias en la síntesis de ácidos micólicos cuando previo al agregado de [14C]-acetato se trata el cultivo con isoniacida.

Conclusiones:

Si bien aún no podemos determinar si el gen en estudio posee el rol putativo *fabH* asignado, subsiguientes estudios bioquímicos con la proteína purificada sumarán a la determinación de dicho rol.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ANÁLISIS DEL PERFIL SECRETÓMICO DE TRAMETES VILLOSA LBM 018 DESARROLLADO EN CULTIVO LÍQUIDO OPTIMIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE LACASAS

SAWOSTJANIK AFANASIUK, Silvana Soledad | GONZALEZ HOLC, Victoria Guadalupe | DIAZ, Gabriela Verónica | ALVARENGA, Adriana Elizabet | ZAPATA, Pedro Darío

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES – UNIVERSIDAD NACIONAL

Introducción y Objetivos:

En la actualidad existe un gran interés en los biocombustibles como alternativa a los combustibles tradicionales. Dentro de los cuales, el bioetanol de segunda generación cobra mayor interés ya que es producido a partir de residuos provenientes de agro-foresto-industrias. Sin embargo, la producción de bioetanol lignocelulósico requiere de una serie de tratamientos previos sobre la biomasa para la degradación de su componente más recalcitrante, la lignina, y para la obtención de azúcares fermentables. Estos pretratamientos encarecen los costos de producción ya que se realizan utilizando químicos y enzimas de alto costo. Los hongos de pudrición blanca presentan una amplia capacidad degradativa, produciendo como parte de su metabolismo un amplio espectro de enzimas oxidativas que actúan sobre la lignina. Es por ello que se planteó como objetivo de este trabajo analizar el perfil secretómico de *Trametes villosa* LBM018, un hongo nativo de Misiones, cultivado en medio líquido optimizado para la producción de enzimas lacasas.

Materiales y Métodos:

Primeramente se optimizaron las condiciones de cultivo del hongo, con el fin de obtener altas concentraciones de lacasas en sus sobrenadantes. Para ello se realizaron diseños experimentales que permitieron determinar las mejores condiciones físicas de cultivo, y la composición química del medio. Con los sobrenadantes obtenidos se determinó la actividad enzimática lacasa, que sirvió como estimación de la secreción de enzimas. Una vez lograda la optimización se realizaron cultivos del hongo en las condiciones optimizadas y cultivos controles. Los sobrenadantes obtenidos fueron utilizados para la identificación y análisis del secretoma por espectrometría de masas. Los sobrenadantes fueron filtrados y clarificados y las proteínas presentes en los mismos fueron reducidas, alquiladas, precipitadas y luego digeridas con tripsina. Los péptidos obtenidos fueron separados y analizados por nanoHPLC acoplado a un espectrómetro de masa con tecnología Orbitrap. Los datos obtenidos fueron analizados con el programa Proteome Discoverer.

Resultados:

Por medio de la optimización se logró incrementar la actividad enzimática lacasa 700%, el análisis de secretoma permitió corroborar que este aumento en actividad se debe a un aumento en la secreción de enzimas lacasas, siendo en los controles la abundancia relativa de 7% y en el optimizado 32%. Además se incrementaron otras oxidorreductasas, como las peroxidasas, siendo de 3% en los controles y 22% en el optimizado.

Conclusiones:

Se concluye que gracias a la optimización de las condiciones de cultivo de hongos de pudrición blanca, se pueden generar sobrenadantes optimizados en enzimas particulares que puedan ser aplicados sobre residuos lignocelulósicos para producir bioetanol disminuyendo costos en el proceso. Los análisis del secretoma permiten identificar las enzimas secretadas, generando herramientas para diseñar la forma de aplicación adecuada.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

ROL DE TBLIPL, PUTATIVA LIPOATO LIGASA DE TRYPANOSOMA BRUCEI, EN LA MODIFICACION POSTRADUCCIONAL DE PROTEINAS

SCATTOLINI, Albertina | VACCHINA, Paola | UTTARO, Antonio D. | MANSILLA, Cecilia

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FBIOYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

El ácido lipoico (AL) es un compuesto ampliamente distribuido en la naturaleza, requerido para el funcionamiento de complejos multienzimáticos involucrados en el metabolismo oxidativo y de un carbono. La lipoilación de proteínas ha sido exhaustivamente caracterizada en bacterias, donde existen vías de síntesis y de utilización de AL exógeno. La bacteria modelo Gram positiva *Bacillus subtilis* requiere de cuatro proteínas para la síntesis de AL: la octanoiltransferasa LipM transfiere la porción octanoílo desde ACP a GcvH; la lipoato sintasa, LipA, inserta los átomos de azufre y luego la amidotransferasa LipL transfiere el residuo lipoílo a los restantes complejos enzimáticos. *B. subtilis* también es capaz de utilizar AL exógeno, mediante la acción conjunta de la lipoato ligasa LplJ y LipL. En proteobacterias las vías son más sencillas, con una octanoiltransferasa (LipB) y una lipoato ligasa (LplA) que tienen como sustrato a todas las apoproteínas. En contraste, la información relativa a eucariotas es aún fragmentaria. Dado que la interferencia de la vía de síntesis de AL podría ser un potencial blanco quimioterapéutico contra parásitos como *Trypanosoma cruzi* o *T. brucei*, donde los tratamientos disponibles son poco efectivos y generalmente tóxicos, nos propusimos identificar las enzimas implicadas en la lipoilación de proteínas de tripanosomátidos.

Resultados:

Mediante análisis del genoma de *T. brucei* se identificó el locus Tb927.8.630, cuya secuencia de aminoácidos presenta homología con lipoato ligasas y amidotransferasas de bacterias y levaduras. Para caracterizar funcionalmente esta enzima (TbLipL), dicho gen se expresó bajo el control de un promotor inducible por xilosa en mutantes de *B. subtilis* deficientes en diferentes pasos de la vía de síntesis y captación de AL. No se observó complementación funcional de mutantes lipM, indicando que no posee actividad octanoiltransferasa, ni de la doble mutante lipM-lplJ, aún en presencia de AL, descartando actividad lipoato ligasa. Por el contrario, se observó la complementación funcional del crecimiento de una mutante lipL, lo que se correspondió con el restablecimiento del patrón de lipoilación proteica analizado mediante ensayos de Western Blot con anticuerpos anti-AL. La expresión de TbLipL en una mutante gcvH no restauró su crecimiento en placas de medio mínimo ni el patrón de lipoilación proteica, sugiriendo que GcvH es sustrato de la reacción de transamidación. Por último, al expresar TbLipL en una mutante lipL-gcvH se restableció parcialmente el crecimiento

de esta cepa en medio mínimo suplementado con AL. Esto indica que, al igual que la amidotransferasa de *B. subtilis*, esta enzima podría usar la subunidad E2 lipoilada de la oxoglutarato deshidrogenasa como sustrato para la transferencia a las restantes subunidades E2.

Conclusiones:

Estos resultados indican que TbLipL es una amidotransferasa, y que *T. brucei* presenta una vía de lipoilación endógena del tipo “lipoyl-relay”, como la descrita en *B. subtilis* y levaduras.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

THE MRNAS ENCODING POLYHYDROXYBUTYRATE (PHB)-GRANULE ASSOCIATED PROTEINS PHAP1/2 ARE ASSOCIATED IN VIVO WITH THEIR POST-TRANSCRIPTIONAL SMALL RNA REGULATOR MMGR IN SINORHIZOBIUM MELILOTI

SMALL RNA REGULATOR MMGR IN SINORHIZOBIUM MELILOTI LAGARES (JR.), Antonio 1 | LINNE, Uwe2 | BECKER, Anke3 | VALVERDE, Claudio4

LBMIBS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET / SYNMIKRO, PHILLIPS-UNIVERSITY, MARBURG 1; CHEMISTRY DEPARTMENT – MASS SPECTROMETRY, PHILLIPS-UNIVERSITY, MARBURG 2; SYNMIKRO, PHILIPPS-UNIVERSITY, MARBURG 3; LBMIBS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET 4

Introduction and objectives: The highly conserved *mmgR* gene encodes a 77-nt non-coding small RNA (sRNA) in the N₂-fixing legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*. In *S. meliloti*, the expression of MmgR is mainly regulated at the transcriptional level by the N and C metabolism master regulators NtrC and AniA, respectively. MmgR regulates the accumulation of the major C- and reducing-power-storage polymer polyhydroxybutyrate (PHB) under conditions of N starvation and C surplus. The absence of MmgR in the *S. meliloti* *mmgR* mutant strain results in the relaxation of a post-transcriptional control over both PHB-granule associated phasins PhaP1/2. Our current model for MmgR function suggests that the sRNA is part of a regulatory loop that operates to maintain a proper structure and amount of PHB granules in *S. meliloti* through a fine-tuning of the intracellular levels of phasins and polymer, on the basis of the availability of N and C. Since the molecular interactions between MmgR and its specific target molecules –which ultimately determine the biological function of the sRNA- were still unknown, we planned to characterize the interactome of MmgR. **Materials and methods:** In order to identify the RNAs and proteins to which MmgR binds in vivo, we expressed an MS2-tagged MmgR species in the *S. meliloti* *mmgR* mutant strain as a bait to selectively purify the interactome of the small RNA by means of an affinity chromatography of the bacterial lysate in an amylosefilled column loaded with the MS2bp-MBP protein (i.e., MS2-binding protein fused to the

mannose binding protein), followed by several wash steps and a final elution of the selectively retained molecules using a mannose-containing buffer. The population of RNAs and proteins extracted from the chromatographic eluates were subjected to RNA-sequencing and quantitative proteomics in order to determine MmgR RNA and protein binding partners, respectively. Results: A small set of RNAs that interact in vivo with MmgR was identified. Among them, the transcripts corresponding to the genes SMc00777 and SMc02111 (phaP1 and phaP2, encoding for PHB-granule-associated phasins 1 and 2, respectively) were of particular relevance since their finding strongly suggests that a direct MmgR-mediated regulation operates over them to impact on PHB storage metabolism. Whether base-pairing between MmgR and these mRNAs accounts for the observed regulation is currently being addressed. Furthermore, Hfq (the chaperone of sRNA-mRNA interactions) was confirmed as a member of MmgR interactome. Conclusions: We uncovered the interactome of the small RNA MmgR in *S. meliloti* by means of the MS2-sRNA tagging strategy coupled to affinity purification and RNAseq/qProteomics, an approach that has been set up and successfully used in enterobacterial models. Remarkably, the mRNAs encoding PHB-granule associated proteins were found to be associated in vivo with their post-transcriptional sRNA regulator MmgR, which points to a direct post-transcriptional regulation of PhaP1/2 expression by MmgR.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA DE PSEUDONOCARDIA SP. MITI 22T, ACTINOBACTERIA ENDOLIQUÉNICA

**SOLANS, Mariana 1 | VOBIS, Gernot1 | JOSE MARTIN, Scervino1 | SCHUMANN, Peter2 |
SPRÖER, Cathrin2 | MESSUTI, María Inés1**

*DEPTO. BOTÁNICA, CENTRO REGIONAL UNIVERSITARIO
BARILOCHE-UNCOMAHUE-INIBIOMA, CONICET 1; DSMZ – DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GMBH, INHOFFENSTRASSE 7B 2*

Introducción y Objetivos:

Investigaciones recientes han demostrado que los líquenes (hongos liquenizados), los que constituyen una asociación simbiótica entre un hongo y un alga y/o cianobacteria, podrían ser una fuente de microorganismos biotecnológicamente interesantes, incluidas las actinobacterias. Estudios realizados sobre microecosistemas liquenizados en la región andina (Patagonia, Argentina), mostraron el aislamiento de veintitrés cepas de actinobacterias, pertenecientes a diversos géneros, provenientes del líquen *Pseudocyphellaria berberina* (Ascomycota). El objetivo de este trabajo fue complementar estos estudios mediante un enfoque polifásico (caracterización morfo-fisiológica, química y molecular) con el fin de describir una posible especie nueva representada por la cepa endoliquénica MITI 22T.

Materiales y Métodos:

Esta cepa fue cultivada en condiciones aeróbicas a temperatura ambiente en medios de cultivo para actinobacterias saprófitas. Una suspensión de esporas de MITI 22T se conservó en glicerol (20%, v/v, -20°C) (BCRU, UNComahue), designada por DSMZ como DSM 46833T. El ADN genómico total (DSM 46833T) se extrajo utilizando el kit de aislamiento Ultraclean Microbial. Para comparar las secuencias incompletas del gen 16S ARNr de la cepa DSM 46833T con las de las especies tipo (NCBI) se utilizó el análisis BLAST. Árboles filogenéticos fueron reconstruidos utilizando los métodos Neighbour-Joining (NJ), Máxima Verosimilitud (ML) y Máxima Parsimonia (MP), utilizando el programa MEGA 7.0. La preparación de la muestra para el análisis de proteína mediante espectrometría de masas de desorción/ionización con láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS) se realizó de acuerdo con el protocolo de extracción de etanol/ácido fórmico. A partir de hidrolizados de células completas (HCl 4N, 100°C, 16 h) se determinó el ácido diaminopimélico de la pared celular y los azúcares. Los ácidos grasos celulares se extrajeron de células cultivadas en agar soja (28°C, 22 días). Los lípidos polares se extrajeron y separaron mediante TLC bidimensional. Se estudiaron las características fenotípicas de la cepa DSM 46833T en comparación con las cepas tipo de especies filogenéticas relacionadas.

Resultados:

El aislamiento MITI 22T (DSM 46833T) creció con 1% (p/v) NaCl, pH 5.0-7.0 y 28°C (crecimiento óptimo). Un análisis comparativo de la secuencia del gen 16S ARNr mostró que la cepa DSM 46833T formó un grupo distinto con *Pseudonocardia xinjiangensis* XJ-45T (98.9%) y *Pseudonocardia saturnea* DSM 43195T (98.3%). El ADN genómico (DSM 46833T) tenía un valor de G+C (73.7% en moles). La similitud ADNADN entre DSM 46833T y su vecino filogenético más cercano, *P. xinjiangensis* (menos del 17%), en combinación con la diferenciación de las cepas tipo relacionadas de *Pseudonocardia* por MALDI-TOF, sugiere que la cepa DSM 46833T representaría una especie nueva incluida en el género *Pseudonocardia*.

