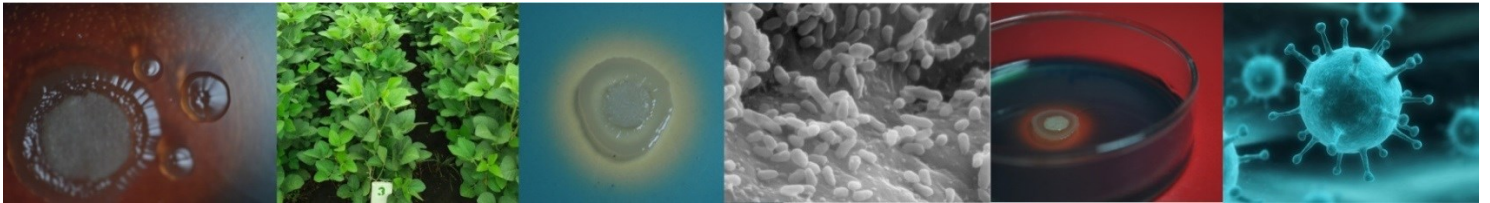


IV CAMAyA

IV Congreso Argentino de Microbiología

I MicroGen

I Jornada de Microbiología General



Libro de Resúmenes

11, 12 y 13 de Abril de 2018
Hotel 13 de Julio, Mar del Plata, Argentina



AUSPICIANTES



Facultad de Ciencias Exactas | UNLP



Universidad
Nacional
Villa María

Instituto Académico
Pedagógico de Ciencias
Básicas y Aplicadas



Comisión Directiva de la AAM

Presidente: Gustavo Giusiano
Vicepresidente: Adriana Sucari
Secretaria: Estefanía Benedeti
Secretaria de actas: Sandra Pampuro
Prosecretario: Juan Stupka
Tesorera: Paula Gagetti
Protesorero: María Cecilia Freire
Vocal Titular 1º: Manuel Gómez Carrillo
Vocal Titular 2º: Oscar Alberto Taboga
Vocal Titular 3º: Lucía Cavallaro
Vocal Titular 4º: Sergio Epsztein
Vocal Suplente 1º: Susana Vazquez
Vocal Suplente 2º: Marina Bottiglieri
Vocal Suplente 3º: Gerardo Leotta
Vocal Suplente 4º: Roberto Suárez Álvarez

Comisión Directiva de la DIMAYA

Presidente: Olga Correa
Vicepresidente: Diego Sauka
Secretaria: Susana Vázquez
Secretaria de Actas: Bibiana Coppotelli
Tesorera: Cecilia Quiroga
Vocal Titular 1º: Rosana Massa
Vocal Titular 2º: Cecilia Mestre
Vocal Suplente 1º: Noelia Gardella
Vocal Suplente 2º: Natalia Fernández

COMISIÓN ORGANIZADORA

VI CAMAyA

Presidente: Cecilia Creus (UNMdP)
Vicepresidente 1º: Anibal Lodeiro (UNLP-CONICET)
Vicepresidente 2º: Fernanda Covacevich (CONICET-INTA)
Secretaria General: Natalia Fernández (UNComa-CONICET)
Secretaria Científica: Cecilia Quiroga (UBA-CONICET)
Secretaria Técnica: Gabriela Fasciglione (UNMdP-CONICET)
Secretaria de Actas: Cecilia Mestre (UNComa-CONICET)
Secretaria de Finanzas: Viviana Chiocchio (UBA)
Vocales
Alejandra Pereyra (UNMdP)
Diego Sauka (INTA-CONICET)
Keren Hernández Guijarro (INTA)
Mabel Casanovas (UNMdP)
Comité Científico
Betina Agaras (DCyT-UNQ)
Bibiana Coppotelli (CINDEFI-CONICET-UNLP)
Elías Mongiardini (IBBM-CONICET-UNLP)
Guillermo Maroniche (CONICET-UNMdP)
Julieta Pérez Giménez (IBBM-CONICET-UNLP)
Luciana Pagnussat (CONICET-UNMdP)

María Florencia Del Papa (IBBM-CONICET)
Nelda Olivera (IPEEC-CENPAT-CONICET)
Susana Vázquez (NANOBIOTEC UBA-CONICET)
Comité Técnico
María Paula Borrajo (CONICET)

I MicroGen

Presidente: Ángel Cataldi (INTA-CONICET)
Vicepresidente 1º: Nora Pierangeli (UNComa)
Secretaria Científica: Daniela Centrón (UBA-CONICET)
Secretaria Técnica: María Paula Quiroga (UBA-CONICET)
Secretaria de Relaciones Institucionales:
Nelda Olivera (IPEEC-CENPAT-CONICET)
Comité Científico
Catalina Alba Soto (UBA-CONICET)
Laura Delgui (IHEM-CONICET)
Oscar Taboga (INTA-CONICET)
Pablo Power (UBA-CONICET)
Silvina Wilkowsky (INTA-CONICET)

IV CAMAyA · I MicroGen

Disertantes Invitados

Ana Romero (FAUBA)

Alfonso Soler-Bistué (UNSAM-CONICET)

Antonio Lagares (UNLP-CONICET)

Carlos Nieto Peñalver (PROIMI-CONICET)

Cecilia Alonso (Universidad de la República, Uruguay)

Cecilia Demergasso (Universidad Católica del Norte, Chile)

