

# GMO

## GENÉTICA DE MICROORGANISMOS

## GENETICS OF MICROORGANISMS



## GM0 1

## CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE UN AISLAMIENTO ATÍPICO DE ALFAHERPESVIRUS BOVINO TIPO 1

Fernández Langer R.<sup>1</sup>, E. Vilatuña<sup>2</sup>, G. Cantón<sup>2</sup>, A. Verna<sup>2</sup>, F. Lázaro<sup>2</sup>, S. Pereyra<sup>2</sup>, E. González Altamiranda<sup>2</sup>, A. Romera<sup>1</sup>, S. Maidana<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, IVIT, INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible, INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. maidana.silvina@inta.gob.ar

Los alfa herpesvirus son virus de ADN de doble cadena, conocidos por su rápida replicación y capacidad de latencia. El virus BoAHV-1, causante de rinotraqueitis infecciosa bovina, representa un problema importante en la ganadería debido a las pérdidas económicas y restricciones comerciales. El objetivo de este trabajo fue caracterizar genéticamente una cepa atípica de BoAHV-1 aislada de terneros con conjuntivitis severa. Se recolectaron hisopados nasales y conjuntivales, que fueron cultivados en MDBK y utilizados para la extracción de ADN viral. Se realizó una PCR multiplex diferencial entre BoAHV-1 y BoAHV-5, seguida de una PCR multiplex-REA (UL39/US3), para determinar el subtipo. Además, se secuenciaron los genes *UL27*, *UL39*, *US3* y *US6* para estudios de filogenia. Los seis aislamientos, cuatro oculares y dos nasales, fueron clasificados como BoAHV-1. Sin embargo, por PCR-REA fueron atípicos y no correspondieron a ningún subtipo conocido. Los análisis filogenéticos nucleotídicos basados en los fragmentos *UL27*, *US3* y *US6* mostraron que los aislamientos agrupan con cepas BoAHV-1.1, pero por *UL39* agrupan con el subtipo BoAHV-1.2. Estos resultados, junto con los patrones atípicos, sugieren que podrían ser cepas recombinantes intraespecíficas. La obtención de genomas completos será necesaria para confirmar esta hipótesis. Este trabajo destaca la importancia de estudiar la diversidad genética y la recombinación del virus en campo, lo que puede tener implicaciones en la patogenicidad, diagnóstico y control de la enfermedad.

## GM0 2

## ANÁLISIS MULTILOCI DE SECUENCIAS DE GENES *ITS*, *TEF1* Y *RPB2* EN LA IDENTIFICACIÓN DE *TRICHODERMA*

Cornejo G.A.<sup>1</sup>, J.G. Valdez<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>2</sup>EEA La Consulta, INTA, Mendoza, Argentina. anyelencornejo2014@gmail.com

*Trichoderma* (Hypocreales, Ascomycota) es un género común en suelos, ampliamente utilizado como agente de biocontrol. Posee más de 490 especies descritas, agrupadas en cinco secciones filogenéticas definidas. La identificación molecular basada en secuencias de ADN es actualmente la herramienta más confiable para la delimitación de especies en este grupo. En estudios previos, la identificación basada en el gen *tef1* permitió una aproximación filogenética de 20 aislados de *Trichoderma spp.* obtenidos de la rizosfera de plantas nativas. El objetivo de este trabajo fue comparar dicho enfoque con un análisis multiloci basado en la secuenciación de *ITS*, *rpb2* y *tef1*. El ADN genómico fue extraído mediante el método CTAB, se amplificaron los loci utilizando los pares de cebadores ITS4/ITS5, fRPB2-5F/fRPB2-7cR y TrichEF1.Fwd/TrichEF2.Rev. Los productos de PCR se secuenciaron por Sanger. Las secuencias se curaron y alinearon con otras de referencia, y se construyeron árboles filogenéticos utilizando los métodos de máxima parsimonia (TBR) en MEGA11 y máxima verosimilitud en W-IQ-TREE, con 1.000 réplicas de *bootstrap*. Los resultados mostraron que el análisis multiloci mejoró significativamente la resolución y precisión en la identificación molecular, permitiendo la asignación confiable de 17 aislados a nivel de especie. Este enfoque demuestra su utilidad para caracterizar la diversidad de *Trichoderma* y evaluar su potencial como agentes de biocontrol en contextos agrícolas.