Conclusiones:

El enfoque polifásico del aislamiento fue consistente con la afiliación al mencionado género.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

IDENTIFICACIÓN MEDIANTE RNA-SEQ DE SRNAS NO CODIFICANTES EN DISTINTAS CONDICIONES DE AIREACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN PSEUDOMONAS EXTREMAUSTRALIS: ANÁLISIS DEL SRNA40

SOLAR VENERO, Esmeralda Clara 1 | TRIBELLI, Paula2 | LOPEZ, Nancy2

IQUIBICEN 1; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA FCEN-UBA IQUIBICEN CONICET 2

Introducción y Objetivos:

Los pequeños RNAs no codificantes (sRNA) desempeñan un papel clave como reguladores post-transcripcionales mediando en la estabilidad y eficiencia de traducción de los mRNA. La regulación de la expresión mediante sRNA en *Pseudomonas* es un área de investigación activa y de relevancia en especies ambientales y patógenas. *P. extremaustralis* es un microorganismo extremófilo por lo que su estudio puede aportar información sobre mecanismos de adaptabilidad a condiciones de estrés. Debido al impacto que tienen los agentes oxidantes, aún cuando la disponibilidad de oxígeno es baja, en este trabajo nos proponemos analizar la presencia y funcionalidad de sRNA regulatorios relacionados con microaerobiosis y estrés oxidativo en *P. extremaustralis*.

Materiales y Métodos:

Se analizaron diversos sRNA con posible actividad regulatoria previamente identificados por experimentos de RNAseq en aerobiosis (A), microaerobiosis (M) y microaerobiosis expuestas a H₂O₂ (m-OS). Se comprobó el tamaño y perfil de transcripción de 8 sRNAs con expresión diferencial por Northern blot. Se seleccionó al sRNA40, cuya secuencia se encuentra conservada en otras especies de *Pseudomonas*, pero cuya función no ha sido descrita, para realizar experimentos de sobre-expresión seguidos de RNAseq. Su secuencia se clonó en un vector de expresión bajo el control de un promotor inducible (cepa *P. extremaustralis*/pBAD18-sRNA40). La expresión del sRNA a distintos tiempos de inducción se verificó por Northern blot, seleccionándose 10 min como tiempo experimental para el análisis transcriptómico de *P. extremaustralis* conteniendo pBAD18-sRNA40 y pBAD18 vacío. Se utilizó el programa Rockhopper para determinar los genes con expresión diferencial. Además, se empleó el programa IntaRNA para realizar la predicción del interactoma del sRNA40 y modelar la interacción del sRNA con los genes que exhibieron expresión diferencial luego de la sobre-expresión.

Resultados:

La predicción in silico del interactoma del sRNA40 permitió identificar 100 posibles blancos de regulación. En relación a esto se pudo observar que la mayor parte de las interacciones involucran la región correspondiente a los primeros 120 bp del sRNA, siendo las bases más relevantes aquellas cercanas a la posición 90. El análisis del perfil transcriptómico mostró expresión diferencial de 19 genes ($P < 0.05$, $Q < 0.05$), de los cuales 14 se encontraron sobre-expresados y 5 reprimidos. Cabe destacar que 8 de estos transcritos corresponden a componentes de los sistemas de secreción II y III (T2SS y T3SS). Entre ellos, xcpU, xcpX y xcpZ, pertenecientes al sistema general de secreción. El modelado reveló que la interacción del sRNA40 con los genes obtenidos se ve energéticamente favorecida.

Conclusiones:

En conjunto, los resultados obtenidos permitieron identificar sRNAs que mostraron expresión diferencial en microaerobiosis y estrés oxidativo cuya función todavía debe ser dilucidada. Se observó que el sRNA40 actúa en respuesta a estrés oxidativo, probablemente afectando la regulación de los mecanismos de secreción.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ACTIVIDAD ANTAGÓNICA IN VITRO DE LEVADURAS NATIVAS FRENTE A FUSARIUM SP. QUE AFECTAN NEGATIVAMENTE LA CADENA PRODUCTIVA DE SEMILLAS DE CEBOLLA

SOTOMAYOR, Florencia¹ | PESCE, Virginia² | PEDROZO, Paula ² | NALLY, Cristina² | SÁNCHEZ, Gonzalo¹ | FLORES, Cintia Belen² | CASTELLANOS DE FIGUEROA, Lucia³ | VAZQUEZ, Fabio⁴

IBT, FACULTAD DE INGENIERIA-UNSJ 1; IBT-FACULTAD DE INGENIERÍA UNSJ/CONICET 2; PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. 3; DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA - FACULTAD DE INGENIERÍA - UNSJ 4

Introducción y Objetivos:

San Juan es una de las principales provincias productoras de semilla de cebolla del país. Esta actividad puede ser afectada por diferentes hongos filamentosos que reducen los rendimientos en diferentes etapas del cultivo, siendo Fusarium uno de los géneros más importantes. El control de las enfermedades fúngicas consiste en el empleo de fungicidas químicos. Sin embargo, su uso puede favorecer fracciones poblacionales de hongos tolerantes a los mismos, además de ocasionar un impacto negativo sobre el ambiente y la salud humana. El biocontrol empleando levaduras antagonistas resulta promisorio para reducir el uso de fungicidas, ya que pueden disminuir las enfermedades causadas por patógenos fúngicos del suelo y transmitidos por semilla. El objetivo del trabajo fue evaluar in vitro la capacidad antagonista de levaduras nativas frente a aislamientos de Fusarium sp., perjudiciales para el cultivo de cebolla destinado a la producción de semillas.

Materiales y Métodos:

A partir de semillas y muestras de tejido de bulbos de cebolla con síntomas de podredumbre se realizó el aislamiento, purificación e identificación morfológica de los patógenos. Para determinar la actividad antagonista in vitro se emplearon 55 levaduras nativas del cepario del IBT-FIUNSJ: Aureobasidium pullulans 3, Cryptococcus magnus 3, Metschnikowia pulcherrima 9, Rhodotorula glutinis 3, Saccharomyces cerevisiae (36) y Schizosaccharomyces pombe 1. Discos de micelio de los patógenos se sembraron en el centro de placas de Petri con medio Papa Dextrosa Agar. Las levaduras (10 µL; 10⁸ cel/mL) se sembraron en forma equidistante alrededor del fitopatógeno. Las placas se incubaron 10 días a 25°C, en oscuridad. La actividad antagonista se registró de la siguiente forma: ausencia de antagonismo, inhibición por contacto, inhibición a distancia.

Resultados:

Se obtuvieron 10 aislamientos del género Fusarium, 7 a partir de bulbos con síntomas de podredumbre blanda (BC9, BC10, BC11, BC12, BC13, BC14, BC19) y 3 de semillas de cebolla (BC1, BC15 y BC20). La acción antagonista de las levaduras frente a los patógenos evidenció, en orden decreciente, el siguiente grado de sensibilidad: Fusarium BC19 (inhibido a distancia por 31 levaduras)>BC14 (28)>BC10 (26)>BC11 (25)>BC1, BC9, BC12 (24)>BC13 (21)>BC15 (14)>BC20 5, siendo éste último el más resistente a la acción biosupresora de las levaduras. Todas las levaduras S. cerevisiae inhibieron a distancia a 4 o más aislamientos fúngicos. De éstas, S. cerevisiae PB70 y BSc56, redujeron el crecimiento micelial de todos los fitopatógenos ensayados, in vitro. De las especies restantes, sólo M. pulcherrima inhibió a Fusarium (BC1, BC11, BC19).

Conclusiones:

Levaduras nativas de la especie S. cerevisiae pueden ser potenciales agentes de biocontrol de Fusarium sp., lo que permitirá disminuir las pérdidas ocasionadas por este patógeno en diferentes estados de desarrollo del cultivo de cebolla.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM DE MICROBACTERIUM OXYDANS AE038-20 PARA LA RETENCIÓN DE ESPECIES DE ARSÉNICO

SPUCHES, Florencia Cecilia¹ | SALES, Adriana M.2 | GALVÁN, Adriana Emilce¹ | CHÁVES, Silvina³ | ROMERO, Cintia Mariana¹ | FERRERO, Marcela⁴

PLANTA PILOTO DE PROCESOS INDUSTRIALES MICROBIOLÓGICOS (PROIMI)-CONICET TUCUMÁN. 1; FACULTAD DE BIOQUIMICA, QUIMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMAN. 2; INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN MEDICINA MOLECULAR Y CELULAR APLICADA (IMMCA-CONICET) 3; YPF TECNOLOGÍA (Y-TEC)-CONICET 4

Introducción y Objetivos:

El arsénico (As) es un elemento altamente tóxico, distribuido en diversos ambientes y sujeto a una amplia gama de transformaciones biogeoquímicas que implican numerosas bacterias. La habilidad de los microorganismos de congregarse en biofilms presenta ventajas respecto de los cultivos planctónicos. Entre dichas ventajas, la tolerancia a compuestos tóxicos y su capacidad de retención/transformación es de interés biotecnológico para su aplicación en biorremediación. Estudios preliminares determinaron que *Microbacterium oxydans* AE038-20 es capaz de formar biofilm, metabolizar compuestos orgánicos del As y de oxidar parcialmente As(III) a As(V). El objetivo de este trabajo fue optimizar la producción de biofilm en *Microbacterium oxydans* AE038-20.

Materiales y Métodos:

Para la optimización del medio de cultivo se utilizó el software MINITAB 17. Los factores estudiados fueron: peptona de carne, tripteína, glicerol, glucosa, KNO₃ y MnCl₂. La variable respuesta ensayada fue el peso seco del biofilm. Tanto el biofilm obtenido como sus componentes fueron caracterizados mediante microscopía electrónica de barrido con detector EDS (SEM-EDS), Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR) y, se determinó la presencia y cinética de producción de proteínas estructurales del tipo amiloidea por fluorescencia utilizando tioflavina-T (Th-T). Además, en el biofilm se evaluó la capacidad de absorción de As total, realizando una cinética de adsorción durante 5 días. La concentración de As fue determinada por Espectrometría de Absorción Atómica con Vaporización Electrotérmica (ETAAS) y por SEM-EDS.

Resultados:

El análisis de los resultados del diseño experimental, determinó la composición del medio de cultivo optimizado de la siguiente manera: NaCl (5 g/l), extracto de levadura (2,5 g/l), peptona de carne (15 g/l), MnCl₂ 200 mM, glicerol 2%. El biofilm obtenido observado por SEM mostró presencia de células microbianas embebidas en exopolisacárido (EPS), formaciones fibrilares y formación estructurales en

redes. Además, se evaluó la presencia de proteína amiloidea mediante una cinética de producción observando una disminución de fluorescencia durante el tiempo de maduración del biofilm, indicando saturación de los sitios de unión cross- β . Mediante ETAAS se observó una disminución en la concentración de arsénico en un agua arsenical con 795 mg/l en el T0 de tratamiento a una concentración de 533 mg/l en el T5, aproximadamente una reducción del 33%. La presencia de As en el biofilm se determinó por SEM-EDS observando un incremento en la presencia de As a medida que aumentó el tiempo de contacto con el agua arsenical.

Conclusiones:

De esta manera, se optimizó por primera vez la producción de biofilm en una cepa de *Microbacterium oxydans*. El biofilm demostró capacidad de retención de As, el cual podría estar adsorbido en los componentes del mismo y potencialmente biotransformado (hipótesis a demostrar mediante ensayos de especiación) considerando que este microorganismo tiene la capacidad de oxidar As.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

APORTES EN LA ELUCIDACIÓN DE LA RESPUESTA PROMOVIDA POR GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS COMO BIOCONTROLADOR DE RALSTONIASOLANACEARUM GMI1000

SREBOT, María Sol 1 | RODRIGUEZ, María Victoria1 | ANSALDI, Nazarena1 | TANO, Josefina2 | CARRAU, Analía2 | FERNANDEZ, Armando Eduardo1 | MARTÍNEZ, María Laura1 | CORTADI, Adriana Amalia1 | ORELLANO, Elena Graciela2

FARMACOBOTÁNICA, ÁREA BIOLOGÍA VEGETAL-CONICET, FACULTAD DE CS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNR 1; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR)

Introducción y Objetivos:

Gluconacetobacter diazotrophicus (Gd) es una bacteria endófito promotora del crecimiento vegetal (PGPBEs). La asociación planta-PGPBE beneficia a la planta hospedadora mediante la fitoestimulación, biofertilización y protección contra patógenos. *Ralstonia solanacearum* (Rso) es la bacteria responsable de la marchitez bacteriana en tomate, y causa enormes pérdidas económicas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción de GdPAL5 como agente de biocontrol evaluando los mecanismos antagonistas de esta bacteria durante el estrés biótico producido por Rso GMI1000.

Materiales y Métodos:

La motilidad bacteriana es de importancia en el proceso de colonización de la planta por parte del

endófito, por eso se ensayaron las motilidades tipo swimming, swarming y twitching en placas de Petri con medio LGI-P con concentraciones diferentes de agar y se observó la migración de las bacterias y la morfología de los bordes de las colonias. Los ensayos de biocontrol se realizaron mediante estudios in vivo e in vitro. Plantas de *Arabidopsis thaliana* Col0 se inocularon con 10⁶ UFC/mL de Gd, luego de 3 semanas, se inocularon por raíz con 10⁶ UFC/mL de Rso. Luego de 12 días: I- Las plantas se esterilizaron superficialmente y extractos de los distintos órganos se sembraron en medios selectivos para cada bacteria. II- Se tomaron muestras a distintos días post inoculación con Gd y Rso, se fijaron en FAA, cortaron y tiñeron con safranina-fastgreen y azul de toluidina (1%). III- Se cuantificó colorimétricamente el contenido de clorofila a y clorofila b en hojas de plantas sometidas a distintos tratamientos. Además, se buscaron posibles compuestos antimicrobianos mediante experimentos in vitro ensayando la actividad antibacteriana de fracciones de cultivo de la bacteria endófito (medio extracelular, contenido celular y cultivo bacteriano), con la técnica de superposición con softagar.