Claudio Valverde (UNQ-CONICET)

Conrado Adler (INSIBIO-UNT-CONICET)

Corina Berón (IIIBB-FIBA-CONICET)

Diego Libkind Frati (IPATEC-CONICET-UNCOMA)

Diego Sauka (INTA-Castelar-CONICET)

Diego Serra (Humboldt-Universität zu Berlin, Alemania)
(videoconferencia)

Elena Barbieri (CESIMAR-CENPAT-CONICET)

Eleonora Campos (INTA-Castelar-CONICET)

Emilio Marguet (UNPSJB)

Eva Figuerola (INGEBI-CONICET)

Facundo Quiroz (INTA-Balcarce)

Fernando Pieckenstain (IIB-INTECH Chascomús)

Fernando Unrein (IIB-INTECH-UNSAM-CONICET)

Geman Ceizel (Dirección de Biotecnología, Ministerio de Agroindustria, SAV-SSBI)

Gonzalo Torres Tejerizo (IBBM-UNLP-CONICET)

Gustavo Gonzalez Anta (Rizobacter Argentina S.A., UNNOBA)

Hugo Sarmento (Universidade Federal de São Carlos, Brasil)

Iván Bontempi (UNL-CONICET)

Irma Morelli (CINDEFI-UNLP)

Joel Arneodo (INTA Castelar)

José Luis Lopez (FFyB-UBA-CONICET)

Josefina Campos (ANLIS-Malbrán)

Juan Pablo Busalmen (INTEMA-CONICET-UNMdP)

Lawrence Wackett (University of Minnesota, USA)
(videoconferencia)

Laura Morvay (Htal. Materno Infantil Don Victorio Tetamanti)

Leonardo Curatti (INBIOTEC-CONICET)

Leonardo Erijman (INGEBI-CONICET)

Lía Pietrasanta (IFIBA-CMA-UBA-CONICET)

Luciana Robuschi (IIBIO-INTEMA-CONICET)

Lucas Maldonado (IMPam-CONICET-UBA)

Luis Wall (UNQ-CONICET)

María Celina Elisondo (UNMdP-CONICET)

María Eugenia Farías (PROIMI-CONICET)

María Laura García (IBBM-UNLP-CONICET)

María Margarita Rodríguez (UBA-CONICET)

María Teresa Del Panno (CINDEFI-UNLP-CONICET)

Mariana Lozada (CESIMAR-CENPAT-CONICET)

Marisol Vallejo (UNPSJB)

Mónica Collavino (IBONE-CONICET)

Prando Moore (INTA-CONICET)

Rosana De Castro (IIB-CONICET-UNMdP)

Sara Cuadros Orellana (Universidad Católica del Maule, Chile)

Silvia Estein (UNCPBA-CONICET)

Susana Jurado (SCME-FCV-UNLP)

Tania Taurián (UNRC-CONICET)

Victoria Alfonso (INTA-CONICET)

Viviana Mbayed (UBA-CONICET)

Walter Draghi (IBBM-UNLP-CONICET)

Walter Giordano (UNRC-CONICET)

Yolanda Andreoli (UNMdP)

PROGRAMA CIENTIFICO

IV CAMAyA

Miércoles 11 de Abril

8:00 a 9:00 *Registro e Inscripciones*

9:00 a 9:30 Sal3n Topacio - **Conferencia Apertura**

9:30 a 10:30 **CONFERENCIA PLENARIA**

Sal3n Topacio

María Eugenia Farías (LIMLA-PROIMI-CONICET). "Ecosistemas microbianos extremos de la Puna: el desafío de la conservación del patrimonio microbiológico frente el avance de la minería".

10:30 a 11:00 Sal3n Aguamarina - *Coffee break*

11:00 a 12:30 **MESAS REDONDAS SIMULTANEAS**

Sal3n Topacio - **MR1: Microorganismos promotores del crecimiento vegetal**

Coordinador: Antonio Lagares

Antonio Lagares (IBBM-UNLP-CONICET). "Moviloma plasmídico de una bacteria de suelo: Exploración del presente y recuerdos del pasado".

Luis Wall (UNQ-CONICET). "Evaluación del potencial PGPR de microorganismos, problemas y soluciones pendientes".

Fernando Pieckenstain (IIB-INTECH-Chascomús-CONICET). "Perspectivas para el control biológico de enfermedades del filoplano".

Sal3n Coral - **MR2: La ecología microbiana y su encuentro con la biotecnología ambiental**

Coordinadoras: Irma Morelli, Bibiana Coppotelli

Sara Cuadros Orellana (Universidad Católica del Maule, Chile). "Metagenómica aplicada a la extracción mineral: un estudio de caso de la minería de cobre".

Mariana Lozada (CESIMAR-CENPAT-CONICET). "Las comunidades microbianas del sedimento y su rol en la depuración de contaminantes: estudios metagenómicos en ambientes costeros fríos".

Irma Morelli (CINDEFI-UNLP-CONICET). "Desde las nuevas metodologías moleculares hacia la optimización de los procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos".

12:30 a 14:00 *Almuerzo*

14:00 a 15:00 **CONFERENCIA PLENARIA**

Salón Topacio

Cecilia Demergasso (Centro de Biotecnología "Profesor Alberto Ruiz", Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile). "Astrobiología-terrenos planetarios-habitats-signos de vida-habitats-marco geológico-geomicrobiología: los signos de vida reconocidos en la tierra son la base de la exploración para la búsqueda de vida en el espacio".