## GM0 3

### RESPUESTA DE GENES DE ESTRÉS DURANTE LA ACLIMATACIÓN: COMPARACIÓN ENTRE *Oenococcus oeni* Y *Lactiplantibacillus plantarum*

Zerbino A.<sup>1,2</sup>, L. Lannutti<sup>1,2</sup>, N.T. Olguin<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Enológica, Departamento de Ciencia y Tecnología, Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Morón, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina. azerbino@unimoron.edu.ar

La aclimatación es una estrategia que mejora la adaptación de bacterias enológicas al medio vínico. El objetivo de este estudio fue evaluar la expresión de los genes *hsp20*, *rmlB*, *dnak* y *cspA*, vinculados a la respuesta al estrés, en cepas de *Oenococcus oeni* y *Lactiplantibacillus plantarum*, antes y después de un proceso de aclimatación en medio con 8% de etanol. La expresión génica se determinó mediante qPCR en tiempo real, utilizando SYBR Green y el método  $2^{-\Delta\Delta CT}$ . Luego del tratamiento, las células fueron inoculadas en vino Pinot noir estéril, y se evaluó su desempeño en fermentación maloláctica (FML) en términos de supervivencia y consumo de ácido L-málico. En *O. oeni*, la cepa autóctona mostró mayor expresión de *hsp20* y *rmlB*, asociada con mejor adaptación frente a la cepa control. En *Lpb. plantarum*, se observaron cambios en la expresión de *dnak* y *cspA*, sin diferencias relevantes en la FML. El gen *rmlB* se sobreexpresó en todas las cepas, destacando su posible uso como marcador molecular de adaptación. Estos resultados revelan diferencias transcripcionales entre especies y refuerzan el valor del análisis génico como herramienta para seleccionar cultivos iniciadores robustos ante condiciones enológicas desafiantes.

## GM0 4

### IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE *TEF-1A* DE CEPAS NATIVAS DEL GÉNERO *Beauveria* CON CAPACIDAD ENTOMOPATÓGENA Y MICOPATÓGENA

Duarte F.H.<sup>1,2</sup>, G.A. Bich<sup>1,2</sup>, P.D. Zapata<sup>1,2</sup>, L.L. Villalba<sup>1</sup>, M.L. Castrillo<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca", Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Argentina; <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. facuhduarte@gmail.com

*Beauveria* es un género fúngico reconocido por su capacidad entomopatogena. A nivel de género puede ser fácilmente reconocido mediante caracteres morfológicos, pero delimitar especies es complejo debido a su simpleza estructural y leve variación fenotípica. La identificación precisa de cepas con potencial biocontrolador es esencial en el desarrollo de estrategias de control biológico, permitiendo diferenciar y seleccionar cepas más efectivas y específicas frente a organismos blanco. El objetivo de este trabajo fue realizar la identificación molecular de tres cepas fúngicas del género *Beauveria*, aisladas en Misiones, Argentina, seleccionadas por su potencial como agente biocontrolador de insectos plaga e inhibidor de hongos fitopatógenos. Se realizó la amplificación, secuenciación y análisis de la región conservada de ADN correspondiente al factor de elongación 1-alfa (*tef-1 $\alpha$* ), marcador molecular ampliamente utilizado para la identificación de especies fúngicas. Con las secuencias obtenidas se realizó un análisis de identidad y similitud mediante la herramienta BLAST (NCBI), y se construyeron árboles filogenéticos utilizando los métodos de máxima verosimilitud, máxima parsimonia y Neighbor-Joining. Las secuencias *tef-1 $\alpha$*  de las tres cepas en estudio presentaron altos porcentajes de identidad y similitud ( $\geq 93\%$ ) con secuencias de referencia correspondientes a la especie *Beauveria bassiana*. Además, dentro de los árboles filogenéticos se agruparon en clados con esta misma especie, con altos valores de *bootstrap*. Los resultados obtenidos permitieron confirmar la identidad de las cepas en estudio, estableciendo que corresponden a la especie *Beauveria bassiana*.

## GM0 5

## ANÁLISIS GENÓMICO Y DETECCIÓN DE GENES ASOCIADOS A LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS CON POTENCIAL BIOCONTROLADOR EN *Bacillus altitudinis*

Flammer P.N.<sup>1</sup>, N.S. Amerio<sup>1,2</sup>, M.L. Castrillo<sup>1,2</sup>, I.J. Cortese<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología de Misiones, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; <sup>2</sup>CONICET, Argentina. paulaflammer98@gmail.com