Resultados:

Bajo las condiciones ensayadas Gd presentó motilidad tipo swarming, que le permite una migración rápida y coordinada, que junto a la producción de exopolisacáridos juegan un rol sustancial en la interacción con la planta. Los ensayos de biocontrol in vivo muestran: a) estructuras anatómicas del tallo más conservadas en plantas con Gd evidenciándose aumento de xilema, mayor lignificación y mayor cantidad de tejido esclerosado entre los haces vasculares; b) técnicas histoanatómicas y los resultados de recuentos bacterianos revelaron mayor proliferación del fitopatógeno en plantas no tratadas con Gd; c) A su vez, se observó una concentración menor de pigmentos en plantas no inoculadas con Gd. En los ensayos in vitro se evidenció actividad antagonista de la fracción celular del cultivo de Gd contra Rso.

Conclusiones:

Los resultados del presente trabajo muestran que Gd coloniza las plantas de *A.thaliana* ejerciendo un rol protector frente a Rso.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS SUPERÓXIDO DISMUTASAS EN AISLAMIENTOS ALTOANDINOS DEL GÉNERO ACINETOBACTER

STEIMBRUCH, Bruno | SARTORIO, Mariana | DI CAPUA, Cecilia | REPIZO, Guillermo | CORTEZ, Nestor

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO IBR (CONICET & UNR)

STEIMBRUCH, Bruno | SARTORIO, Mariana | DI CAPUA, Cecilia | REPIZO, Guillermo | CORTEZ, Nestor
INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO IBR (CONICET & UNR)

Introducción y Objetivos:

Las Lagunas de Altura de la Puna Andina (LAPA's) se encuentran en el noroeste de Argentina y se caracterizan por estar expuestas a una alta intensidad de radiación UV, amplias fluctuaciones térmicas y por presencia de metales pesados como arsénico. *Acinetobacter* sp. Ver3 es un poliextremófilo aislado de las LAPA's que presenta resistencia a la radiación UV y a pro-oxidantes como H₂O₂ y metilviológico (MV). El análisis del genoma secuenciado de Ver3 reveló la existencia de dos genes codificantes para actividad superóxido dismutasa (SOD): una citosólica de tipo Fe/Mn (SodB) y otra de tipo Cu/Zn (SodC) que posee un péptido señal de direccionamiento a periplasma.

Materiales y Métodos:

Los genes codificantes para SODs de tipo Fe/Mn (sodb) y CuZn (sodc) de *A. ver3* fueron amplificados por PCR y clonados en vectores de expresión de la serie pET para la posterior caracterización de las proteínas recombinantes. Para evaluar el contenido de metal de FeMnSOD, se realizaron medidas por ICP-MS en LB y BM2 junto con ensayos de inhibición con H₂O₂. Mediante el uso de anticuerpos policlonales se evaluó la expresión de sodb en respuesta a diferentes condiciones de estrés. El gen sodc junto con su región promotora fue amplificado por PCR y posteriormente clonado en el vector pMBLe. Para evaluar su respuesta frente a agentes prooxidantes mediante recuento de UFC, se utilizó como modelo de estudio cepas *A. baylyi* ADP1 transformadas con pMBLeSOD. Las mismas fueron crecidas en LB hasta alcanzar una DO de 0.6 para luego ser tratadas con agentes prooxidantes como MV, H₂O₂ y Riboflavina + TEMED como agente generador de O₂⁻ en presencia de luz.

Resultados:

Si bien estudios filogenéticos ubican a SodB dentro del grupo de las SODs de tipo Fe, las medidas de contenido metálico en la proteína recombinante, por ICP-MS de indicaron que el contenido de Mn⁺⁺ aumenta considerablemente si este se suplementa a BM2 con el metal, sugiriendo así que se trata de una SOD de tipo cambialística. El gen sodC conteniendo 300 pb corriente arriba fue amplificado por PCR y clonado en el vector pMBLe replicativo para *Acinetobacter*, obteniéndose el plasmido pMSodC. Células de *A. baylyi* ADP1 transformadas con pMSodC se hicieron crecer en LB y fueron tratadas con MV, H₂O₂ y Riboflavina + TEMED, siendo este último un agente generador de O₂⁻; extracelular en presencia de luz. ADP1 transformada con pMSodC presentó un mayor desarrollo con respecto a la cepa control frente al agregado de Riboflavina + TEMED indicando la función de SodC en la defensa frente al superóxido extracelular.

Conclusiones:

Acinetobacter sp. Ver3 posee dos superóxido dismutasas (SODs). Una enzima es del tipo Fe/Mn y posee carácter cambialístico, modificando su contenido metálico en función de la oferta del medio de cultivo. Funciona detoxificando el superóxido intracelular subproducto de la respiración aeróbica. La otra SOD es del tipo Cu.Zn y de localización periplásmica. Su función detoxificadora es manifiesta ante la presencia de superóxido extracelular. La presencia de SodC en *A. baylyi* ADP1 otorga a la célula huésped una mayor velocidad de crecimiento en aerobiosis.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

EVALUACIÓN DE AGENTES CON POTENCIAL PARA EL CONTROL DE CRECIMIENTO“IN VITRO” DE ALTERNARIA ALTERNATA

STOCCO, Antonella¹ | TAPIA, Estefania² | DIAZ, Mariano¹ | LERENA, Cecilia¹ | MERCADO, Laura³ | PONSONE, Lorena

EEA MENDOZA INTA-CONICET¹ ; FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNCUYO ² ; EEA MENDOZA INTA.FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNCUYO ³; FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES (FCENUNCUYO)Y CONICET

Introducción y Objetivos:

Vitis vinifera cv. Red Globe es una de las variedades de uva de mesa más cultivada y exportada de Argentina. Su calidad puede verse afectada por una amplia gama de factores físicos y biológicos que limitan el ingreso a los mercados de exportación. A nivel mundial, se considera que las mayores pérdidas en postcosecha se producen por enfermedades ocasionadas por patógenos fúngicos, siendo en general de 5-25% del total de la producción, pudiendo alcanzar hasta el 50%. La presencia de Alternaria spp., principalmente A. alternata, ha sido observada durante postcosecha en uvas de mesa cv. Red Globe de Mendoza, Argentina. El tratamiento comercial usado para la conservación de uva de mesa es la aplicación de generadores de dióxido de azufre (SO₂), pero su uso es cada vez más cuestionado porque sus residuos pueden causar reacciones alérgicas en los consumidores.

Materiales y Métodos:

El objetivo de este estudio fue determinar, en ensayos "in vitro" usando un medio base de agar mosto al 3%, los efectos de distintas actividades de agua (0.88, 0.95 y 0.991), de temperaturas (0, 4, 15 y 28 °C) y de sus interacciones con los posibles agentes de control biológico, Metschnikowiapulcherrima RCM2 (104 y 106 cel mL⁻¹) y quitosano (0,5 y 1 % v v⁻¹), en la fase de latencia y en la velocidad de crecimiento de una cepa de A. alternata aislada de uvas de mesa en la provincia de Mendoza

Resultados:

Analizando el crecimiento de A. alternata, a 0.88 de aW no hubo desarrollo del patógeno en ninguna de las temperaturas evaluadas. La velocidad de crecimiento y la fase de latencia de A. alternata se vieron significativamente influenciadas por todas las interacciones evaluadas (p<0.05), siendo las condiciones menos favorables para el desarrollo del hongo las temperaturas y actividades de agua más bajas. Los porcentajes más elevados de reducción del crecimiento del hongo se observaron al aplicar RCM2 106 cel mL⁻¹, siendo superiores al 86% a 0 °C y del 100% a las demás temperaturas. La aplicación de la mayor concentración de quitosano también arrojó resultados alentadores al reducir dicho crecimiento en ≥48% para todos los casos.

Conclusiones:

En función de los resultados obtenidos se puede concluir que ambos agentes son efectivos para el control del crecimiento de A. alternata "in vitro". Queda por delante la evaluación de ambos agentes de control en ensayos "in vivo" en uva de mesa conservada a 0 °C e inoculada artificialmente con A. alternata

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

PRODUCCIÓN DE BIOPOLÍMEROS CON POTENCIAL USO BIOTECNOLÓGICO UTILIZANDO PEDIOCOCCLUS PENTOSACEUS SLF-4 EN PRESENCIA DE DIFERENTES FUENTES DE CARBONO

TABARES, Emilce Laura 1 | BONILLA, José Oscar² | MASUELLI, Martín Alberto¹ | VILLEGAS, Liliana Beatriz²

FACULTAD DE QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS 1; INSTITUTO DE QUÍMICA DE SAN LUIS (INQUISAL), CONICET. FQBYF, UNSL. 2

Introducción y Objetivos:

Los polisacáridos naturales son compuestos de interés creciente en la industria alimenticia. Una fuente natural de polisacáridos de interés biotecnológico, como los Exopolisacáridos (EPSs), son los procesos fermentativos generados con microorganismos del género *Pediococcus*. Estos polímeros exhiben una amplia variedad de estructuras químicas complejas, funciones fisiológicas y un amplio rango de potenciales aplicaciones. Por estos motivos, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la producción de EPSs por parte de *Pediococcus pentosaceus* SLF-4, a distintos tiempos de incubación y en presencia de diferentes fuentes de carbono.

Materiales y Métodos:

La bacteria láctica *P. pentosaceus* SLF-4 fue aislada e identificada a partir de sedimentos de una zona industrial en la Provincia de San Luis, Argentina. Este microorganismo se cultivó en 50 mL de Medio LB (g L⁻¹: Extracto de levadura 5,0; NaCl 5,0; Peptona de Carne 10,0) a 30°C y 200 rpm, con una concentración inicial de 1x10⁶ células mL⁻¹, durante 48 o 96 h. La biomasa se separó por centrifugación a 15.000 xg durante 5 min. El pellet celular se lavó dos veces con H₂O bidestilada y se determinó su contenido por peso seco a 65°C durante 24 h. El sobrenadante libre de células se colocó en proporción 1:3 con Etanol al 96% e incubó a 4°C durante al menos 12 h. Luego, se precipitó el contenido de EPSs a 4.500 xg, 25 min y 4°C. El pellet obtenido se lavó dos veces con Etanol al 80% frío, se resuspendió en H₂O bidestilada y su contenido se determinó por peso seco. Tras seleccionar el tiempo de mayor producción, este mismo procedimiento se llevó a cabo utilizando Medio LB suplementado con 10 g L⁻¹ de Lactosa (LB-Lactosa) o Sacarosa (LB-Sacarosa). Cada ensayo se realizó por triplicado.

Resultados:

Los contenidos de biomasa y EPS obtenidos en medio LB basal a las 48 h y a las 96 h no mostraron diferencias significativas entre sí. Por este motivo, se decidió evaluar el rendimiento en la producción de EPSs a las 48 h de cultivo, añadiendo diferentes fuentes de carbono. La biomasa obtenida no varió al suplementar el medio con Lactosa o Sacarosa, obteniéndose 0,1 g L⁻¹ en todos los casos. Por otro lado, la producción de EPS en Medio LB fue de 300 ± 0 mg L⁻¹, mientras que se obtuvieron 400 ± 0 mg L⁻¹ en Medio LB-Lactosa y 390 ± 20 mg L⁻¹ en Medio LB-Sacarosa. Como se puede observar, se encontraron diferencias significativas en la producción de EPS entre el medio basal y los medios suplementados, obteniéndose un rendimiento 25% mayor con el agregado de disacáridos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas al añadir un disacárido o el otro.

Conclusiones:

Estos resultados muestran que la producción de EPS por *P. pentosaceus* aumenta 25% al adicionar 1% de un disacárido al medio de cultivo, aun cuando el crecimiento celular es constante. Debido a su

buen rendimiento, es una cepa de gran interés para estudios fisicoquímicos de polisacáridos con potencial uso biotecnológico.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

EFECTO DE RAPD EN EL DESARROLLO DE LA MATRIZ DEL BIOFILM DE RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. VICIAE 3841

TARSITANO, Julián 1 | RUSSO, Daniela1 | ALONSO, Leonardo2 | ZORREGUIETA, Angeles1

IIBBA-CONICET Y FUNDACION INSTITUTO LELOIR 1; NANOBIOTEC Y CONICET-UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES 2

Introducción y Objetivos:

Rhizobium leguminosarum produce un polisacárido ácido que queda en parte retenido sobre la célula como polisacárido capsular (CPS) y que mayormente se libera al medio extracelular como exopolisacárido (EPS). Las proteínas de la familia Rap, secretadas por el sistema de secreción tipo I PrsDE participan en la formación de un biofilm maduro, procesando las cadenas de polisacárido o afectando las propiedades adhesivas de la bacteria. Comparten al menos un dominio Ra (por Rhizobium adhering) y con excepción de RapA2 (formada únicamente por dos dominios Ra) poseen otro dominio específico. En estudios previos demostramos que RapA2 es una lectina que une calcio capaz de interactuar específicamente con el CPS y el EPS de R. leguminosarum, indicando que uno o ambos dominios Ra exhiben actividad de lectina. Además, la ausencia o el aumento de RapA2 en el medio extracelular modificaron las propiedades de la matriz del biofilm. Por otro lado, RapD, posee un dominio Ra con mayor similitud al segundo dominio Ra (Ra2) de RapA2 y un dominio específico C-terminal de función desconocida. Nuestra hipótesis es que la interacción de RapD con el CPS y/o EPS, a través del dominio Ra2 cumple una función en la modulación de la estructura de la matriz del biofilm. El objetivo de este estudio es comprender la función de RapD en el desarrollo del biofilm.

Materiales y Métodos:

Utilizando R. leguminosarum bv. viciae 3841 como modelo se generó una cepa mutante por delección del gen rapD así como también una doble mutante "Delta"rapD y "Delta"rapA2. Se analizó mediante ELISA la interacción entre RapD recombinante y el EPS proveniente de distintas cepas así como la dependencia del calcio en esta unión. Los perfiles del EPS producido por los diferentes contextos genéticos se analizaron por HPLC, utilizando una columna Superosa 6 HR 10/30. Se estudió la capacidad de RapD recombinante de formar estructuras multiméricas mediante SLS.