15:00 a 16:30 **MESAS REDONDAS SIMULTANEAS**

Salón Topacio – **MR 3: Tópicos selectos en bioprospección para una agricultura sustentable**

Coordinador: Leonardo Curatti

Leonardo Curatti (INBIOTEC-CCT-Mar del Plata-CONICET). "Bioprospección de microalgas y su integración en fábricas celulares multitróficas".

Eleonora Campos (INTA-IB-CICVyA-CONICET). "CAZYmas bacterianas y su aplicación en aprovechamiento de biomasa lignocelulósica".

Walter Giordano (Facultad de Ciencias Exactas, Físicoquímicas y Naturales-UNRC-CONICET). "Estudios fisiológicos, bioquímicos y moleculares en rizobios nativos: Aplicación de biofertilizantes para una agricultura sustentable".

Salón Coral – **MR 4: Microorganismos de ambientes extremos**

Coordinadoras: Susana Vázquez, Cecilia Quiroga

María Eugenia Farías (LIMLA-PROIMI-CONICET). "Ecosistemas microbianos extremos de la puna: explorando los metagenomas de los ecosistemas más antiguos del planeta".

José Luis López (FFyB-UBA). "Rodopsinas e inteínas virales en ambientes antárticos, su potencial uso biotecnológico".

Rosana De Castro (IIB-CONICET-UNMdP). "Sistemas proteolíticos de arqueas halófilas: biología y aplicaciones biotecnológicas".

16:30 a 17:00 Salón Aguamarina - *Coffee break*

17:00 a 18:15 **COMUNICACIONES ORALES**

Salón Topacio - **CO 1: Microorganismos promotores del crecimiento vegetal**

Lastra, RA; Castagno, LN; Estrella, MJ; Pieckenstain, FL. Estudio taxonómico y funcional de bacterias productoras de sideróforos como potenciales biocontroladoras de hongos fitopatógenos.

Medeot, DB; Flores-Cáceres, ML; Liaudat, JP; Jofré, E. Utilización de *Bacillus amyloliquefaciens* MEP218 productor de lipopéptidos cíclicos como agente de control biológico de patógenos fúngicos en frutos postcosecha y su potencial modo de acción.

Salvatierra, M. Flavia; Marcos Valle, Facundo; Mastrangelo, Matías; Castellari, Claudia; Villarino, Sebastián. Grupos microbianos edáficos asociados a diferentes sistemas productivos de la región chaqueña argentina.

Pagnussat, L; Maroniche, G; Curatti, L; Creus, C. Las auxinas producidas por *Azospirillum brasilense* serían necesarias pero no suficientes para la promoción del crecimiento de microalgas oleaginosas.

Salón Coral- CO 2: Ecología y fisiología microbiana

Ibarra, J; Almasqué, F; López, N; Vullo, D; Raiger lustman, L. Diferencias en la diversidad de comunidades bacterianas de huertas periurbanas sometidas a descarga de contaminantes.

Bañuelos Vazquez, LA; Torres-Tejerizo, G; Cervantes-de La Luz, L; Girard, L; Romero, D; Brom, S. Los nódulos son nichos adecuados para la transferencia de plásmidos de rizobios.

Martínez, F; Aparicio, M; Rajal, V; Irazusta, V. Efecto de la presencia de litio sobre la morfología celular y síntesis diferencial de proteínas en la cepa halotolerante *Micrococcus* sp SA211.

Mihelj, P; Montiel González, J; González-Guerrero, M; Raimunda, D. El transportador AitP de *Sinorhizobium meliloti* media la homeostasis de hierro en condiciones de vida libre y en simbiosis con *Medicago truncatula*.

18:15 **Cóctel de Bienvenida**

18:15 a 20:00 **POSTERS**

Salón Aguamarina - Sesión de posters A

AREAS TEMÁTICAS: Microorganismos promotores del crecimiento vegetal, Microbiología de suelos agrícolas y forestales, Procesos biotecnológicos que involucran microorganismos, Microbiología de ambientes extremos.

Jueves 12 de Abril

9:00 a 10:30 **MESAS REDONDAS SIMULTANEAS**

Salón Topacio - MR 5: Interacciones y señalización intra e interespecíficas en comunidades bacterianas

Coordinador: Claudio Valverde

Conrado Adler (INSIBIO-UNT-CONICET). "Interacciones interespecies en el microbioma de la caña de azúcar".

Carlos Nieto Peñalver (LIMLA-PROIMI-CONICET). "Regulación por *quorum sensing*: no estamos solos".

Diego Serra (Humboldt-Universität zu Berlin, Alemania), videoconferencia. "Señalización por c-di-GMP en el control de la arquitectura de *biofilms* de *Escherichia coli*".

Salón Coral – MR 6: Diversidad y ecología de microorganismos acuáticos

Coordinadores: Fernando Unrein, Susana Vázquez

Fernando Unrein (IIB-INTECH-Chascomús-CONICET). "Citometría de flujo y secuenciación masiva: una combinación promisorio para el estudio de la diversidad de microorganismos acuáticos no cultivables".

Cecilia Alonso (Universidad de la República de Uruguay). "De la ecofisiología a las funciones ecosistémicas: producción y transferencia de biomasa bacteriana en sistemas acuáticos".