Los lipopéptidos (LPs) producidos por bacterias del género *Bacillus* poseen propiedades antimicrobianas y antifúngicas con gran potencial para su aplicación como biocontroladores en el manejo sustentable de plagas y enfermedades en cultivos de importancia agrícola. El objetivo del presente trabajo fue analizar el perfil genómico de dos cepas nativas de *B. altitudinis* (T5S-T4 y 19RS3) para identificar genes asociados a la síntesis de metabolitos secundarios con potencial actividad biocontroladora. Para ello, se buscaron y descargaron genomas de especies tipo de *Bacillus* sp. en la plataforma EZBioCloud. A partir de ellos, se calculó la identidad promedio de nucleótidos (IPN) mediante JSpecies y se construyó un árbol filogenómico con RealPhy. Finalmente, se analizaron clústeres de genes asociados a la producción de metabolitos secundarios mediante antiSMASH. Se obtuvieron 155 genomas tipo de *Bacillus* sp. Las cepas T5S-T4 y 19RS3 mostraron alta similitud con *B. xiamensis* (~91,1 %) y *B. safensis* (~88,7 %). El árbol filogenómico agrupó las cepas en tres grandes clados según su potencial de biocontrol. El análisis con antiSMASH permitió identificar, en ambas cepas, clústeres de genes implicados en la síntesis de lipopéptidos, confirmando la presencia de rutas biosintéticas de metabolitos secundarios con potencial actividad antimicrobiana y antifúngica. En total, se detectaron clústeres biosintéticos relacionados con la producción de LPs en 58 de los genomas analizados, incluidas las cepas estudiadas, lo que respalda la conservación de estas rutas en *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3. En conclusión, el estudio genómico evidencia el valor biotecnológico de estas cepas y su potencial aplicación como agentes de biocontrol en sistemas agrícolas sustentables.

## GM0 6

## PREVALENCIAS TIPO ESPECÍFICAS DEL VPH EN HOMBRES LATINOAMERICANOS CON Y SIN LESIONES GENITALES O CÁNCER: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS

Rojas M.A.<sup>1</sup>, G.Y. Mallozzi<sup>1</sup>, I. Badano<sup>1,2</sup>, M.E. Totaro<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca", Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Argentina; <sup>2</sup>CONICET, Argentina. mariaelinatotaro@gmail.com

La infección por virus del papiloma humano (VPH) es una de las más frecuentes del mundo, con una tasa de infección entre 1,4 y 25,6%, y es el agente causal de 5% de los cánceres humanos. Nuestro objetivo fue contribuir al conocimiento de la epidemiología del VPH en la población masculina con y sin lesiones genitales o cáncer de América Latina. Para ello, se realizó una revisión sistemática con meta-análisis empleando el protocolo Prisma. Se recuperaron 248 artículos y se extrajeron datos de 25, incluyendo datos no publicados de nuestro grupo. La muestra final consistió de 10.439 hombres (8.934 asintomáticos, 731 con lesiones genitales y 169 casos de cáncer de pene) de ocho países. Los resultados indicaron una prevalencia del VPH del 56% (IC95%: 44-67%) para toda la población; 46% (33-58%) en hombres asintomáticos, 86% (74-97%) en hombres con lesiones y 55% (39-70%) en cáncer. Estas diferencias fueron significativas ( $p < 0,05$ ). Las prevalencias de tipos incluidos en la fórmula tetravalente fueron: VPH16 14% (11-17%), VPH18 4% (3-6%), VPH6 14% (11-17%) y VPH11 7% (5-10%). Las prevalencias de los VPH-AR no incluidos en la vacuna tetravalente fueron: VPH 51, 52 y 58 de 5% (3-6%); VPH 39 y 59 de 4% (2-5%), VPH 31, 33, 45 y 56 de 2% (1-3%) y VPH 35 de 1% (0-2%). Se encontraron diferencias significativas para VPH31 y 52 con prevalencias más altas en el grupo lesiones y/o cáncer. Estos resultados son relevantes en el marco de la vacunación de VPH en hombres.

## GM0 7

## Staphylococcus aureus FENOTIPOS MLSB: CARACTERIZACIÓN CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA Y GENÉTICA DE CEPAS AISLADAS EN HOSPITALES DE MISIONES

Kozłowski P.<sup>1</sup>, A.M. Bogado Barchuk<sup>1</sup>, A.G. Barboza<sup>1</sup>, J.D. Benitez<sup>1</sup>, S.L. Grenon<sup>1</sup>, M.H. Von Specht<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Ciencias de la Salud, Módulo de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Argentina. abogadobarchuk@gmail.com

*Staphylococcus aureus* (*Sau*), principal patógeno humano del género, adquiere genes de resistencia mediante transferencia horizontal, favoreciendo la aparición de clones multirresistentes. La resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B (MLSB) está mediada por genes como *ermA*, *ermB*, *ermC* y *ermT*, que codifican metiltransferasas modificadoras del ARN ribosomal, generando resistencia constitutiva e inducible. Otros genes como *msrA* inducen la expulsión activa de antibióticos mediante bombas ABC. El objetivo de este estudio fue caracterizar genéticamente la resistencia a MLSB en aislamientos clínicos de *Sau* provenientes de infecciones detectadas en hospitales de nivel III de Misiones, Argentina (sep.2021-feb.2022). Se realizó un estudio descriptivo y transversal. Se evaluaron viabilidad, pureza e identidad mediante pruebas bioquímicas, y se determinó el perfil de resistencia fenotípica por métodos manuales y automatizados según normas CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023). A una selección de 30 aislamientos se les extrajo ADN y se buscaron los genes *ermA*, *ermB*, *ermC* y *msrA* por PCR. Se detectaron genes en ocho aislamientos (27%): *ermC* (13%), *ermA* (10%) y *msrA* (6%). Los aislamientos con *ermA* fueron SAMR (*Staphylococcus aureus* meticilino resistente) y mostraron fenotipo iMLSB. Los portadores de *ermC* fueron en su mayoría SAMS (*Staphylococcus aureus* meticilino sensible), sin un predominio fenotípico MLSB claro. Las cepas portadoras del gen *msrA* presentaron fenotipo M. La baja detección de los genes estudiados evidencia la posible presencia de otros determinantes genéticos no considerados (*ermT* u otros). Se destaca la necesidad de ampliar la vigilancia molecular para comprender la resistencia genética regional.