Resultados:

RapD recombinante fue capaz de interactuar con el EPS en presencia de calcio. Además, la ausencia de RapA2 extracelular en la preparación (cruda) de EPS afecta la interacción entre RapD y el EPS. Más aún, el EPS producido por la doble mutante "Delta"rapD "Delta"rapA2 mostró un perfil diferente en comparación con el EPS proveniente de las simples mutantes. Estas observaciones indican una interacción funcional entre ambas proteínas Rap. Por último, RapD fue capaz de formar

estructuras multiméricas en presencia de calcio, lo cual sugiere que RapD, a diferencia de RapA2, se une al EPS como multímero.

Conclusiones:

RapD es una lectina extracelular que se secreta junto a otras Rap(s) a través del sistema PrsDE; tiene la propiedad de interactuar con el EPS en presencia de calcio, probablemente a través del dominio Ra2. Como resultado de esta interacción y la influencia de RapA2, la estructura del EPS se ve alterada. Estas observaciones abren interesantes interrogantes en cuanto a la función de proteínas extracelulares asociadas a la matriz de un biofilm.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

EVALUACIÓN DE LA VARIACIÓN EN LA EXPRESIÓN DE FACTORES DE VIRULENCIA IMPLICADOS EN LA PATOGENICIDAD DE YERSINIA ENTEROCOLITICA TRATADAS CON NANOPARTICULAS DE PLATA

TORANZO, Araceli 1 | PAEZ, Paulina2 | LUCERO ESTRADA, Cecilia3

MIBIO - CONICET 1; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET 2; ÁREA DE MICROBIOLOGÍA. FQBYF. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS. / IMIBIO - CONICET 3

Introducción y Objetivos:

Yersinia enterocolitica está ampliamente distribuida en el medio ambiente y en las poblaciones animales, lo que representa una fuente potencial de infección para los humanos. El principal reservorio de cepas patógenas para humanos es el cerdo. De entre los 6 biotipos conocidos, las cepas que pertenecen a los biotipos 1B y 2 a 5 son patógenas para animales y humanos. A pesar de no poseer los marcadores de virulencia tradicionales, cepas del biotipo 1A han sido aisladas como único agente causal de infecciones gastrointestinales. La patogenicidad de *Y. enterocolitica* depende de la presencia de varios factores de virulencia que facilitan que las bacterias ingresen a un organismo susceptible, lo colonicen, evadan el sistema inmunológico y crezcan en condiciones desfavorables. Previamente, observamos que nanopartículas de plata (NPsAg) fitosintetizadas con extracto acuoso de *Bothriochloa laguroides* tuvieron actividad antibacteriana y antibiofilm contra cepas de *Y. enterocolitica*. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar si existe variación en la expresión de genes de virulencia.

Materiales y Métodos:

. Se utilizaron dos cepas de diferentes bio/serotipos: *Y. enterocolitica* 1B/O:8 (8081) e *Y. enterocolitica* 1A/O:5 (ME110). Los genes analizados para la cepa 8081 fueron *virF*, *ail*, *inv*, *yenI* e *yst*, mientras que para la cepa ME110 fueron *yenI* e *yst* debido a que los demás genes no se encuentran en esta cepa. Las cepas se hicieron crecer en caldo tripticosa soja adicionado con 0,25% de glucosa (CTSG)

por 24 h a 25 °C con una dilución 1/256 de NPsAg, luego se procedió a realizar la extracción de ARN con Trizol. Se extrajo el ARN tanto de células planctónicas como sésiles. El ARN fue cuantificado a 260/280 nm. La síntesis de ADNc se llevó a cabo con 200 U/µl de la enzima retrotranscriptasa M-MLV. Para realizar la cuantificación relativa, la expresión de los genes fue normalizada con el gen constitutivo 16S ARNr usando el software ImageJ 1.5.

Resultados:

Con la cepa 8081 se observó una disminución en la expresión del gen *inv* (que codifica para la proteína invasina, la cual promueve la adhesión) en células sésiles tratadas con NPsAg. Con la cepa ME110 no se observó variación en la expresión de los genes estudiados luego del tratamiento.

Conclusiones:

La disminución de la capacidad de formar biofilms de la cepa 8081 luego del tratamiento con NPsAg podría deberse a una disminución en la expresión de *invasina*, con la consiguiente disminución en la adhesión de las células

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIBIOFILM DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOSINTETIZADAS CON EXTRACTO ACUOSO DE BOTHRIOCHLOA LAGUROIDES CONTRA CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

TORANZO, Araceli 1 | PAEZ, Paulina² | LUCERO ESTRADA, Cecilia³ IMIBIO - CONICET 1; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET 2; ÁREA DE MICROBIOLOGÍA. FQBYF. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS / IMIBIO - CONICET 3

MIBIO - CONICET 1; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET 2; ÁREA DE MICROBIOLOGÍA. FQBYF. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS / IMIBIO - CONICET 3

colonizando la piel y las mucosas de los seres humanos. Causa diversas afecciones que van desde infecciones cutáneas hasta otras más graves que pueden ser letales, es el principal causante de infecciones nosocomiales. *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) es de gran preocupación debido a su alta mortalidad luego del fracaso del tratamiento, aunque el término resistencia a meticilina incluye resistencia a derivados βlactámicos, las cepas SARM presentan, en general, resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos, por lo cual la resistencia antimicrobiana de este patógeno constituye un desafío terapéutico importante. Los objetivos de este trabajo fueron determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) de las nanopartículas de plata (NPsAg) en células planctónicas, como así también determinar si estas NPsAg son capaces de erradicar el biofilm o de inhibir su formación en cepas de *S. aureus*.

Materiales y Métodos:

Se utilizaron dos cepas: *S. aureus* meticilino sensible ATCC 29213 y *S. aureus* meticilino resistente

ATCC 43300. La CIM y CBM se determinaron mediante la técnica de microdilución en caldo de acuerdo con las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). La CIM del biofilm (CIMB) se determinó mediante la técnica de cristal violeta (CV) en caldo tripticasa soja suplementado con 0,25% glucosa (CTSG). Se realizaron diluciones seriadas 1/2 de NPsAg en placas de 96 pocillos de poliestireno (PE) y se añadió el inóculo a una DO610 de 0,05 en un volumen final de 200 µl. Se incubó durante 24h a 25°C. Para determinar la concentración mínima de erradicación del biofilm (CEMB), primero se preparó el inóculo como en CIMB y se incubaron 100 µl en un pocillo de placas PE a 25°C durante 24 h, luego se descartó el sobrenadante y se agregaron las diluciones seriadas a 1/2 de las NPsAg, se llevó a incubar nuevamente a 25°C por 24 h y luego de ese tiempo se procedió a revelar con CV.

Resultados:

Los valores de CIM correspondieron a las diluciones 1/32 para *S. aureus* ATCC 43300 y 1/64 para *S. aureus* ATCC 29213; mientras que los valores de CBM correspondieron a 1/16 y 1/32, respectivamente. La CIMB se obtuvo en la dilución 1/16 para las dos cepas estudiadas. No se logró erradicar el biofilm de ninguna de las dos cepas a las concentraciones estudiadas.

Conclusiones:

Las NPsAg fueron efectivas tanto para tratar las células planctónicas como sésiles de las cepas de *S. aureus*, pero se necesitó una mayor concentración tanto para inhibir el crecimiento de la cepa resistente a la metilicina como para matarla. Por otro lado no hubo diferencia en la concentración de NPsAg necesaria para inhibir la formación de biofilm en ambas cepas. No se observó una erradicación del biofilm frente al tratamiento con NPsAg. Estos resultados sugieren que las NPsAg podrían usarse en un futuro para prevenir la formación del biofilm de este patógeno.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

DESARROLLO DE ESTRATEGIAS PARA EL BIOCONTROL DE HONGOS FITOPATOGENOS MEDIANTE EL USO DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y NANOPARTICULAS METALICAS BIOGENICAS A PARTIR DE TRICHODERMA HARZIANUM

TORRES NICOLINI, Andrés¹ | PARISE, Alejandro Ruben² | ALVAREZ, Vera¹ | CONSOLO, Veronica Fabiana³

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES (INTEMA-CONICETUNMDP)¹; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL P²; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIODIVERSIDAD Y BIOTECNOLOGIA INBIOTEC-CONICET/FIBA³

Introducción y Objetivos:

Los hongos del género *Trichoderma* son microorganismos de suelo que se caracterizan por ser agentes de biocontrol, promover el crecimiento vegetal, secretar enzimas y metabolitos secundarios. Recientemente se ha descrito que algunas cepas reducen metales generando nanopartículas. Tanto los metabolitos secundarios como las nanopartículas poseen propiedades químicas y biológicas de interés para aplicaciones médicas, farmacéuticas o agrícolas. La búsqueda de alternativas innovadoras para el control de microorganismos fitopatógenos es un área que debe ser explorada. El objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar metabolitos secundarios y nanopartículas a partir de una cepa nativa de *Trichoderma* y evaluar su capacidad de biocontrol.

Materiales y Métodos:

Se cultivó el hongo durante 7 días a 24 °C en medio líquido y con agitación constante. Posteriormente, se separó la biomasa fúngica y se trabajó con el caldo de cultivo. Para la obtención de metabolitos, el filtrado del cultivo se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se desecaron con Na₂SO₄ y se evaporaron en rotavapor bajo presión reducida a 40 °C. El residuo obtenido se resuspendió en etil acetato: metanol (10: 1 v/ v) y fue sometido a cromatografía de capa fina en sílica gel utilizando fases móviles de diferente polaridad (hexano, hexano: etil acetato 1:1 y metanol: acetato 10:1). Los compuestos se revelaron por radiación UV. Para la síntesis de nanopartículas, la biomasa fúngica (20 g) fue lavada y transferida a un erlenmeyer con agua estéril durante 24 h a 24 °C con agitación. Se separó la biomasa por filtración y se recogió el filtrado. Las nanopartículas se sintetizaron agitando soluciones de A-gNO-3 (1 y 3 mM) con el filtrado en oscuridad a 40 °C y pHs entre 6 y 11. Las nanopartículas formadas se separaron por centrifugación. Tanto los extractos como las nanopartículas secas se utilizaron para evaluar su efecto de biocontrol sobre los fitopatógenos *Alternaria*, *Cercospora*, *Dreschleray* *Pyricularia* sp. Para ello éstos hongos fueron crecidos en medio PDA suplementado con 0, 5, 5 y 10 % de los extractos y las nanopartículas en experimentos independientes.

Resultados:

El fraccionamiento cromatográfico de los extractos mostró una mezcla de compuestos que deberá ser indentificado. La síntesis óptima de nanopartículas fue con solución 3 mM de A-gNO-3y pH 11, observándose su formación a partir de los 30 min de incubación. El tamaño medio de partículas fue de 150 - 200 nm. El extracto orgánico incorporado al medio de cultivo en concentraciones del 5-10% inhibió el crecimiento los cuatro patógenos ensayados entre 10-30%. De la misma manera, se redujo el crecimiento de éstos hongos entre 20-30% en el medio de cultivo suplementado con 1% de nanopartículas. Ninguno de los compuestos mostró toxicidad para la cepa de *Trichoderma*.

Conclusiones:

Estos resultados apuntan al desarrollo de formulaciones de agroinsumos tecnológicamente novedosas para el control de enfermedades fúngicas.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

DIAGNÓSTICO MOLECULAR ETIOLÓGICO DEL SÍNDROME DE ÚLCERA GENITAL EN ARGENTINA. PERÍODO 2005-2019

TOUZON, Maria Sol 1 | DÍAZ, Mónica Roxana1 | CAÑETE, Gustavo2 | SCARONE, Nahuel2 | SLY, Gabriela2 | MORALES, María Del Carmen2 | MANIAS, Valeria2 | LAURA, Picolli2 | SCOCOZZA, Laura2 | BUSCEMI, Luis2 | MARRERO, Marcela2 | GALARZA, Patricia1

SERVICIO ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL, LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA. INEIANLIS 1; RED NACIONAL DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL 2

Introducción y Objetivos:

Los patógenos más frecuentemente asociados con el síndrome de úlcera genital (SUG) son *Treponema pallidum* (Tp), Herpes Simplex Virus (HSV) y *Haemophilus ducreyi* (Hd). El objetivo de este estudio fue determinar la etiología de úlceras genitales (y otras lesiones relacionadas) en pacientes con sospecha clínica de sífilis, derivados al laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades de Transmisión Sexual en Argentina.

Materiales y Métodos:

Todas las muestras provenientes de úlceras o lesiones relacionadas fueron tomadas con hisopos, a partir de los cuales se extrajo ADN para la detección de Tp y HSV por una técnica de PCR in house, y, en los casos con sospecha clínica y/o epidemiológica de chancroide, se evaluó también la presencia de Hd por PCR in house. Se determinó el status serológico para sífilis y VIH. Se realizó la detección de Tp por microscopía de campo oscuro (CO) cuando las características de la úlcera lo permitieron. En los casos Tp positivos (CO y/o PCR), se realizó la genotipificación de las cepas mediante secuenciación del gen tp0548 definiendo 8 variantes alélicas designadas con letras a-h y se evaluó la resistencia a Macrólidos por secuenciación del gen ARNr 23S, analizando la presencia de las mutaciones descriptas A2058G y/o A2059G.

Resultados:

Se estudiaron 281 muestras que correspondían a 275 pacientes del período 2005-2019: 247 (87,9%) úlceras genitales, 14 (5%) lesiones orales, 10 (3,5%) condilomas lata, 5 (1,8%) úlceras anales, 3 (1,1%) lesiones de tronco y 2 (0,7%) de biopsia de hueso frontal craneal de 2 pacientes. La edad media de los pacientes fue 28 años, 227 (80,8%) eran de sexo biológico masculino y 54 (19,2%) femenino. Once pacientes fueron VIH+. El diagnóstico molecular de SUG fue alcanzado en 152/281 casos: 84 (55,3%) resultaron Tp positivos, de los cuales 78,8% eran úlceras genitales, 9,9% condiloma lata, 8,5% lesiones orales y 2,8% lesiones en cráneo; 76 (54%) resultaron HSV positivos, de los cuales 93% eran úlceras genitales, 4% úlceras anales, 3% lesiones orales. Catorce de los 152 (10,3%) presentaban coinfección Tp y HSV. En ningún caso se detectó la presencia de Hd. De los 84 pacientes con lesiones Tp+, 60 (84,5%) resultaron positivos para sífilis por serología. De 203 úlceras en las que se pudo realizar CO, 165 (81,3%) correlacionaron con el resultado de PCR para Tp. La mutación A2058G del gen ARNr 23S de Tp fue hallada en 5/49 (10,2%). De las 33 cepas en las que se analizó el gen tp0548, 18 (54,6%) fueron designadas con el alelo f, 11 (33,3%) con el d y 4 (12,1%) con el e.