Hugo Sarmiento (Universidad Federal de São Carlos, Brasil). "El microbioma del océano".

Salón Acuario – MR 7: Fitopatología: del campo al laboratorio, y al campo otra vez

Coordinadoras: Ana Romero, Betina Agaras

Ana Romero (FAUBA). "¿El cancro bacteriano en tomate será historia en la provincia de Buenos Aires?".

Facundo Quiroz (INTA-EEA Balcarce). "La podredumbre húmeda del girasol por *Sclerotinia sclerotiorum*, estudios de las interacciones planta-patógeno-ambiente".

María Laura García (IBBM-CCT-La Plata-CONICET). " Cultivos resistentes a virus en una citricultura moderna".

10:30 a 11:00 Salón Aguamarina - *Coffee break*

11:00 a 12:00 **CONFERENCIA PLENARIA**

Salón Topacio

Diego Libkind Frati (IPATEC-CONICET-UNComa). "Del bosque a la industria: odisea de una levadura patagónica".

12:00 a 13:30 *Almuerzo*

13:30 a 14:30 **CONFERENCIA PLENARIA**

Salón Topacio

Juan Pablo Busalmen (INTEMA-CONICET-UNMdP). "Bacterias electro-activas: mis villanas favoritas".

14:30 a 16:00 **MESAS REDONDAS SIMULTANEAS**

Salón Topacio - **MR 8: El rol de los microorganismos en el tratamiento de residuos**

Coordinadora: Bibiana Coppotelli

Leonardo Erijman (INGEBI-CONICET). "Biocobertura para la mitigación de emisiones de gases de efecto invernadero en rellenos sanitarios".

Juan Pablo Busalmen (INTEMA-CONICET-UNMdP). "Mis villanas favoritas II: el humedal recargado".

María Teresa Del Panno (CINDEFI-UNLP-CONICET). "Aplicación de estrategias combinadas en la remediación de residuos petroquímicos".

Salón Coral – **MR 9: Comunidades bacterianas involucradas en los ciclos de P y N: cuando la agricultura deja su marca**

Coordinadoras: Betina Agaras, Mónica Collavino

Tania Taurian (UNRC-CONICET). "Impacto de prácticas agrícolas sobre bacterias solubilizadoras de fosfato asociadas al cultivo de maní".

Mónica Collavino (IBONE-UNNE-CONICET). "El análisis de ARN-*nifH* revela filotipos relacionados con *Geobacter* y *Cyanobacteria* como importantes componentes funcionales de la fijación de N en suelo".

Eva Figuerola (INGEBI-CONICET). "Efecto de las prácticas agrícolas en la presencia y abundancia de bacterias desnitrificantes".

Salón Acuario – **MR 10: Biocontrol de plagas**

Coordinadores: Diego Sauka, Guillermo Maroniche

Diego Sauka (INTA-IMyZA-CONICET). "*Bacillus thuringiensis*: ¿nuevas aplicaciones para un viejo conocido? ".

Joel Arneodo (INTA-IMyZA-CONICET). "Patología de lepidópteros: virus y microsporidios".

Corina Berón (INBIOTEC-FIBA-CONICET). "Aplicación de bacterias en el control de poblaciones de mosquitos o en la manipulación de su capacidad vectorial".

16:00 a 16:30 Salón Aguamarina - *Coffee break*

Salón Topacio- CO 3: Microbiología de suelos agrícolas y forestales

Lorch, M; García Paris, P; Omacini, M; Valverde, C; Agaras, B. La aplicación reiterada de glifosato afecta tanto la abundancia como la estructura de la comunidad de *Pseudomonas* cultivables en suelos de pastizales de la pampa deprimida bonaerense.

Ludueña, L; Tortora, ML.; Alderete, M; Nuñez, MA; Criado, A; Fernandez de Ullivarri, J; Romero, ER; Digonzelli, PA. Evaluación del sistema de caña verde sobre las poblaciones microbianas del suelo y sus principales actividades metabólicas.

Morales, ME.; Allegrini, M; Arndt, H; Basualdo, J; Gomez, E; Zabaloy, MC. Análisis del potencial génico para la degradación de glifosato en bacterias rizosféricas de *Avena sativa* L.

Valetti, L; Ortega, L; Pastor, S. Evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista mediante micoparasitismo de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Valsa ceratosperma* (agente causal de la cancrrosis papirácea del manzano).

Salón Coral – CO 4: Tratamiento y valorización de residuos

Benzzo, M; Cian, E; Ariel, P; Seluy, L; Comelli, R. Empleo de Bacterias ácido lácticas como plataformas para la valorización de efluentes líquidos y sub-productos agroindustriales.

Meini, MR; Cabezudo; I; Romanini, D. Aplicación de enzimas fúngicas para la extracción de polifenoles del desecho orujo de uva.

Piazza, A; Ciancio, L; Pacini, VA; Sanguinetti, G; Ottado, J; Gottig, N. Caracterización de Comunidades Bacterianas Oxidantes de Manganeso (II) presentes en plantas de tratamiento de aguas y aislamiento de las oxidantes más eficientes.

García García, JD; Iliná, A; Ventura, J; Michelena, G; Nava, E; Martínez, JL. Microencapsulación de bioactivos de fitasas de *Aspergillus niger* producidas en triticales por fermentación sólida.