## GM0 8

## GENOTIPOS DE FIMBRIAS FIMA DE *Porphyromonas gingivalis* ASOCIADOS CON LOS CONSORCIOS PERIODONTOPATÓGENOS

Tabares S.<sup>1</sup>, C. Rosella<sup>2</sup>, A. Filsinger<sup>2</sup>, D. Silva<sup>2</sup>, J.I. Ramos<sup>2</sup>, E. Liendo<sup>2</sup>, A. Burdjakian<sup>2</sup>, A. Nieto<sup>2</sup>, M.M. Usin<sup>2</sup>, A. Sembajl<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba (UNC); <sup>2</sup>Facultad de Odontología, UNC, Córdoba, Argentina. stabares@unc.edu.ar

*Porphyromonas gingivalis* es considerada una de las principales bacterias relacionadas con enfermedad periodontal (EP). Las fimbrias *fimA*, son responsables de la adhesión al tejido de soporte y la coagregación con otros periodontopatógenos. Conocer el rol de las fimbrias de *P. gingivalis* contribuiría a entender la participación de esta bacteria en la patogénesis de la EP. Se incluyeron 81 mujeres adultas, embarazadas (Emb) y no embarazadas (NoEmb), sin enfermedades sistémicas, diagnosticadas con EP, en un estudio de casos y controles. Se evaluaron 130 bolsas periodontales de NoEmb y 176 de Emb. Se genotipificaron las *fimA* I, II, IV y Ib de *P. gingivalis* mediante biología molecular. En el grupo NoEmb, el genotipo IV de *fimA* fue el más frecuente (23,8%); para el grupo Emb, el tipo II se identificó en un 29%. Se determinó que el complejo bacteriano constituido por *P. gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia* tiene 4,64 veces más chances de presentar *fimA*IV. El formado por *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* y *P. intermedia* presenta 3,91 veces más chance de portar el gen de *fimA*II y 17,2 veces más chances que se identifique en bolsas periodontales del Grupo Emb. Se observó que existen 15,4 veces más chances de presentar un nivel de inserción grave si *P. gingivalis* expresa la *fimA*Ib preferentemente vinculada con *T. denticola* y *T. forsythia*. Estos resultados sugieren que la presencia de determinado tipo de fimbria de *P. gingivalis* podría ocasionar un incremento en la posibilidad de coagregarse con ciertos periodontopatógenos y producir mayor gravedad de EP.

## GM0 9

## CARACTERIZACIÓN METAGENÓMICA COMPARATIVA DEL MICROBIOMA DE LA ARTICULACIÓN COXOFEMORAL EN PACIENTES ARGENTINOS CON OSTEOARTRITIS

Lohmann F.A.<sup>1</sup>, P.A.I. Slullitel<sup>2</sup>, A.F.A. Albani-Forneris<sup>2</sup>, I.A. Huespe<sup>2</sup>, M.A. Buttaró<sup>2</sup>, T.A. Piñero<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Medicina Traslacional e Ingeniería Biomédica, Universidad del Hospital Italiano de Buenos Aires- CONICET - Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires (HIBA), Argentina; <sup>2</sup>Servicio de Ortopedia, HIBA, Buenos Aires, Argentina. tamara.pinero@hospitalitaliano.org.ar