Conclusiones:

Tp y HSV son una causa frecuente de SUG en Argentina. Se debe considerar la coinfección en todos los casos. La sífilis puede tener presentaciones atípicas, como ser lesiones en cráneo. Los estudios moleculares permitieron mejorar el diagnóstico de sífilis, especialmente en los casos en que no se pueden aplicar las metodologías convencionales. Se detectó un nivel elevado de resistencia a Macrólidos en las cepas analizadas. El alelo f de tp0548 fue el más frecuente.

INCORPORACION DEL PANEL MENINGITIS/ENCEFALITIS DE FILMARRAY® BIOFIRE EN EL ESTUDIO DE INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN UN HOSPITAL PEDIATRICO

TREVIÑO, Natalia | ANDERSEN, Sofia Itati | EGUIGUREN, Paula | MAYDANA, Mara | VESCINA, Cecilia | GIL, Florencia | SOSA, Fernanda | VINUESA, Marta | MORALES, Juan Carlos | ODERIZ, Sebastian

HIAEP SOR MARIA LUDOVICA, LA PLATA

Introducción y Objetivos:

Evaluar el impacto de la incorporación del Panel Meningitis/Encefalitis de FilmArray® Biofire (FA) en el estudio de líquidos ceforraquídeos (LCR) de pacientes pediátricos con sospecha de infección del sistema nervioso central (SNC).

Materiales y Métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo y descriptivo entre la Sala de Microbiología del Laboratorio Central y el Servicio de Infectología del HIAEP Sor María Ludovica durante el período abril 2017- mayo 2018. Se analizaron muestras de LCR de pacientes pediátricos (1 día -14 años) internados con sospecha de infección del SNC y solicitud de FA, el cual detecta *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, Citomegalovirus (CMV), Enterovirus (EV), Virus herpes simple 1 (VHS-1), Virus herpes simple 2 (VHS-2), Herpes virus humano 6 (HHV-6), Parechovirus humano, Virus varicela-zóster (VVZ) y *Cryptococcus neoformans/gattii*. Se consideró un LCR como positivo cuando al menos un microorganismo fue detectado por FA. Se analizaron las historias clínicas de todos los pacientes y los citofisicoquímicos (CFQ) de los LCR.

Resultados:

Se evaluaron 127 muestras de LCR (1 por paciente). En pacientes menores de 1 año el principal diagnóstico de ingreso fue síndrome febril sin foco (24/53) y en los mayores, meningoencefalitis (28/74), siendo ambos diagnósticos los que presentaron mayor número de LCR positivos (16/26 y 26/47 respectivamente). 56/127 (44%) LCR fueron positivos por FA: 84% (47/56) agentes virales (59% EV, 14% HHV-6, 3% VVZ, 2% VHS-2, y coinfecciones entre EV y VHS-6 3%, y VHS-1 y VHS-6 2%) y 16% (9/56) agentes bacterianos (14% *N. meningitidis* y 2% *S. pneumoniae*). El grado de acuerdo entre los CFQ y los resultados de FA fue moderado: de 55 LCR con CFQ patológico, 37 fueron positivos por FA (67%), y de 56 con CFQ normal, 13 fueron positivos por FA (23%): 5/13 HHV-6, 6/13 EV, 1/13 *S. pneumoniae* y 1/13 VVZ. El 90% de los pacientes estudiados, recibieron antimicrobianos (antibióticos y/o antivirales) previo al resultado del FA. En el 67% se adecuó el

tratamiento antimicrobiano basándose en el resultado de FA.

Conclusiones:

La incorporación del Panel Meningitis/Encefalitis de FilmArray® Biofire en el estudio de LCR, permitió conocer en un corto periodo de tiempo (<12 hs) los agentes causales de las infecciones del SNC adecuando el tratamiento correspondiente a partir del resultado obtenido y haciendo uso racional de antimicrobianos. Continua siendo necesaria la intervención desde la Sala de Microbiología y el Servicio de Infectología para difundir los beneficios del FA como técnica diagnóstica rápida que permite en tiempos viables, un correcto manejo del paciente con infección del SNC.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

MODULACIÓN DE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN RESPUESTA A CONDICIONES DE ESTRÉS AMBIENTAL EN SALMONELLA

TULIN, Gonzalo | SONCINI, Fernando

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR

Introducción y Objetivos:

La salmonelosis es una de las causas más comunes de intoxicación alimentaria y ocurre por ingesta de agua o alimentos contaminados con bacterias del género Salmonella. Los cuadros clínicos que caracterizan estas infecciones incluyen gastroenteritis y fiebre entérica. La supervivencia de Salmonella en el ambiente y su persistencia y transmisión entre hospedadores está fuertemente asociada a su capacidad para formar biopelículas. Para ello, las células motiles en estado libre se asocian entre sí y se adhieren a superficies sólidas, secretando compuestos que generan una matriz extracelular. Este comportamiento multicelular incrementa la resistencia del patógeno tanto a condiciones ambientales desfavorables, como a los mecanismos de defensa de los hospedadores. En enterobacterias, CsgD es el regulador maestro de la formación de biopelículas, responsable de la síntesis de la fimbria tipo curli, y de celulosa, principales componentes de matriz extracelular. Otros componentes de la matriz extracelular importantes para las biopelículas de esta bacteria son la cápsula de ácido colánico y la proteína asociada a membrana externa BapA. En este trabajo analizamos el rol de un factor de transcripción específico de Salmonella, BioR, en la transcripción de csgD y la formación de biopelículas.

Materiales y Métodos:

Utilizamos el colorante rojo congo para determinar la formación de biopelículas en medio sólido, y el colorante cristal violeta para cuantificar la producción de matriz extracelular en medio líquido. El patrón de expresión de bioR fue monitoreado en distintas condiciones de cultivo utilizando tanto fusiones transcripcionales, con los reporteros lacZ y gfp, como anticuerpos específicos, mediante Western blot. A su vez, realizamos una búsqueda de blancos regulatorios de BioR a través de una

mutagénesis al azar con el transposón MudJ.

Resultados:

Determinamos que la expresión de bioR es máxima a bajas temperaturas y en medios mínimos. Observamos que BioR es requerido para la correcta producción de curli y celulosa, y para la persistencia de las componentes de matriz extracelular como para enzimas y transportadores de membrana involucrados en diversas vías metabólicas.

Conclusiones:

Determinamos que BioR es un regulador transcripcional específico de Salmonella que modula la formación de biopelículas a bajas temperaturas y en medios carentes de nutrientes, favoreciendo la persistencia de este patógeno en condiciones ambientales extremas.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

MODULACIÓN DE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN RESPUESTA A CONDICIONES DE ESTRÉS AMBIENTAL EN SALMONELLA

TULIN, Gonzalo | SONCINI, Fernando

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO, IBR, CONICET-UNR

Introducción y Objetivos:

La salmonelosis es una de las causas más comunes de intoxicación alimentaria y ocurre por ingesta de agua o alimentos contaminados con bacterias del género Salmonella. Los cuadros clínicos que caracterizan estas infecciones incluyen gastroenteritis y fiebre entérica. La supervivencia de Salmonella en el ambiente y su persistencia y transmisión entre hospedadores está fuertemente asociada a su capacidad para formar biopelículas. Para ello, las células motiles en estado libre se asocian entre sí y se adhieren a superficies sólidas, secretando compuestos que generan una matriz extracelular. Este comportamiento multicelular incrementa la resistencia del patógeno tanto a condiciones ambientales desfavorables, como a los mecanismos de defensa de los hospedadores. En enterobacterias, CsgD es el regulador maestro de la formación de biopelículas, responsable de la síntesis de la fimbria tipo curli, y de celulosa, principales componentes de matriz extracelular. Otros componentes de la matriz extracelular importantes para las biopelículas de esta bacteria son la cápsula de ácido colánico y la proteína asociada a membrana externa BapA. En este trabajo analizamos el rol de un factor de transcripción específico de Salmonella, BioR, en la transcripción de csgD y la formación de biopelículas.

Materiales y Métodos:

Utilizamos el colorante rojo congo para determinar la formación de biopelículas en medio sólido, y el colorante cristal violeta para cuantificar la producción de matriz extracelular en medio líquido. El patrón de expresión de bioR fue monitoreado en distintas condiciones de cultivo utilizando tanto fusiones transcripcionales, con los reporteros lacZ y gfp, como anticuerpos específicos, mediante Western blot. A su vez, realizamos una búsqueda de blancos regulatorios de BioR a través de una

mutagénesis al azar con el transposón MudJ.

Resultados:

Determinamos que la expresión de bioR es máxima a bajas temperaturas y en medios mínimos. Observamos que BioR es requerido para la correcta producción de curli y celulosa, y para la persistencia de las biopelículas. Identificamos distintos genes regulados por BioR que codifican tanto para componentes de matriz extracelular como para enzimas y transportadores de membrana involucrados en diversas vías metabólicas.

Conclusiones:

Determinamos que BioR es un regulador transcripcional específico de Salmonella que modula la formación de biopelículas a bajas temperaturas y en medios carentes de nutrientes, favoreciendo la persistencia de este patógeno en condiciones ambientales extremas.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS MOLECULARES EN LOS QUE PARTICIPA EL REGULADOR DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES ACTJ/ACTK DE ENSIFER MELILOTI UTILIZANDO HERRAMIENTAS PROTEÓMICAS

VACCA, Carolina | ALBICORO, Francisco Javier | CAFIERO, Juan Hilario | VERA, Leda Mailen | LAGARES, Antonio | DEL PAPA, María Florencia

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos:

El estrés ácido presente en los suelos cultivables es uno de los principales factores que afectan el normal establecimiento y desarrollo de la simbiosis entre *E. meliloti* y alfalfa actuando en detrimento de una correcta nutrición nitrogenada de la planta. Superar dicho factor para la obtención de una simbiosis exitosa requiere del conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia a la acidez, especialmente en el rizobio que es altamente sensible al estrés ácido. Nuestro grupo de trabajo ha detectado que el regulador transcripcional ActJ y la histidina quinasa ActK están vinculados con la tolerancia a la acidez y constituyen un sistema altamente conservado en *E. meliloti* y en otras rizobacterias. El objetivo de este trabajo consistió en hallar los marcadores moleculares asociados al rol de ActJ.

Materiales y Métodos:

Se caracterizaron y compararon los proteomas de *E. meliloti* 2011 salvaje y actJ⁻ cultivadas en condiciones de pH ácido u óptimo. Se obtuvieron las proteínas citoplasmáticas y una fracción enriquecida de proteínas de membrana de cultivos rizobianos (pH 7,0 o 5,6) que se hallaban en fase

de crecimiento exponencial. La identificación y cuantificación diferencial de proteínas fue realizada utilizando un espectrómetro de masa con analizador orbitrap acoplado a un nano-HPLC (LC/MS-MS). Se utilizó un valor de $p \leq 0,05$ de un análisis por t-student para determinar si la expresión de una proteína se encontraba alterada. Para validar la posible participación de los marcadores diferenciales en la tolerancia al estrés ácido, mutantes en varios de los marcadores fueron evaluados en su capacidad de crecer en condiciones ácidas y neutras y la inducción de otros marcadores se analizó mediante fusiones transcripcionales.

Resultados:

El análisis se centró en: I) proteínas de clase I (PI), aumentadas o disminuidas en $actJ^-$ con respecto a la cepa salvaje; y II) proteínas de clase II (PII) presentes o ausentes en $actJ^-$. Del total de proteínas analizadas, se identificaron 68 PI y 32 PII en la condición óptima y 51 PI y 12 PII en la condición ácida. El análisis global de los resultados permitió evidenciar que mientras en la condición neutra las funciones metabólicas se encuentran fuertemente representadas, a pH ácido se destaca la presencia de proteínas relacionadas con biogénesis de la membrana; metabolismo y transporte de carbohidratos, aminoácidos e iones y traducción de señales. Se encontró además que en ambas condiciones NrtA y DegP1 se hallaban diferencialmente expresadas en $actJ^-$ y que ActJ podría inducir la expresión de *emrA* a pH ácido y reprimirla a pH neutro.

Conclusiones:

Este estudio ha demostrado que la aplicación de una aproximación proteómica provee no solo un conjunto de marcadores de expresión diferencial, sino la posibilidad de identificar entre ellos ciertos marcadores cuya alteración conduce a una clara disfunción fenotípica asociada al estrés en estudio y ha permitido avanzar en la construcción de una imagen de los procesos celulares en los que ActJ participa

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

SECUENCIA GENÓMICA DE LA CEPA UNQOE19 DE OENOCOCCUS OENI, LA PRIMERA SECUENCIA GENÓMICA COMPLETAMENTE ENSAMBLADA DE UNA CEPA ENOLÓGICA PSICROTRÓFICA PATAGÓNICA

VALDES LA HENS, Danay 1 | IGLESIAS, Nestor Gabriel2 | OLGUIN, Nair Tamis3 | SEMORILE, Liliana1

COMISIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (CIC)
1; CONICET 2; CONICET 3

clima frío. El uso de cultivos iniciadores para conducir la fermentación maloláctica (FML) no es una práctica habitual en las vinificaciones de vino Patagónico, el fracaso en este proceso se puede atribuir a las temperatura promedio de 14 a 10 °C durante Abril y Mayo. Un estudio previo de la diversidad de BAL de vinos patagónicos demostró una alta variabilidad de las especies de BAL

durante la FML, con un predominio de cepas de *O. oeni* y *Lb. plantarum*. Además, se ha demostrado que algunas de estas cepas se mantienen viables y realizan FML, además son capaces de implantarse en ensayos de microvinificación, durante la FML a bajas temperaturas de incubación. La capacidad de estas cepas para hacer frente a las condiciones ambientales adversas puede estar relacionada, con la expresión génica. Por tanto, se analizará la secuencia del genoma completo obtenido a partir de la cepa UNQOe19 de *O. oeni*.