Salón Acuario – CO 5: Microbiología general

Nizovoy, P; Libkind, D; Bellora, N; Moliné, M. Re-ensamblaje y anotación de la levadura psicrófila *Naganishia vishniaci*.

Calderoli, P; Lozada, M; Dionisi, H. Diversidad de enzimas extracelulares que depolimerizan alginatos en sedimentos de Bahía Ushuaia.

López-Guerra, G; Lodeiro, A; Althabegoiti, MJ. Colonización de granos de arena por *Bradyrhizobium diazoefficiens*.

Cogliati, S; Francisco, M; Porta, E; Clementi, V; Lobais, C; Boselli, V; Pellegrini, N; Grau, R. Evaluación de la actividad microbicida, esporocida y anti-biofilm de nuevas nanopartículas metálicas como alternativa contra patógenos multi-resistentes.

17:45 a 20:00 **POSTERS**

Salón Aguamarina - Sesión de posters B

AREAS TEMATICAS: Microbiología aplicada, Interacciones de microorganismos con organismos superiores, Monitoreo y biorremediación de ambientes contaminados, Ecología microbiana, Tratamiento microbiano de residuos sólidos y líquidos, Hongos y levaduras ambientales, Biodiversidad y funcionamiento de ecosistemas acuáticos y terrestres.

Viernes 13 de Abril

9:00 a 10:30 **MESAS REDONDAS SIMULTANEAS**

Salón Topacio - MR 11: Micro-ómicas: aplicación de técnicas high throughput en el estudio global de microorganismos

Coordinadores: Elías Mongiardini, Julieta Pérez Giménez

Sebastián Trejo (IMBICE-UNLP-CONICET). "Técnicas proteómicas y estrategias alternativas para el estudio de péptidos y proteínas por espectrometría de masas".

Walter Draghi (IBBM-UNLP-CONICET). "Una visión multi-ómica aplicada al estudio del estrés en bacterias".

Gonzalo Torres Tejerizo (IBBM-UNLP-CONICET). "Aplicación de la técnica Dual RNAseq en el modelo rizobio-leguminosa".

Salón Coral - MR 12: Debate de la REDCAI sobre problemáticas actuales de los bioinsumos microbianos

10:30 a 11:00 Salón Aguamarina - *Coffee break*

11:00 a 12:00 **CONFERENCIA PLENARIA**

Salón Topacio

Claudio Valverde (LBMIBS-UNQ-CONICET). "Pequeños pero poderosos: riborreguladores en rizobacterias probióticas vegetales y rizobios simbióticos".

12:00 a 13:30 *Almuerzo*

13:30 a 14:30 **CONFERENCIA PLENARIA**

Salón Topacio

Lawrence Wackett (University of Minnesota), videoconferencia. "Rapid evolution of new enzymes by bacteria".

(Actividad patrocinada por American Society for Microbiology y conjunta con I MicroGen)

14:30 a 16:00

MESAS REDONDAS SIMULTANEAS

Salón Topacio – MR 13: Cuando la investigación básica se vuelve aplicada: desde el desarrollo hasta la comercialización de un bioinsumo

Coordinadoras: Nelda Olivera, Betina Agaras

Gustavo González Anta (Rizobacter S.A.). "Presente y Futuro de las Micro-Bio-Tecnologías en el siglo XXI".

Germán Ceizel Borella (Dirección de Biotecnología-MinAgro, SAV-SSBI). "El rol del CABUA como promotor del desarrollo y el uso de los bioinsumos de uso agropecuario en Argentina"

Disertante a definir

Salón Coral – MR 14: Aplicaciones de microscopía al estudio de microorganismos

Coordinadoras: Cecilia Quiroga, Luciana Pagnussat

Lía Pietrasanta (IFIBA-CMA-FCEN-UBA). "Microscopía de fuerza atómica en microbiología: más allá de la topografía".

Susana Jurado (SCME-FCV-UNLP). "Microscopía electrónica: su utilización en estudios microbiológicos".

Luciana Robuschi (IIBIO-INTEMA-CONICET). "Microscopia raman confocal para el estudio *in situ* e *in vivo* de biofilms electrogénicos".

16:00 a 16:30

Salón Aguamarina - *Coffee break*

16:30 a 17:45

COMUNICACIONES ORALES

Salón Topacio - CO 6: Microorganismos involucrados en la degradación de contaminantes

Gallia, M; Spatola Rossi, T; Erijman, L; Figuerola, E. Estudio de las interacciones entre miembros de un consorcio productor de biogás.

Macchi, M; Irazoqui, JM; Nieto, E; Amadio, A; Coppotelli, B. Reconstrucción automática de una red metabólica específica guiada por datos genómicos y filogenéticos en un consorcio bacteriano degradador de PAH.

Massot, F; Thijs, S; Gkorezis, P; Giulietti, AM; Vangronsveld, J; Merini, LJ. Estudios genómicos en bacterias tolerantes y degradadoras de glifosato para su utilización en estrategias de rizadorremediación.

Sadañoski, MA; Tatarin, AS; Barchuk, ML; Zapata,PD; Levin, LN; Villalba, LL. Efecto del co-cultivo de dos basidiomicetes en la secreción de enzimas involucradas en la remoción de Bifenilos Policlorados (PCBs).