La osteoartritis es una patología multifactorial que involucra componentes mecánicos, inflamatorios y metabólicos. La detección de microbioma en articulaciones previamente consideradas estériles desafía paradigmas tradicionales y plantea nuevos mecanismos etiopatogénicos. El objetivo de este estudio fue caracterizar los perfiles microbianos articulares en pacientes con artrosis de cadera y compararlos con individuos sin enfermedad artrósica, explorando además el posible rol de translocación microbiana en el contexto del eje intestino-articulación. Se analizaron muestras de líquido sinovial (LS), cartílago femoral (CA) y fosa acetabular (FO) de 20 pacientes con osteoartritis (OA) y 20 con fractura (F), mediante secuenciación de las regiones V3-V4 del gen *ARNr 16S*. Se procesaron 40 muestras por sitio, detectándose secuencias bacterianas en FO (5%), CA (95%) y LS (37,5%). Los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus* se detectaron en ambos grupos; *Cutibacterium* en CA de ambas condiciones y *Pseudomonas* exclusivamente en OA. La diversidad alfa mostró diferencias significativas entre CA y LS ( $p=0,02$ ), mientras que la diversidad beta confirmó una segregación según el sitio anatómico, sin diferencias entre OA y F. Estos hallazgos preliminares respaldan la influencia del microambiente articular en la configuración del microbioma, con posibles implicancias en la fisiopatología degenerativa.

## GM0 10

## FIRMAS MICROBIANAS Y RUTAS METABÓLICAS DIFERENCIALES EN CÁNCER COLORRECTAL ESPORÁDICO EN PACIENTES ARGENTINOS

Lohmann F.A.<sup>1</sup>, F.A. Ferro<sup>2</sup>, L.M. Herrera<sup>1</sup>, A.R. Cajal<sup>1</sup>, L.R. Soto<sup>1</sup>, M.R. Risk<sup>1</sup>, Red Internacional del Microbioma del C. R. C. (AMS/CRUK)<sup>3</sup>, C.A. Vacarro<sup>4</sup>, T.A. Piñero<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Medicina Traslacional e Ingeniería Biomédica, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Universidad del Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA) - Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Programa Cáncer Hereditario, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup>University of Leeds, England; <sup>4</sup>Servicio de Coloproctología, HIBA, Buenos Aires, Argentina. florencialohmann@gmail.com

El cáncer colorrectal (CCR) es una neoplasia multifactorial donde el microbioma intestinal emerge como un actor clave, modulando la interacción de factores genéticos, ambientales y fisiopatológicos en su desarrollo y progresión. Nuestra línea de investigación se centró en caracterizar los perfiles taxonómicos y funcionales del microbioma intestinal en CCR esporádico para la identificación de potenciales biomarcadores microbianos. En el período abarcado entre 2018-2024 se reclutaron 109 pacientes con CCR y 117 controles sanos del Hospital Italiano de Buenos Aires. A partir de ADN extraído de muestras de materia fecal, se secuenció la región V4 del gen *ARNr 16S*. El análisis de coocurrencia en controles sanos mostró correlaciones positivas entre los géneros *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Turicibacter* y *Akkermansia*, bacterias asociadas a fermentación de polisacáridos y mucinas (AGCC), integridad mucosa y modulación inmune vía Tregs. Además, predominaron rutas como el reciclaje de L-metionina, biosíntesis de NAD desde triptófano y catabolismo de azúcares. En CCR se observaron asociaciones entre *Clostridium*, *Blautia*, *Fusobacterium* y *Porphyromonas*, sugiriendo su potencial rol pro inflamatorio y tumorigénico. Se identificaron vías up-reguladas como la degradación de L-valina, la biosíntesis *de novo* de purinas y el ciclo TCA (ácido tricarbóxico) modificado, relacionadas con la elevada demanda energética y proliferativa. Estos hallazgos destacan el valor del microbioma como fuente de biomarcadores con potencial impacto en el abordaje personalizado del CCR.

## GM0 11

## MECANISMOS REGULATORIOS DEL GEN *FSY1* EN *Saccharomyces uvarum*: BASES PARA LA SELECCIÓN Y EL DISEÑO DE LEVADURAS FRUCTOFLÍCAS

González Flores M.<sup>1,2</sup>, V. Kleinjan<sup>1</sup>, M.E. Rodríguez<sup>1,3</sup>, E. Barrio<sup>4</sup>, A. Querol<sup>4</sup>, C.A. Lopes<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos, Biotecnología y Energías Alternativas, Neuquén, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional Comahue, Río Negro, Argentina; <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue, Río Negro, Argentina; <sup>4</sup>Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia, España. mel.gf.mf@gmail.com