Materiales y Métodos:

Se utilizaron un total de 103710 lecturas (588 veces la cobertura y una lectura de polimerasa N50 de 14765 pb), con una longitud promedio de 10359 pb y una precisión estimada del 85%, como entrada para el ensamblaje de novo con el paquete Canu. La predicción de las secuencias codificantes se realizaron con GeneMarkS. La anotación del genoma se realizó utilizando pipeline de anotación del genoma procarionta del NCBI (PGAP), y las relaciones de ontología de genes (gen ontology) se calcularon utilizando Blast2GO versión 5.1.1. El análisis de Pan-Genoma Bacteriano (BPGA) se usó para comparar la presencia / ausencia de genes en UNQOe19 con otros *O. oeni*.

Resultados:

La salida de Canu consistió en un solo contig circular sin gaps; el cromosoma (GenBank CP027431) mostró una longitud de 1826824 pb con un contenido de G + C de 37,9%. De los 1891 genes predichos, 1721 se identificaron como secuencias de ADN codificantes de proteínas, 118 pseudogenes potenciales y 52 genes codificantes de ARN (43 ARNt, 6 ARNr y 3 ARN no codificantes); estos hallazgos son comparables a los de otros *O. oeni*. En comparación con el genoma de la cepa PSU-1 de *O. oeni*, se detectaron 160 genes únicos en *O. oeni* UNQOe19. Entre ellos, 19 genes estaban relacionados con componentes celulares, 29 con procesos metabólicos, 23 con funciones moleculares, 11 con plásmidos y proteínas de transferencia por conjugación, 13 con actividades de transportador transmembrana, 21 con proteínas relacionadas con fagos y 38 con proteínas hipotéticas. Curiosamente, los seis genes restantes se relacionaron con la homeostasis y la respuesta al estrés por actividad de la oxidoreductasa.

Conclusiones:

Estos hallazgos sugieren su potencial para ser utilizado como cultivo iniciador de la FML a temperaturas ambientales inferiores a 15 °C. Una evaluación más detallada ayudará a dilucidar las bases moleculares de la capacidad de UNQOe19 para adaptarse a las condiciones estresantes del vino, incluidas las bajas temperaturas ambientales.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD FÚNGICA EN COMUNIDADES DE MUSGOS Y SUSTRATO ASOCIADO EN LA RESERVA NATURAL PUNTA LARA (BUENOS AIRES) UTILIZANDO ELECTROFORESIS EN GEL DE GRADIENTE DESNATURALIZANTE (DGGE)

**VALDÉS, Fabricio Emanuel 1 | ORTIZ, Jimena2 | DEVIA, Edgardo Agustín2 | ABARCA, Camila1
| VELAZQUEZ, Maria Silvana1 | FAGGIOLI, Valeria Soledad2 | CABELLO, Marta Noemi3**

*INSTITUTO DE BOTÁNICA SPEGAZZINI (FCNYM-UNLP-CICPBA) 1; INSTITUTO NACIONAL DE
TECNOLOGÍA AGROPECUARIA - MARCOS JUÁREZ 2; COMISIÓN DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS 3*

Introducción y Objetivos:

Los musgos y hongos asociados, presentan características colonizadoras en los ambientes disturbados. Las actividades antrópicas en áreas naturales, incluyen modificaciones en el paisaje e introducción de especies exóticas, alterando la microdiversidad vegetal presente. Este trabajo tiene como objetivo registrar la riqueza y diversidad fúngica, mediante el uso de la Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR) y electroforesis en gel de acrilamida de gradiente desnaturalizante (DGGE), asociada a comunidades de musgos presentes en selvas marginales, bosques nativos y bosques exóticos en un sector de Reserva Natural Punta Lara.

Materiales y Métodos:

La recolección de las muestras de musgos y sustrato rizosférico se realizó entre los meses de mayo y junio de 2018. Se seleccionaron sitios fisonómicos correspondientes a ambientes nativos y exóticos. El acondicionamiento de las muestras se realizó en el Instituto de Botánica Spegazzini de La Plata (Buenos Aires). En la Estación Experimental Agropecuaria INTA de Marcos Juárez (Córdoba), se realizó la extracción de ADN por Método SDS y Kit de extracción Power Soil, MoBio. Se amplificaron fragmentos ITS1/ITS4 (700pb) e ITS1-CG/ITS2 (300pb) utilizando una PCR anidada. Los productos de la PCR se corrieron en un DGGE, y se fotografió el gel en un transiluminador de UV luego de la tinción con GEL RED. El análisis de la fotografía se realizó utilizando el programa GEL COMPARE II. Se calculó el índice de riqueza específica (S) de cada muestra y el índice de diversidad de Shannon y Weaver (H). Mediante un análisis de componentes principales (ACP) y prueba T Student bilateral ($p=0,05$), se compararon las relaciones entre la riqueza y diversidad de especies, en sitios correspondientes a ambientes nativos/exóticos, y la relación entre organismos asociados a sustrato/musgo.

Resultados:

El análisis de DGGE reveló la presencia de asociados fúngicos en sustrato y musgos. Se observó un mayor número de bandas y de mayor intensidad en las muestras de sustrato en comparación a los musgos. EL ACP agrupó muestras de sustrato con mayores índices de diversidad. La prueba T Student presentó valores significativamente mayores de riqueza ($p=0,0020$) y de S-W ($p=0,0149$) en el sustrato, cuando se compararon las variable sustrato/musgo. Al incorporar la variable nativo/exótico se observaron diferencias significativas ($p=0,0276$) en los ambientes exóticos, con índices de diversidad mayores en el suelo.

Conclusiones:

En este trabajo se reporta una mayor diversidad de organismos fúngicos asociados al sustrato rizosférico de los musgos en comparación a la diversidad asociada en musgos. Estas diferencias se presentan notablemente en los ambientes exóticos, debido al establecimiento de diaspóras fúngicas por medio de plantas invasoras. El estudio de la dinámica de las comunidades fúngicas en musgos y en los sustratos asociados constituye una alternativa para realizar comparaciones entre ambientes alterados

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

DISMINUCIÓN DE LA VIABILIDAD DE AISLADOS CLINICOS DE ESCHERICHIA COLI MULTIRRESISTENTES A ANTIBIOTICOS LUEGO DEL TRATAMIENTO CON EL MONOTERPENO 1,8-CINEOL EN CRECIMIENTO PLANCTONICO Y EN BIOFILM

VÁZQUEZ, Nicolás Martín 1 | GALVAN, Estela Maria 2 | MORENO, Silvia 3

CONICET-CEBBAD, LAB. FARMACOL. BIOACTIVOS VEGETALES Y LAB. PATOG. BACTERIANA, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES 1; CONICET-CEBBAD, LABORATORIO DE PATOGÉNESIS BACTERIANA, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES 2; CONICET-CEBBAD, LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA DE BIOACTIVOS VEGETALES, UNIVERSIDAD MAIMÓNIDES

Introducción y Objetivos:

Los biofilms son comunidades bacterianas complejas adheridas a superficies bióticas y abióticas que están rodeadas por una matriz de polímeros que les otorgan propiedades fenotípicas diferenciales asociadas con una mayor resistencia a antibióticos. En particular, las infecciones ocasionadas por *Escherichia coli* multirresistentes a antibióticos (MDR) y con capacidad para producir biofilm son un grave problema dentro del ámbito de la salud. En busca de nuevas alternativas para paliar este problema, se ha reportado que diversos metabolitos secundarios vegetales son buenos candidatos como antimicrobianos para controlar infecciones causadas por bacterias MDR. En este trabajo se abordó el efecto antimicrobiano del 1,8-cineol, uno de los principales constituyentes del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, contra aislados clínicos MDR de *E. coli* uropatógenicos.

Materiales y Métodos:

Para ello, se desarrollaron cultivos planctónicos y en biofilms en medio mínimo M9 a 37°C. Se evaluó el efecto del fitoquímico durante 3 h sobre la viabilidad de células de cultivo planctónico por determinación de las unidades formadoras de colonias (UFC). Además, se investigó su efecto sobre biofilms desarrollados en placas de poliestireno de 96 pocillos durante 72 h por determinación de las UFC (viabilidad), MTS (actividad metabólica por sales de formazán) y cristal violeta (biomasa). El efecto sobre la viabilidad del biofilm se evaluó tanto en las bacterias que crecieron adheridas a la superficie como en las que se desprendieron del biofilm.

Resultados:

Los resultados de viabilidad obtenidos a nivel planctónico evidenciaron que el 1,8-cineol al 1% (v/v) luego de 1 h de tratamiento disminuyó el número de células entre 3 y 5 logs en comparación con los controles no tratados. Respecto a los biofilms, el fitoquímico a la misma concentración redujo entre 20 a 60% la biomasa del biofilm preformado, mientras que la actividad metabólica disminuyó entre 90

a 95%. Además, dicho tratamiento afectó la viabilidad bacteriana tanto en las bacterias adheridas como en las desprendidas del biofilm puesto que se encontró una reducción entre 2 y 5 logs en el número de células, en comparación con los controles no tratados.

Conclusiones:

En conclusión, en este trabajo se reportan los primeros hallazgos sobre la eficacia antimicrobiana del 1,8-cineol sobre cepas de *E. coli* multirresistentes a antibióticos. El compuesto mostró un claro efecto de disgregación del biofilm bacteriano preformado, así como actividad bactericida sobre células en estado planctónico y en biofilm. Estos nuevos resultados sugieren que el 1,8-cineol tiene un alto potencial para el tratamiento de infecciones asociadas con *E. coli* MDR

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	---

NANOPARTÍCULAS DE PLATA BIOSINTETIZADAS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA SOBRE BIOFILM DE CANDIDA TROPICALIS

VEAS, Vanina Paola 1 | GALERA, Ivana Laura Delia² | ESTEVES VIDAL, Belén³ | ALBORÉS, Silvana³ | PAEZ, Paulina⁴ | PARAJE, M. Gabriela²

CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA. 1; IMBIV-CONICET. CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA 2; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, DPTO. DE BIOCENCIAS, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR 3; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET 4

Introducción y Objetivos:

La formación de biofilm es un factor de virulencia complejo y su resistencia a los antifúngicos (ATF) frecuentemente utilizados en la clínica hace urgente la búsqueda de nuevas estrategias para combatirlos. *Candida tropicalis* es una de las especies fúngica aislada frecuentemente en Sudamérica. El uso de la nanotecnología ha sido sin dudas un factor clave en muchos campos y particularmente en la nano-medicina. La investigación en las nanopartículas (NP) como nano-antibióticos muestra resultados prometedores. Las NP obtenidas por síntesis biológica son una alternativa amigable con el ambiente y presentan interés para su exploración como posible antimicrobiano. Este trabajo estudió el efecto ATF de nanopartículas de plata (NP Ag) biosintetizadas, y fueron combinadas con Anfotericina B (AmB), un ATF utilizado para tratar infecciones por *Candida*, en busca de acciones sinérgicas.

Materiales y Métodos:

Se utilizó AmB (98% pureza), la cepa de referencia *C. tropicalis* NCPF 3111 y las NP Ag biosintetizadas a partir de *Penicillium expansum*. Se estudió la concentración inhibitoria mínima (CIM) de las NP Ag (0,42-13,5 nM) y de AmB (0,03-16 µg/ml) de acuerdo con normas del CLSI norma

M27-A3. Se combinaron diferentes concentraciones de los compuestos en placa de 96 pocillos, se cuantificó mediante la tinción con cristal violeta (CV) y lectura espectrofotométrica, y se calculó el porcentaje de reducción (%R) sobre un biofilm de 48 h.

Resultados:

Para las concentraciones ensayadas de NP Ag la CIM se determinó en 0,84 nM y en AmB fue en 0,25 µg/ml. Estudios de combinación sub CIM, CIM y supraCIM mostraron distintos %R. Los compuestos solos y su combinación mostraron los siguientes %R: 5% NP Ag (13,5 nM), 54% AmB (50 µg/ml) y la máxima reducción fue del 81% para la combinación NP Ag+AmB para estas concentraciones.

Conclusiones:

Las NP Ag biosintetizadas mejoraron la acción ATF de AmB, pudiendo ser una estrategia prometedora para el tratamiento de infecciones fúngicas resistentes por la formación de biofilm.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

CUANTIFICACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE EXPLORACIÓN LASER DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PRODUCIDA POR NANOPARTÍCULAS DE PLATA SOBRE BIOFILM FÚNGICO

VEAS, Vanina Paola 1 | QUINTEROS, Melisa² | ESTÉVEZ VIDAL, M. Belén³ | ALBORÉS, Silvana³ | PAEZ, Paulina⁴ | PARAJE, M. Gabriela²

CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA. 1; IMBIV-CONICET. CÁT. MICROBIOLOGÍA, FAC. CS. EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES, UNIV. NACIONAL DE CÓRDOBA 2; CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, DPTO. DE BIOCENCIAS, FACULTAD DE QUÍMICA, UDELAR 3; DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS. FCQ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA / UNITEFA - CONICET 4

Introducción y Objetivos:

La incidencia de las infecciones por *Candida* se ha incrementado en la última década, asociada muchas veces a la presencia de biofilms en implantes, prótesis y catéteres; agravado por la frecuente resistencia a los agentes quimioterápicos utilizados en la clínica. Se ha tratado de contrarrestar con dosis más altas de antifúngicos (ATFs) o con terapia combinada, con los riesgos de efectos adversos que esto implica. Por este motivo esta temática requiere la investigación y búsqueda incesante de nuevas drogas antifúngicas. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que nanopartículas de plata (NP Ag) biosintetizadas a partir de *Penicillium expansum* poseen actividad antibiofilm sobre *Candida tropicalis*. El objetivo de este trabajo fue profundizar dicho estudio cuantificando mediante Microscopia Confocal de Exploración Laser (MCEL) distintos parámetros de la topografía y

estructuras del biofilm tratado con estas NP solas y combinadas con Anfotericina B (AmB).