Salón Coral - CO 7: Microbiología aplicada

Agustín, MdR; Brugnoli, LI. Caracterización fenotípica de *Listeria monocytogenes* a diferentes temperaturas: movilidad, producción de EPS, supervivencia en jugo de manzana e interacciones con levaduras residentes de la industria.

Latorre, M; Libkind, D. Identificación molecular de microorganismos contaminantes de cerveza artesanal de la Patagonia Andina.

Pin Viso, N; Díaz Carrasco, J; Redondo, E; Fernandez Miyakawa, M; Farber, M. Análisis comparativo de la microbiota de ciegos de pollos de engorde para la caracterización de variables que contribuyan a mejoras en la productividad.

Pérez, MP; Sauka, DH; Onco, MI; Benintende, GB. Selección y mejoramiento de un medio de cultivo para obtener una mayor biomasa activa de la cepa nativa *Bacillus thuringiensis* INTA Mo4-4.

17:45 a 19:45 **POSTERS**

Salón Aguamarina - Sesión de posters C con cerveza.

AREAS TEMATICAS: Formulación de inoculantes, Biofilms y biodeterioro, Enseñanza de la microbiología, Otros.

Posters I MicroGen – MG.

19:45 a 20:00 **Cierre de Congreso**

I MicroGen

Viernes 13 de Abril

8:00 a 8:40 **Registro e Inscripciones**

8:40 a 9:55 **MESA REDONDA**

Salón Acuario – MR 15: Nuevas tecnologías aplicadas al estudio de helmintos

Coordinadoras: Laura Kamenetzky, Nora Pierangeli

Lucas Maldonado (UBA-Fmed-IMPam-CONICET). "Genética y genómica aplicada al estudio de la hidatidosis".

Gisela Franchini (INIBIOLP-CONICET-UNLP). "Identificación y caracterización de antígenos para su uso en el desarrollo de Métodos Diagnósticos de helmintiasis huérfanas".

Celina Elisondo (IPROSAM-UNMdP-CONICET). "Farmacoterapia experimental de la echinococcosis: estado actual y nuevas perspectivas".

9:55 a 10:30

MINI CONFERENCIA 1

Salón Acuario

Josefina Campos (ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"). "Genómica aplicada a la vigilancia de enteropatógenos".

10:30 a 11:00

Salón Aguamarina - *Coffee break*

11:00 a 12:15

MESA REDONDA

Salón Acuario – **MR 16: Biología y biotecnología de microorganismos en reservorios no humanos con impacto en Salud Pública**

Coodinadora: Mónica Sparo

Yolanda Andreoli (UNMdP). "Contaminación bacteriológica del agua para consumo humano: marco conceptual y su problemática".

Emilio Marguet (UNSB). "Factores de virulencia y resistencia a metales pesados en cepas de enterococos ambientales de la Provincia del Chubut".

Laura Morvay (Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil Don Victorio Tetamanti). "Impacto en salud pública de microorganismos ambientales: visión de un laboratorio de microbiología clínica".

Marisol Vallejo (UNSB). "Producción de péptidos antimicrobianos por bacterias lácticas del ecosistema patagónico".

12:15 a 12:50

MINI CONFERENCIA 2

Salón Acuario

María Margarita Rodríguez (UBA-FFyB-CONICET). "*Kluyvera* sp.: jugador central en la conexión ambiente-hospital y en la diseminación mundial de las beta-lactamasas de espectro extendido CTX-M".

12:50 a 13:30

Almuerzo

13:30 a 14:30

CONFERENCIA PLENARIA

Salón Topacio

Lawrence Wackett (University of Minnesota)–videoconferencia. "Rapid evolution of new enzymes by bacteria"

(Actividad esponsorada por American Society for Microbiology y conjunta con IV CAMAyA)

14:30 a 15:50

MESA REDONDA

Salón Acuario – **MR 17: Vacunas: nuevos desafíos, nuevos desarrollos**

Coordinadores: Daniela Hozbor

Iván Bontempi (UNL-CONICET). "Diseño racional de una vacuna de subunidad

para *Trypanosoma cruzi*: Desde el desarrollo del adyuvante y la selección del antígeno hasta la evaluación experimental".

Silvia Estein (UNICEN-CONICET). "Estrategias vacunales contra brucelas rugosas".

Dadin Prando Moore (INTA-EEA-Balcarce-CONICET). "Variables inmunoparasitológicas en la neosporosis bovina".

16:00 a 16:30 Sal6n Aguamarina - *Coffee break*

16:30 a 17:05 **MINI CONFERENCIA 3**

Sal6n Acuario

Alfonso Soler Bistué (IIB-INTECH-UNSAM-CONICET). "Cuando el orden de los factores altera el producto: cambios fenot6picos asociados a la relocalizaci6n experimental de genes en *Vibrio cholerae*".

17:05 a 18:20 **MESA REDONDA**

Sal6n Acuario – **MR 18: Actualizaci6n en metodologías y aproximaciones al estudio de pat6genos virales**

Coordinadores: Laura Delgui, Oscar Taboga

Elena Barbieri (CESIMAR-CENPAT-CONICET). "Nanoanticuerpos VHHs como herramientas biotecnol6gicas: potenciales aplicaciones diagn6sticas y terap6uticas".