El consumo de fructosa es clave en la fermentación de sidras. *Saccharomyces uvarum* (*Su*), a diferencia de *Saccharomyces cerevisiae* (*Sc*), es una especie fructofílica debido a que posee un transportador (*FSY1*) específico para fructosa. En este trabajo se estudió la expresión de este gen en cinco haplotipos diferentes de *Su*. Entre ellas, una cepa patagónica aislada de chicha de manzana (NPCC1330) sobreexpresó un 50% más el gen en un mosto con alta concentración de fructosa (24:96 g/L, relación glucosa:fructosa) en el estadio medio de fermentación (89 h), comparado con cepas vínicas y de ambientes naturales. Mediante secuenciación (Illumina) y análisis bioinformáticos, se identificaron al menos seis sitios de unión a factores de transcripción tipo dedo de zinc en la región promotora del *FSY1* (+600 pb) en las cinco cepas. La cepa NPCC1330 presentó una sustitución funcional en el sitio de unión del factor *ERT1*, lo que sugiere un mecanismo regulatorio diferencial del gen *FSY1*, aún no descrito para ninguna especie, así como dos cambios funcionales en la secuencia del gen. Estos hallazgos sugieren un grado de domesticación en cepas de diferentes orígenes. Para validar los mecanismos regulatorios del gen *FSY1*, diseñamos estrategias de edición génica (CRISPR-Cas9), intercambiando regiones codificantes y promotoras entre cepas más (NPCC1330) y menos fructofílicas (CECT12600) lo que permitirá en futuros ensayos validar estas hipótesis. Este trabajo sienta las bases para futuras aplicaciones en fermentaciones de mostos enriquecidos en fructosa.

## GM0 12

## CARACTERIZACIÓN DE ELEMENTOS GENÉTICOS MÓVILES PARA LA BÚSQUEDA DE MARCADORES MOLECULARES DE CEPAS PREVALENTES DE *Shigella* spp. MDR

Páez O.<sup>1,2</sup>, M. Bonano<sup>1</sup>, M.M. Pescaretti<sup>1</sup>, F.E. López<sup>1,2</sup>, M.A. Delgado<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto Superior de Investigaciones Biológicas, CONICET – Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Chilecito, La Rioja, Argentina. felopez@undec.edu.ar

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son causadas por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos patógenos y es uno de los principales problemas que afectan la salud humana a nivel mundial. *Shigella* spp. es el principal agente causante de ETAs en Latinoamérica y se presenta como cepas múltiple-drogas resistentes (MDR). La resistencia a los antibióticos se produce por síntesis de enzimas capaces de degradarlos o bien por mutaciones o cambios moleculares en el genoma bacteriano producidos en gran parte por intercambio o transmisión horizontal de material genético entre especies genéticamente relacionadas o no, constituyéndose en uno de los principales problemas de salud pública. En el proceso de transferencia de genes de resistencia antibiótica como así también de genes de virulencia participan numerosos elementos móviles (EGM) tales como plásmidos conjugativos o no conjugativos, transposones y bacteriófagos. Nuestro laboratorio cuenta con más de 800 cepas de *Shigella* (AC) aisladas de pacientes pediátricos con gastroenteritis. A partir de una muestra de AC, establecimos las condiciones de PCR-Multiplex para diferenciarlos como *S. sonnei*, *S. flexneri* y *S. flexneri* no 2a. Establecimos al menos cinco perfiles de resistencia antibiótica (PRA), que podrían ser correlacionados con los perfiles plasmídicos de estos mismos AC. Estos resultados nos permitirán identificar patrones o marcadores moleculares para el desarrollo de métodos de detección rápida y tratamientos más eficientes que eviten la aparición de cepas patógenas MDR en la población pediátrica.

## GM0 13

## OPTIMIZACIÓN DE PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN EN *Staphylococcus aureus* Y ANÁLISIS *IN SILICO* DE GENES DEL SISTEMA HSSRS

Galeano M.B.<sup>1,2</sup>, S. Robaldí<sup>1,2</sup>, T. Gordillo<sup>1,2</sup>, M. Ricardi<sup>1,3</sup>, M. Cassanelli<sup>4</sup>, R. Pereda<sup>4</sup>, M. Palomino<sup>1,2</sup>, P.M. Tribelli<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN), CONICET – Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Departamento de Química Biológica, FCEyN, UBA, Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup>Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Celular, FCEyN, UBA, Buenos Aires, Argentina; <sup>4</sup>Hospital General de Niños Pedro Elizalde, Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. marianabeleng@gmail.com

La obtención eficiente y económica de ADN es clave para estudios genómicos. En *Staphylococcus aureus*, la lisis celular representa un desafío por su gruesa pared de peptidoglicano comúnmente resistente a tratamientos habituales de extracción de ADN genómico. El objetivo de este trabajo fue optimizar un protocolo de lisis celular y extracción de ADN que prescinde del uso de enzimas costosas como la lisostafina, con el fin de facilitar el análisis de genes por técnicas de biología molecular. En su lugar, se realiza una lisis mecánica utilizando nitrógeno líquido y disrupción en mortero, seguida de extracción con fenol-cloroformo. Este protocolo fue implementado para la obtención de ADN de alta calidad y concentración ( $1413,2 \pm 553,8$  ng/ $\mu$ l) para la secuenciación genómica de 20 aislamientos clínicos de pacientes con fibrosis quística (FQ). Se realizó un análisis *in silico* de los genes *hssR* y *hssS*, que conforman el sistema sensor-respuesta implicado en la homeostasis del hemo. A partir del análisis genómico se identificaron los complejos clonales CC30, CC1, CC5 y CC22. Las secuencias aminoacídicas predichas se alinearon y compararon entre sí. Mientras que *HssR* mostró una alta conservación con sólo dos mutaciones puntuales, *HssS* presentó 14 variaciones distribuidas entre los aislamientos. Estas diferencias permitieron identificar patrones filogenéticos relacionados con el linaje de origen. Dado el rol regulador del sistema HssRS, estas mutaciones en *HssS* podrían impactar en la respuesta a estrés por hierro-hemo, con potencial relevancia en el contexto de coinfecciones pulmonares.