Materiales y Métodos:

Se utilizó AmB (50µg/ml), las NP Ag biosintetizadas (13,5nM) y su combinación, sobre biofilm maduro de *C. tropicalis* NCPF 3111. La formación de biofilm y el correspondiente tratamiento antifúngico se realizó sobre discos de vidrio en microplacas de 12 pocillos. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante y las muestras se tiñeron con Calcofluor White (0,05%v/v) el cual tiñe de azul la pared celular y la matriz exopolisacárida del biofilm fúngico. Las imágenes resultantes se procesaron con el programa ImageJ, por el cual se generó la vista del plano XY y ortogonal, y la reconstrucción en tres dimensiones de las distintas condiciones. Además, mediante el software COMSTAT se obtuvieron los siguientes parámetros cuantitativos: biomasa, espesor, coeficiente de rugosidad y distancia de difusión de las condiciones de los compuestos solos y de la combinación NP Ag+AmB. El análisis estadístico se realizó con el programa Infostat mediante ANOVA seguido del test Tukey con nivel de significación $p < 0,05$.

Resultados:

Los parámetros cuantificados mostraron los siguientes resultados: biomasa ($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$) 22,42 y 1,44; espesor (μm) 23,08 y 1,50; coeficiente de rugosidad (R_a^*) 0,05 y 1,76 y distancia de difusión (μm) 1,91 y 0,37, para las condiciones control no tratado y con NP Ag+AmB, respectivamente. Para biomasa y espesor se calculó una reducción del 94%, este resultado tiene concordancia con lo encontrado por otras metodologías. El coeficiente de rugosidad aumentó y la distancia de difusión presentó una marcada disminución, parámetros que demuestran las alteraciones en la estructura del biofilm.

Conclusiones:

Estos resultados corroboran la actividad anti-biofilm de las NP Ag en una cepa de *C. tropicalis*, mostrando alteraciones topográficas y estructurales. Por lo tanto, alientan a seguir estudiando en profundidad el mecanismo de acción de este compuesto como posible alternativa para el tratamiento de infecciones por cepas de *Candida* formadoras de biofilm.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

SELECCIÓN DE BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DE SEUDOCEREALES CAPACES METABOLIZAR RUTINA

**VELASCO MANINI, Marina Andrea | SANDEZ PENIDEZ, Sergio Hernán | GEREZ, Carla |
ROLLAN, Graciela Celestina**

CENTRO DE REFERENCIA PARA LACTOBACILOS (CERELA-CONICET)

Introducción y Objetivos:

Los seudocereales (quinoa y amaranto) son importantes fuentes de flavonoides, compuestos

polifenólicos con gran potencial bioactivo de mucho interés debido a sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antimutagénicos, antiproliferativos, entre otros. Sin embargo, su biodisponibilidad es especialmente baja cuando se encuentran como rhamnoglucósidos, tal es el caso de la rutina, debido a la falta de rhamnosidasa intestinal en humanos. Las bacterias lácticas (BL) son un grupo de microorganismos GRAM positivos empleado en variados procesos de fermentación de alimentos. Estos microorganismos poseen enzimas o vías metabólicas de importancia en el procesamiento de alimentos que mejoran e incrementan sus valores nutricionales y funcionales. Existe evidencia que rutina y otros flavonoides son capaces de inhibir el crecimiento de BL en medios de cultivo. En previos trabajos se aislaron BL de masas ácidas y granos de quinoa y amaranto. En base a lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue seleccionar BL aisladas de quinoa y amaranto capaces de metabolizar rutina a quercetina durante su crecimiento en un medio de cultivo MRS modificado.

Materiales y Métodos:

Las cepas (43) de BL fueron cultivadas en medio MRS reducido en carbohidratos y suplementado con rutina (0,2 mM). Los cultivos se incubaron a 30 °C en agitación durante 72 h. El crecimiento (UFC/ml) y acidificación (pH) fue evaluado a tiempo inicial y final. Las concentraciones de rutina y quercetina fueron determinadas por cromatografía HPLC-UV.

Resultados:

Los resultados demostraron que el 50% de las cepas de BL fueron capaces de crecer con un incremento de 1.2-2.2 unidades log al final de fermentación; sin embargo en algunas se evidenció una entrada en fase de muerte antes de las 72 h. La capacidad de acidificación de las cepas produjo un descenso de los valores de pH de 1.2 unidades. El metabolismo de rutina por ciertas BL, especialmente del género *Leuconostoc*, se evidenció en los cromatogramas de HPLC, observándose una disminución (10%) del área del pico correspondiente al flavonoide y la aparición de un pico de área menor correspondiente a quercetina.

Conclusiones:

Este estudio permitió seleccionar cepas de BL aisladas de granos andinos capaces de metabolizar el flavonoide rutina a quercetina en el medio de cultivo. Estos resultados evidencian la importancia de estas BL para su empleo como cultivos iniciadores en el diseño de alimentos derivados de quinoa con mayor valor funcional y aptos para pacientes celíacos.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---

DISTRIBUCIÓN DEL LOCUS DE ADHERENCIA Y AUTOAGREGACIÓN (LAA) EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTORAS DE TOXINA SHIGA (STEC) LEE-NEGATIVAS DE PARAGUAY Y CHILE

VELEZ, María Victoria 1 | COLELLO, Rocío1 | ETCHEVERRIA, Analia1 | GUILLÉN FRETESA, Rosa M2 | TORO, Magaly3 | VIDAL, Roberto4 | PADOLA, Nora Lia1

CIVETAN-CONICET, FCV-UNCPBA, CICPBA 1; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD, UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN. SAN LORENZO, 2; INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE, SANTIAGO, CHILE 3; PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA Y MICOLOGÍA, INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVE 4

Introducción y Objetivos:

STEC está asociado a casos esporádicos de Colitis Hemorrágica (CH) y Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Si bien su principal reservorio es el bovino, también se ha encontrado en medio ambiente, animales domésticos, alimentos, agua, entre otros. Existe un subgrupo capaz de colonizar la mucosa intestinal e inducir una lesión histopatológica de adherencia y borrado del enterocito (A/E). Esta lesión es gobernada por una isla de patogenicidad llamada Locus de borrado del enterocito (LEE). A partir de la presencia o ausencia de este locus se clasifican en STEC LEE-positivas o LEE-negativas. Las cepas LEE-negativas no poseen los genes necesarios para producir la lesión A/E, sin embargo, cepas que carecen de LEE también han sido asociadas a enfermedad severa en el humano. Sin el locus LEE, las cepas deben adherirse al epitelio intestinal utilizando otros mecanismos. Se ha determinado la existencia de una isla de patogenicidad denominada LAA (Locus de adherencia y autoagregación) que en ausencia de LEE, codificaría genes que participan en la adhesión, autoagregación y formación de biofilm. LAA está organizada en 4 módulos, pudiendo presentarse, tanto en forma completa (los 4 módulos- I; II; III y IV) como individual (< a 4 módulos). Es por ello que cuando algún módulo está ausente las cepas son consideradas LAA negativas. Teniendo en cuenta que la incidencia de enfermedad causada por cepas STEC LEE-negativas ha aumentado en varios países, y destacando la importancia de su estudio, el objetivo de este trabajo fue analizar la presencia de LAA en cepas LEE-negativas aisladas de Paraguay y Chile.

Materiales y Métodos:

Para ello se analizaron un total de 131 cepas STEC LEE-negativas aisladas de carne, bovinos, quesos y aves silvestres en Paraguay y Chile pertenecientes a los serogrupos: O22; O91; O93; O103; O113; O115; O116; O153; O168; O171; O172; O174; O185; ONT. Para la detección de LAA, las cepas fueron caracterizadas por PCR multiplex para detectar la presencia de los módulos I, II, y III, y una PCR monoplex para la identificación del módulo IV.

Resultados:

LAA se detectó en el 42% de las cepas de Paraguay, siendo los mayores porcentajes detectados en cepas pertenecientes a los serogrupos O103 (75%) y ONT (30%). En las cepas de Chile, LAA se detectó en el 41% de los aislamientos, encontrándose los mayores porcentajes en los serogrupos O91 (100%) y O113 (83,3%).

Conclusiones:

Este trabajo es el primero que demuestra la distribución de LAA en cepas STEC LEE-negativas aisladas en Chile y Paraguay, detectándose en serogrupos asociados a casos de SUH. Este hallazgo es de importancia ya que esta isla de patogenicidad podría ser un marcador de virulencia en cepas pertenecientes a este grupo bacteriano.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

ANÁLISIS FENOTÍPICO DE LOS SISTEMAS DE DOS COMPONENTES, PRESENTES EN EL SIMBIONTE DE ALFALFA ENSIFER MELILOTI, QUE PARTICIPAN EN LA RESPUESTA BACTERIANA AL ESTRÉS TÉRMICO

VERA, Leda Mailen | VACCA, Carolina | MOGRO, Ezequiel Gerardo | CAFIERO, Juan Hilario | DRAGHI, Walter | DEL PAPA, María Florencia

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP

Introducción y Objetivos:

Los rizobios son microorganismos mesófilos que como tales poseen una temperatura óptima de crecimiento en el rango de los 25-30°C. Sin embargo, en el ambiente frecuentemente se hayan expuestos a temperaturas fuera de este rango, principalmente cuando consideramos el aumento de la temperatura edáfica por efecto del cambio climático global, o la ampliación de la frontera agropecuaria, aumentando la superficie cultivada de alfalfa en regiones agroclimáticas no favorables. Ambos factores pueden afectar la viabilidad y persistencia de los rizobios en el suelo, como así también las diversas etapas de la asociación simbiótica, disminuyendo los beneficios que la fijación biológica de nitrógeno (FBN) aporta a la nutrición del cultivo de alfalfa. Uno de los mecanismos que comúnmente utilizan las bacterias para adaptarse a las fluctuaciones del ambiente son los sistemas de dos componentes (TCS). Estos sistemas involucran una proteína histidina quinasa (HK) responsable de sensor el cambio en el ambiente, y una proteína reguladora de respuesta (RR), que generalmente actúa como regulador transcripcional modificando la expresión de genes que generen una respuesta celular rápida para adaptarse a las nuevas condiciones ambientales. En este contexto, y con el objeto de dilucidar los mecanismos moleculares que determinan la tolerancia a las altas temperaturas, nos propusimos evaluar el rol de los TCS presentes en *E. meliloti* en la respuesta al estrés térmico.

Materiales y Métodos:

Sobre una biblioteca de 37 mutantes isogénicos en RR se analizaron parámetros cinéticos de crecimiento poblacional en medio rico (TY) y mínimo (SG) a temperatura óptima (28°C) y alta (40°C). En paralelo, se evaluó la capacidad de nodulación, habilidad competitiva y FBN en plantas de alfalfa en condiciones de crecimiento controladas.

Resultados:

El análisis de las curvas de crecimiento reveló que la ausencia de 6 RR produce una disminución significativa en la velocidad de crecimiento, sugiriendo que estos factores de transcripción podrían participar en las respuestas moleculares desencadenadas por la temperatura elevada. Los resultados obtenidos en plantas mostraron que las cinéticas de nodulación de los mutantes no presentaron diferencias significativas con las de la cepa salvaje. Sin embargo, se observó que el mutante SMb20934- generó mayor masa seca aérea y resultó más competitivo por la ocupación del nódulo que la cepa salvaje.

Conclusiones:

En la actualidad estamos concentrados en definir los mecanismos moleculares que conducen a la activación transcripcional de SMb20934 y en identificar sus genes blanco

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE TRICHODERMA ENDÓFITAS DE YERBA MATE MEDIANTE TAXONOMÍA CLÁSICA Y MARCADORES MOLECULARES ITS1-5,8S-ITS2 Y EF- 1ALFA

VERESCHUK, Manuela Lizz | LOPEZ, Ana Clara | ALVARENGA, Adriana Elizabet | VILLALBA, Laura Lidia | ZAPATA, Pedro Dario

LAB. BIOTECNOLOGIA MOLECULAR-INBIOMIS-FCEQYN-UNAM

Introducción y Objetivos:

La provincia de Misiones (Argentina), cuenta con características y condiciones agroecológicas aptas para el cultivo y desarrollo de la yerba mate *Ilex paraguariensis* St. Hil. En Misiones, la yerba mate es desarrollada en monocultivos, y presenta una gran importancia económica. Con un área cultivada de 144.118,220 hectáreas, la provincia generó una producción de 127.595.538 kilogramos de hoja verde en el período enero-marzo de 2019, en comparación a los 22.115.999 kilogramos de hoja verde producidos en el mismo período, en la provincia de Corrientes. Sin embargo, es preocupante el incremento de yerbales degradados y de problemas fitosanitarios en Misiones. Se han realizado numerosos estudios para mejorar la calidad y fertilidad de los suelos de los yerbales; y se han encontrado hongos asociados a las plantas de yerba mate en estado nativo. Sin embargo, no se ha profundizado en los aspectos de la biología del suelo relacionados con el estudio de los microorganismos que ejercen efectos benéficos sobre las plantas. Los hongos del género *Trichoderma* presentan capacidades de biocontrol contra hongos fitopatógenos; además de aportar otros beneficios a las plantas, como la producción de metabolitos y enzimas, la liberación de nutrientes y factores de crecimiento. De modo que la aplicación directa de cepas autóctonas de *Trichoderma* sobre el sustrato de germinación constituye una alternativa prometedora para combatir los problemas existentes en los yerbales. Por todo lo anteriormente mencionado, se estableció como objetivo general de este trabajo identificar morfológica y molecularmente 14 aislados de *Trichoderma* endófitos de plantas de yerba mate de la Provincia de Misiones.

Materiales y Métodos:

En primer lugar, se registraron las características macroscópicas de las colonias fúngicas. Luego se realizaron observaciones microscópicas mediante tinción simple con azul de lactofenol, y con la ayuda de claves taxonómicas, se observaron las características de las estructuras reproductivas. Para la identificación molecular, en primer lugar se realizó la extracción de ADN, el cual se cuantificó y se comprobó su pureza y calidad. La identificación molecular de los aislados se llevó a cabo utilizando dos marcadores moleculares: un fragmento de ~650 pares de bases, perteneciente a los

espaciadores transcriptos intergénicos ITS1 e ITS2, junto con el gen 5,8S del ADNr (ITS1-5,8S-ITS2); y un fragmento de ~700 pb perteneciente a la secuencia parcial del factor de elongación (EF-1ALFA). Las secuencias obtenidas se compararon mediante un análisis de identidad/similitud, y se analizaron mediante el paquete informático Mega 7, utilizando el método de distancias de Neighbour joining junto al modelo de Jukes – Cantor, con un bootstrap de 1000 réplicas.