Victoria Alfonso (INTA-CONICET). "Estudios b6sicos del baculovirus AcMNPV y su impacto en el desarrollo de herramientas biotecnol6gicas".

Viviana Mbayed (FFyB-UBA-CONICET). "Controles virales utilizados en virología ambiental y alimentaria".

18:20 a 19:30 **POSTERS**

Sal6n Aguamarina **Sesi6n de posters MG con cerveza.**

Posters IVCAMaYA - Sesi6n C.

19:30 a 20:00 *Cierre de Jornada*

Curso poscongreso "Introducci6n a la gen6mica comparativa de procariotas"

Docente: Dr. Andr6s Iriarte, Universidad de la Rep6blica-Uruguay

Vacantes limitadas a 20 personas.

Fecha y horario: del 16 al 19 de Abril, de 13:00 a 20:00 h.

Lugar: Sede Central AAM. Dean Funes 472. CABA

Organizadora: Cecilia Quiroga - cc.quiroga@gmail.com

Para m6s informaci6n: <https://sites.google.com/view/camaya2018/curso-poscongreso>

RESUMENES

IV CAMAyA

IV Congreso Argentino de Microbiología
Agrícola y Ambiental

I MicroGen

I Jornada de Microbiología General

CONFERENCIAS PLENARIAS

ECOSISTEMAS MICROBIANOS EXTREMOS DE LA PUNA: EL DESAFÍO DE LA CONSERVACIÓN DEL PATRIMONIO MICROBIOLÓGICO FRENTE AL AVANCE DE LA MINERÍA.

María Eugenia Farías (1)

(1) Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas de Lagunas Andinas (LIMLA), Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI), CCT, CONICET, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

Coautores: Mariana Soria (1), Luis Saona (1), Tatiana Stepanenko (1), Agustina Lencina (1), Omar Ordoñez (1), Daniel Kurt (1)

Los Salares volcanes activos y humedales de la Puna son uno de los ambientes mas extremos del planeta. La alta radiación UV, el contenido extremo de arsénico, la alta salinidad y el bajo contenido de oxígeno disuelto, junto con la influencia de volcanes activos, las extremas fluctuaciones diarias de temperatura y las condiciones oligotróficas, configuran un ambiente que recrea la Tierra primitiva y, más aún, las condiciones de planetas extraterrestres. El reciente descubrimiento de ecosistemas arcaicos vivos como son los microbialitos (para este tipo de ambientes en Argentina, Chile y Bolivia. Habiéndose estromatolitos) en la Puna Argentina, ha aumentado el interés en esta área como una contraparte tierra primitiva. Desde entonces, y hasta ahora, hemos iniciado una prospección prospectado alrededor de 120 ambientes, de las cuales, alrededor del 30% albergan algún tipo de estos ecosistemas (microbialitos, tapetes microbianos y evaporitas). Desde un modelo como sumideros de carbono en zonas desérticas, ser la base de la productividad primaria en las lagunas andinas, o retener la humedad del suelo para evitar el fenómeno de viento de sal andino minero, hasta conservar los registros de la explosión de las ultimas supernovas cercanas, o generar desarrollo de proyectos de turismo científico en las comunidades originarias, los ecosistemas microbialitos modernos de la Puna generan fascinación en la ciencia. En este contexto contaré en esta conferencia la *cruzada* que se esta llevando en la actualidad para proteger estos ecosistemas, en el contexto de la Fiebre del Li que acomete los salares del Altiplano. Lográndose, por primera vez, desde que los ecosistemas microbianos sean tenidos en cuenta en las líneas de base y estudios de impacto ambiental en proyectos de minería no metalífera, hasta lograr detener la extracción de agua del salar de uno de los proyectos de minería no metalífera mas importante de Sudamérica.

**ASTROBIOLOGÍA-TERRENOS PLANETARIOS-HABITATS-SIGNOS DE VIDA-HABITATS-
MARCO GEOLÓGICO-GEOMICROBIOLOGÍA:
LOS SIGNOS DE VIDA, RECONOCIDOS EN LA TIERRA, SON LA BASE DE LA EXPLORACIÓN
PARA LA BÚSQUEDA DE VIDA EN EL ESPACIO**

Cecilia Demergasso (1)

(1) Centro de Biotecnología "Profesor Alberto Ruiz", Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile

El estudio de la habitabilidad en planetas y en sitios específicos en estos planetas ha sido y es uno de los focos de estudio de la astrobiología. Una vez inferida la existencia de condiciones adecuadas para la vida, como nosotros la conocemos, la exploración en astrobiología requiere definir los hábitats potenciales, los rastros que puede haber dejado la vida en esos hábitats y la posibilidad de que esos rastros hayan sido preservados. Así como la guía para definir la habitabilidad es nuestro conocimiento de la evolución de la vida en la tierra, la definición de los hábitats, el tipo de vida y sus potenciales signos se basa en el estudio de los sitios análogos, por ejemplo, a estados primitivos de Marte. El Desierto de Atacama y el Altiplano, caracterizado como un dominio salino, ofrecen una variedad de estos sitios análogos. Es necesario definir el marco geológico de estos sitios, los organismos presentes, su distribución, y los impactos detectables en la geoquímica del ambiente (moléculas orgánicas, biominerales, gradientes). La selección de los signos potenciales de vida (*biosignatures*) en Marte, en base al estudio de ambientes análogos, fundamenta la investigación orientada a definir, entre otros, la instrumentación requerida y los sitios de aterrizaje de próximas misiones a Marte.