## GM0 14

## CARACTERIZACIÓN GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DEL MICROBIOMA FÚNGICO EDÁFICO EN SISTEMAS AGROFORESTALES TROPICALES CON DISTINTO USO AGRONÓMICO

Fasano M.C.<sup>1,2</sup>, A.L. Onetto<sup>1,2</sup>, M.L. Castrillo<sup>1,2</sup>, G.A. Bich<sup>1,2</sup>, P.D. Zapata<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María E. Reca”, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina; <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina. mcifasano@gmail.com

La diversidad fúngica edáfica del suelo tropical es un reservorio de potencial biotecnológico sub explorado mediante enfoques multivariados. Se abordó la vacancia integrando técnicas morfológicas y moleculares con el objetivo de evaluar el microbioma fúngico rizosférico de *Ilex paraguariensis* en tres sistemas contrastantes: 1. selva nativa, 2. manejo agroecológico y 3. agricultura intensiva. Las muestras fueron recolectadas entre 2019 y 2023 en áreas *buffer* UNESCO del Parque Nacional Iguazú. La identificación molecular se realizó mediante la extracción de ADN total del suelo utilizando un kit comercial. Las secuencias previamente reportadas en la zona fueron amplificadas utilizando los cebadores ITS1-F e ITS4, y alineadas mediante BLAST-NCBI. La identificación morfológica, se realizó sobre los morfotipos obtenidos a partir de la dilución  $10^{-3}$  del suelo, utilizando claves taxonómicas especializadas. Las abundancias relativas de géneros, fueron exploradas mediante análisis multivariado de coordenadas principales. Comprobado con *k-means*, se agrupó el sitio 3 con altas cargas de *Beauveria*, *Metarhizium*, endófitos y hongos no cultivables, mientras que el sitio 1 se asoció con *Fusarium*, *Verticillium*, *Penicillium* y *Bipolaris*. Esta riqueza fue ingresada a un modelo multivariado lineal generalizado indicando que el régimen de manejo agronómico influye significativamente sobre la estructura comunitaria fúngica, con géneros indicadores vinculados al contexto de uso edáfico.

## GM0 15

## CARACTERIZACIÓN METAGENÓMICA DE BACTERIAS PRESENTES EN UN BIOPREPARADO APLICADO AL CULTIVO DE YERBA MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)

Villarroel I.<sup>1,2</sup>, J.A. Ferreras<sup>1,2,3</sup>, C.P. Trentini<sup>1,2,3</sup>. <sup>1</sup>Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina; <sup>2</sup>Grupo de Investigación en Genética Aplicada (GIGA), Instituto de Biología Subtropical, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) – UnaM, Misiones, Argentina; <sup>3</sup>CONICET, Argentina. [ibarvillarroel12@gmail.com](mailto:ibarvillarroel12@gmail.com)

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) es un cultivo de gran relevancia económica y sociocultural en el noreste argentino. En el contexto de prácticas agrícolas más sustentables, los biopreparados elaborados a partir de microorganismos están cobrando interés por su potencial para mejorar el desarrollo vegetal y la salud del suelo. En este estudio, se caracterizó la comunidad bacteriana de un biopreparado formulado a partir de mantillo de bosque nativo, con el objetivo de evaluar su efecto sobre plantines de yerba mate mediante aplicaciones mensuales, actualmente en curso bajo condiciones de vivero. Para ello, se extrajo ADN total directamente del biopreparado y se amplificó la región V3-V4 del gen 16S rRNA mediante reacción en cadena de la polimerasa, utilizando los primers 341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) y 805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC). La amplificación fue seguida por secuenciación en la plataforma MinION (Oxford Nanopore Technologies). El análisis taxonómico se realizó mediante herramientas bioinformáticas específicas del flujo de trabajo Metagenomics de Epi2me Labs. Este análisis reveló una comunidad bacteriana con alta riqueza de especies (264 OTUs), destacándose la abundancia de miembros del género *Lentilactobacillus* (65%). La inoculación con estos microorganismos ha demostrado modificar comunidades microbianas en sistemas de conservación de pastos y leguminosas forrajeras, favoreciendo su crecimiento. Por lo tanto, los resultados obtenidos sientan las bases para explorar el rol ecológico de la familia *Lactobacillaceae* y su posible interacción con la rizósfera de la yerba mate.