Resultados:

De esta manera se lograron agrupar 14 aislados fúngicos endófitos de yerba mate dentro de cinco especies pertenecientes al género *Trichoderma*: *T. asperelloides*, *T. asperellum*, *T. hamatum*, *T. reesei*, y *T. strigosellum*.

Conclusiones:

Mediante la caracterización macro y microscópica de los aislamientos y la utilización de marcadores moleculares se obtuvo una identificación más precisa de las cepas estudiadas.

 <p>ISSN 1666-7948</p> <p>www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva</p> <p>Número 3, año 18, Diciembre 2019</p> <p>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
---	---

EVALUACIÓN DE CAMBIOS EN PROPIEDADES NANO-MECÁNICAS DE LA SUPERFICIE BACTERIANA POR LA ACCIÓN DE ANTIMICROBIANOS MEDIANTE MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA

VILLALBA, María Inés¹ | MASSON, Candela ¹ | STUPAR, Petar² | KASAS, Sandor³ | VELA, María Elena⁴ | YANTORNO, Osvaldo Miguel¹

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES (CINDEFI-UNLP) ¹; ECOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE ²; ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE ³; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FISIQUÍMICAS TEÓRICAS Y APLICADAS (CONICET-UNLP) ⁴

Introducción y Objetivos:

Las células microbianas interactúan y responden a su entorno fisicoquímico utilizando sus componentes de superficie. Comprender entonces las propiedades biofísicas de las moléculas de la superficie celular es un tema de investigación importante. En este sentido, la microscopía de fuerza atómica (MFA) se ha convertido en una herramienta poderosa en microbiología por su capacidad para analizar células microbianas vivas en resolución nanométrica y manipular moléculas de superficie celulares. En este trabajo utilizando técnicas de MFA estudiamos el efecto de la presencia de antibióticos sobre propiedades nanomecánicas de la cubierta celular empleando *Bordetella pertussis* como modelo de estudio.

Materiales y Métodos:

Se emplearon la cepa de referencia *B. pertussis* Tohama I en fase virulenta y un mutante avirulento (*B. pertussis* 537), los cuales fueron cultivados en medio Stainer- Scholte. Para los análisis por MFA se emplearon cantilevers de nitruro de silicio (Si₃Ni₄) con constantes de resorte típicas de 0.06 o

0.12 N m⁻¹; 1. Una suspensión bacteriana de alta densidad (OD₅₉₅: 0.5) fue inmovilizada sobre cubreobjetos previamente tratados con 10 µL de glutaraldehído al 0,5% durante 10 min, enjuagados con agua ultrapura, y secados. Las bacterias fueron expuestas a eritromicina y ampicilina en concentraciones bactericidas durante 5 hs. Las interacciones entre la punta de cantilevers y las células bacterianas se analizaron a través de imágenes de fuerza-volumen (FV) utilizando un microscopio de sonda de barrido MultiMode (Bruker, Santa Barbara, CA, EE. UU.) equipado con un controlador Nanoscope V y un Nano Wizard III Bioscope (JPK, Berlín, Alemania). La rigidez de cubierta se determinó en distintos puntos en células aisladas y agregados celulares mediante el Módulo de Young (E).

Resultados:

El análisis de las propiedades nano-mecánicas de la cubierta celular luego de 5 h de exposición a los antimicrobianos mostró una disminución tanto en la altura como en la rigidez de la cubierta celular de *B. pertussis* Tohama I para ambos antibióticos. Se registraron además cambios en rugosidad y turgencia celular, los cuales fueron más importantes para ampicilina. Llamativamente, la rigidez de membrana evaluada el módulo de Young y la rugosidad no fueron afectadas significativamente en el mutante avirulento, con ninguno de los dos antibióticos. Estos resultados refuerzan reportes previos en *B. pertussis* extendidos a *B. bronchiseptica*, que relacionan la resistencia a macrólidos con la pérdida de virulencia. El efecto de antimicrobianos sobre características de cubierta como la rigidez fue menor cuando las bacterias están “conectadas” en agregados bacterianos respecto a las bacterias aisladas.

Conclusiones:

Este trabajo muestra la potencialidad que posee la MFA como herramienta poderosa para avanzar en el conocimiento de los efectos de diferentes agentes antimicrobianos sobre la superficie celular a nivel de nano-escala.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista Química Viva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	--

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE UN MUTANTE DE BURKHOLDERIA AMBIFARIA T16 EN LA VÍA DEL 2-METIL CITRATO

VINACOUR, Matias Esteban 1 | KRONBERG, Maria Florencia2 | MUNARRIZ, Eliana Rosa2 | NIKEL, Pablo Ivan3 | RUIZ, Jimena Alicia1

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIOCENCIAS AGRÍCOLA AMBIENTALES (INBA-CONICET) 1; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN BIOCENCIAS AGRÍCOLA AMBIENTALES/ CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA FAUBA 2; THE NOVONORDISK FOUNDATION-CENTER OF BIOSUSTAINABILITY 3

Introducción y Objetivos:

El propionato es uno de los ácidos grasos de cadena corta más abundante en las células. Asimismo, también se generan grandes cantidades de propionil-CoA como resultado de la betaoxidación de ácidos grasos de cadena impar, del catabolismo de ácidos grasos ramificados y de la degradación de aminoácidos ramificados. Considerando que el propionato y sus catabolitos derivados son letalmente tóxicos para las células, resulta fundamental el rol de las vías metabólicas involucradas en su detoxificación. La vía del 2-metil citrato (2-MC) es la ruta metabólica principal involucrada en el catabolismo y detoxificación del propionato en bacterias y hongos. Sin embargo, además de este rol, también se ha encontrado que el funcionamiento de esta vía metabólica resulta fundamental para la virulencia y capacidad antagonista en micobacterias y hongos filamentosos, respectivamente. *Burkholderia ambifaria* T16 es una cepa bacteriana aislada de la rizósfera de cebada en la localidad de Junín (Pcia. de Buenos Aires). Esta bacteria posee características muy interesantes entre las cuales se incluyen su potente actividad funguicida y nematocida. Con el fin de evaluar si el funcionamiento de la vía del 2-MC afectaba dichas actividades se construyó una cepa mutante en la cual se eliminó, mediante una delección precisa el gen *prpB* que codifica para la enzima metil isocitrato liasa, la cual cataliza el último paso de la vía del 2-MC. Para la construcción de esta mutante y teniendo en cuenta que *B. ambifaria* T16 es resistente a la mayoría de los antibióticos convencionales, fue necesario construir un plásmido incapaz de replicar en *Burkholderia* que portara la resistencia al antibiótico trimetropima (Tnp). Para ello, se utilizaron los módulos de los plásmidos pSEVA (Standard European Vector Architecture) a los cuales se les adicionaron los genes que confieren la resistencia a Tnp. El nuevo plásmido se denominó pSEVA712S.

Resultados:

Se comparó la actividad hemolítica en Agar Sangre, el antagonismo in vitro frente al hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* y el índice de virulencia contra el nemátodo *Caenorhabditis elegans* entre la cepa salvaje y la mutante *prpB*. Los resultados mostraron que la eliminación del gen *prpB* afectó negativamente todas las características analizadas. Teniendo en cuenta que todos los parámetros evaluados responden al sistema de Quorum sensing, se decidió examinar la producción de acilhomoserinlactonas de cadena corta (AHLscc) en la cepa salvaje y en la mutante, utilizando para ello a la cepa biosensora *Cromobacterium violaceum* que produce violasceína en presencia de AHLscc. En la mutante *prpB* prácticamente no se detectó producción de violasceína, mientras que si se detectó en la cepa salvaje. De los resultados de estos experimentos, podemos concluir que la inactivación de la vía del 2-MC afecta negativamente la producción de AHLscc en *B. ambifaria* T16, disminuyendo también dramáticamente su capacidad antagonista y de virulencia.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 18, Diciembre 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA AISLADA DE LA RIZÓSFERA DE *HANDROANTHUS IMPETIGINOSUS* Y EVALUACIÓN DE SU CAPACIDAD RIZOGÉNICA IN VITRO.

YARTE, Mauro Enrique | LLORENTE, Berta Elizabet | LARRABURU, Ezequiel Enrique

LABORATORIO DE CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES, UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

Introducción y Objetivos:

Handroanthus impetiginosus "lapacho rosado" (Bignoniaceae) es una especie ampliamente distribuida en el noroeste argentino con relevancia ecológica, ornamental y forestal debido a sus características morfofisiológicas que incluyen la producción de metabolitos con diversos efectos terapéuticos. El lapacho rosado presenta inconvenientes para su conservación por la presión de tala que soporta y los problemas reproductivos típicos de la especie. Por otra parte, las plantas interactúan con bacterias endófitas y rizosféricas que proveen mejoras en la disponibilidad y absorción de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, regulan distintas fitohormonas, como el ácido indolacético y pueden actuar como agentes de biocontrol. Por ello, el uso de herramientas como el cultivo in vitro y la biofertilización puede resultar de gran utilidad para la propagación de esta especie. El objetivo de este trabajo fue caracterizar una cepa aislada de la rizósfera de un ejemplar adulto de *H. impetiginosus* y evaluar, mediante estudios productivos y bioquímicos, su capacidad rizogénica en estacas in vitro de lapacho rosado.

Materiales y Métodos:

La caracterización de la cepa consistió en la amplificación parcial y secuenciación del gen del ARNr 16S y posterior análisis empleando el algoritmo BLAST. Además, se evaluó crecimiento en medio sin nitrógeno (Nfb) y de solubilización de fosfatos inorgánicos en medio Pikovskaya con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (5 g/L) y verde de bromocresol (PVK), producción de ácido indolacético (AIA) y compuestos análogos en medio Luria- Bertani (LB) suministrado con triptófano (2,5 mg/mL) mediante el reactivo de Salkowski. Los ensayos de enraizamiento in vitro se realizaron con brotes de lapacho derivados de Woody Plant Medium con 20 μM de bencilamino purina y 1 μM de ácido indolbutírico (AIB). La inducción de raíces se realizó en medio Murashige- Skoog con sales a mitad de concentración, vitaminas de Gamborg, 3% sacarosa y 0,7% agar (MR) suplementado con 30 μM AIB durante 3 días. Posteriormente, los brotes se transfirieron a MR libre de hormonas y se inoculó su base con 10⁸ ufc de la cepa bacteriana. Los controles fueron plantas sin inocular. Se evaluaron: porcentajes de enraizamiento, parámetros biométricos, contenido de lignina en vástagos, proteínas solubles totales en vástagos y contenido de clorofila en extractos metanólicos de hoja. Los resultados fueron analizados utilizando ANOVA de un factor y comparación de proporciones pareadas con el software IBM SPSS 21.

Resultados:

La cepa aislada fue determinada como *Stenotrophomonas* sp., produjo compuestos indólicos (40,63 $\mu\text{g/mL}$) y aumentó significativamente ($p < 0,05$) el porcentaje de enraizamiento a partir del día 10 de cultivo. Además, mejoró significativamente el índice de parámetros radiculares respecto de los controles e incrementó la concentración de proteínas totales.

Conclusiones:

En conclusión, el empleo de una cepa bacteriana rizosférica como *Stenotrophomonas* sp. mejoró el enraizamiento in vitro de lapacho rosado.

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE RIZOBIOS NODULADORES DE DESMANTHUS PASPALACEUS (LINDM.) BURKART, RECUPERADOS DEL NORESTE ARGENTINO

ZUBER, Nicolás 1 | FORNASERO, Laura Viviana² | TONIUTTI, María Antonieta² | DEL PAPA, María Florencia¹ | LAGARES, Antonio¹

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, IBBM--CONICET, FAC. CS EXACTAS, UNLP 1; FACULTAD DE CIENCIA AGRARIAS-UNL 2

Introducción y Objetivos:

Durante los últimos años el incremento de las zonas agrícolas ha desplazado a la ganadería hacia zonas edafo-climáticas consideradas marginales para la producción, donde las leguminosas forrajeras disponibles y adaptadas a esas condiciones son escasas. Aunque *Desmanthus paspalaceus* (Lindm.) Burkart es una leguminosa nativa del centro-norte de nuestro país y con características agronómicas valiosas, en la misma se han reportado síntomas de clorosis, poco vigor y escasa producción de plantas. Tales problemas se han atribuido a deficiencias de nitrógeno derivadas de la condición de los suelos en los que se encuentra esta leguminosa, y también a la deficiente asociación de la planta con rizobios eficientes fijadores de nitrógeno. Atendiendo al valor de contar con un sistema simbiótico eficiente y adecuado para zonas marginales, desde hace más de una década hemos abordado la caracterización feno y genotípica de los rizobios que nodulan *D. paspalaceus* con el propósito de explorar la biodiversidad existente en el conjunto de microsimbiontes que pueblan los suelos locales y que pueden ser susceptibles de ser utilizados en programas de selección de estirpes y elaboración de inoculantes.

Resultados:

La colección cuya caracterización presentamos en este trabajo está conformada por 54 rizobios noduladores de *D. paspalaceus* provenientes de las provincias de Chaco, Corrientes y Misiones. Los aislamientos fueron genotipificados como *Mesorhizobium* spp. por medio de la secuenciación parcial del rDNA 16S y por espectrometría de masas MALDI-TOF (Biotyper, Bruker), además de ser evaluados en su diversidad genética por medio de análisis de huella digital genómica por PCR (BOX-PCR). La caracterización fenotípica de los aislamientos se realizó por métodos microbiológicos clásicos y se evaluó la tolerancia de los mismos a diferentes estreses abióticos en medios de cultivo con diferentes pHs, distintas temperaturas y diferentes contenidos de sal (NaCl); en todos los casos en relación a tratamientos control que desarrollaron en condiciones óptimas de crecimiento. En un número importante de aislamientos (34) hemos observado características destacadas de tolerancia a al menos dos de los estreses ensayados.

Conclusiones:

Teniendo en cuenta la tolerancia a estreses y la diversidad genómica de los aislamientos de la

colección iniciaremos ensayos orientados a evaluar la eficiencia simbiótica hacia la selección de cepas potencialmente útiles para la formulación de inoculantes eficientes para la producción forrajera de *D. paspalaceus*.

 <p>ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</p>	<p>Revista QuímicaViva Número 3, año 18, Diciembre 2019 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</p>
--	---