## GM0 16

## EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE *Acinetobacter baumannii*: CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE CLONES MULTIRRESISTENTES PREVALENTES EN URUGUAY

Boiani P.<sup>1</sup>, M.L. Cavallo Lechini<sup>1,2</sup>, M. Outeda Arlas<sup>3</sup>, M. Macedo-Viñas<sup>4</sup>, M.S. Ramirez<sup>5</sup>, G.M. Traglia<sup>1</sup>. <sup>1</sup>CENUR Litoral Norte, Universidad de La República, Salto, Uruguay; <sup>2</sup>Hospital ASSE, Salto, Uruguay; <sup>3</sup>Hospital CASMU, Montevideo, Uruguay; <sup>4</sup>Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Montevideo, Uruguay; <sup>5</sup>California State University Fullerton, Fullerton, CA, Estados Unidos. [gertral3a@gmail.com](mailto:gertral3a@gmail.com)

Las infecciones bacterianas causan millones de muertes anualmente a nivel global, exacerbadas por la aparición de bacterias multirresistentes, entre las que destaca *Acinetobacter baumannii* (Ab), un patógeno nosocomial prioritario. Su éxito como agente infeccioso se debe a su alta resistencia a antimicrobianos y a su persistencia en entornos hospitalarios, facilitada por la formación de biopelículas. En Uruguay, existe escasa información sobre la epidemiología molecular de Ab, sus mecanismos de resistencia y clones circulantes. El objetivo fue caracterizar genómicamente cepas multirresistentes mediante secuenciación completa y análisis filogenéticos. Se secuenciaron 19 cepas provenientes de hospitales de Montevideo y Salto usando la plataforma Illumina NovaSeq. El análisis bioinformático incluyó control de calidad, ensamblado, anotación, tipificación por MLST (Multilocus Sequence Typing) y predicción de genes de resistencia con el programa Nullarbor. Diecisiete cepas pertenecieron al ST25 y dos al ST79 (Montevideo). Se identificaron entre 7-11 genes de resistencia por genoma; todos presentaron *bla* OXA-65, *bla* ADC-25, *sul2*, *strA* y *strB*. Además, se detectaron genes de resistencia a carbapenémicos de relevancia clínica *bla* OXA-23 (15/19) y *bla* NDM-1 (2/19). El análisis filogenético con Roary e IQ-TREE2 reveló que las cepas uruguayas formaron dos grupos monofiléticos relacionados con aislamientos de Argentina y Brasil. Estos hallazgos aportan evidencia sobre la circulación regional de clones epidémicos y resaltan la necesidad de vigilancia genómica continua.

## GM0 17

## SH95 I-FICRISPR-CAS CO-LOCALIZA CON REGULADORES HTH Y PRODUCE ESCENARIOS NOVEDOSOS DE REPROGRAMACIÓN PLASMÍDICA

Molina M.C., C. Quiroga. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, CONICET - UBA, Buenos Aires, Argentina. molinamariacarolina@gmail.com

Los sistemas CRISPR-Cas son nucleasas guiadas por ARNs cuya diversidad se distribuye en dos clases y 44 variantes. Sin embargo, pocos de ellos han sido transferidos y redireccionados fuera de su organismo de origen. En este trabajo mostramos la reprogramación del sistema CRISPR-Cas I-F1 del aislamiento clínico *Shewanella xiamenensis* Sh95 y describimos que co-localiza con reguladores HTH (proteínas con dominios hélice-giro-hélice). Los resultados de reprogramación endógena indican que se encuentra activo a nivel transcripcional y funcional, permite curar plásmidos y recuperar colonias re-sensibilizadas a kanamicina ( $\Delta aph3'$ ). Mediante clonado de la maquinaria de interferencia y diseño de guías sintéticas específicas (anti-*gfp*,  $-bla_{TEM}$ ,  $-csqD$ ), transferimos este sistema a distintas cepas bacterianas. Tanto por ensayos de interferencia y fenotípicos relacionados a los genes blanco, como por PCR y secuenciación, demostramos que este sistema puede ser transferido y redireccionado para reconocer y actuar sobre secuencias específicas en plásmidos y cromosoma. A su vez, describimos dos escenarios novedosos de reprogramación plasmídica que involucran la obtención de plásmidos con deleciones y la coexistencia de moléculas editadas y sin editar. Así, la reprogramación de Sh95 I-F1CRISPR-Cas permite el reconocimiento y degradación de la secuencia blanco, conduce a eventos de edición novedosos y puede permitir la re-sensibilización a los antibióticos. Creemos que este sistema podría constituir una herramienta valiosa para el área de la edición genética y el control de patógenos.