DEL BOSQUE A LA INDUSTRIA: LA ODISEA DE UNA LEVADURA PATAGÓNICA

Diego Libkind (1)

(1) Lab. de Microbiología Aplicada, Biotecnología y Bioinformática, Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales (IPATEC), CONICET-Univ. Nacional del Comahue, S. C. Bariloche, Argentina.

Las levaduras, hongos microscópicos con hoy más de 2000 especies reconocidas, se encuentran prácticamente en todo tipo de ambiente natural. Al igual que en plantas y animales, existen especies de levaduras domesticadas que se encuentran solo en procesos fermentativos tradicionales o industriales. Se conoce poco del proceso de domesticación/industrialización microbiana a nivel genético principalmente debido a que en muchos casos no se cuenta con las cepas salvajes parentales para comparar. Dentro de estas, sin duda la levadura Lager, con la cual se produce 95% de la cerveza a nivel mundial, es una de las más relevantes. Se trata de un híbrido denominado *S. pastorianus* producto de la fusión de una levadura cervecera del tipo Ale (*S. cerevisiae*) y una levadura sacromicética adaptada al frío, que hasta hace poco tiempo se desconocía su origen. Fue en los bosques de la cordillera patagónica Argentina que se encontró el hábitat natural del parental faltante y que fuera descrito como *S. eubayanus*. Este descubrimiento permitió entender mejor las bases genéticas del proceso de domesticación microbiana, y además abrió la posibilidad de generar nuevas levaduras Lager mediante hibridización o utilizar *S. eubayanus* directamente para fabricar cerveza. A pesar de su condición salvaje, ya se comercializa cerveza industrial elaborada con *S. eubayanus* en Europa, Asia, EEUU y pronto en la Argentina, denominada "Lager salvaje". Se están desarrollando versiones mejoradas genéticamente que no solo tendrían impacto en la industria de la cerveza, sino también en otras industrias de bebidas y alimentos fermentados. Permite la fabricación de la primera cerveza 100% argentina y, en sí mismo y por las implicancias asociadas, representa un caso emblemático de transferencia tecnológica para el país.

BACTERIAS ELECTRO-ACTIVAS: MIS VILLANAS FAVORITAS

Juan Pablo Busalmen (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA), Mar del Plata, Argentina.

Hace 15 años el descubrimiento de bacterias capaces de interactuar eléctricamente con un electrodo polarizado abrió la puerta hacia un mundo fascinante, en el cual la utilización de técnicas electroquímicas permite analizar, comprender y controlar los procesos celulares microbianos. La electro-microbiología como se ha dado en llamar a esta nueva área de investigación, se desarrolló inicialmente a través del estudio de los *biofilms* electrogénicos, potenciada por el interés que despiertan las muy variadas aplicaciones que éstos pueden tener. En esta charla se presentarán los fundamentos de la interacción eléctrica entre bacterias y electrodos y se describirá el trabajo realizado en el Intema sobre biofilms electrogénicos, con la intención de mostrar que las villanas de siempre serán las favoritas de muchos en un futuro que de mínima, ya tiene bacterias *cíborg*.

PEQUEÑOS PERO PODEROSOS: RIBORREGULADORES EN RIZOBACTERIAS PROBIÓTICAS VEGETALES Y RIZOBIOS SIMBIÓTICOS

Claudio Valverde (1)

(1) Laboratorio de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas del Suelo, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes – CONICET, Bernal, Argentina.

Las células procariotas que habitan el suelo y ocasionalmente colonizan la rizosfera de plantas, se encuentran expuestas a condiciones ambientales variables y una fuerte competencia por espacio y nutrientes con otros organismos, que han forjado la evolución de múltiples mecanismos para ajustar la expresión genética y facilitar la adaptación. Entre ellos, un nivel de modulación -cuya dimensión y ubicuidad se han conocido muy recientemente- es el de la Riborregulación, es decir, el conjunto de mecanismos de control de la expresión genética que se basa en la actividad de moléculas de naturaleza polirribonucleotídica (ARN). Estos elementos riborregulatorios pueden ser: a) segmentos de la región líder no traducida de un ARN mensajero, que ajustan su actividad a través de estructuras secundarias alternativas cuya transición depende de la presencia de ligandos específicos (*riboswitches*) o de la temperatura (termosensores); b) moléculas de ARN independientes y no codificantes de tamaños que oscilan entre los 50 y 250 nt, que actúan controlando la función de otros tipos de ARN, de proteínas e incluso de ADN. A éstos, se los conoce colectivamente como *small non-coding trans-encoded regulatory RNAs*, o sencillamente sRNAs. La tecnología de secuenciación masiva de ARN (RNA-seq) ha permitido catalogar cientos de riborreguladores de ambos tipos en diferentes especies procariotas. Sin embargo, el ritmo de desarrollo del conocimiento sobre la función biológica de estas moléculas, de las señales y estímulos que controlan su función, y de su rol en la fisiología y el *fitness* de las células, es mucho menor, y constituye de hecho, el desafío actual en el ámbito de la riborregulación en procariotas. En esta presentación, a través de un recorrido por los trabajos desarrollados en nuestro laboratorio, se ilustrará el papel biológico relevante que algunos riborreguladores de tipo sRNA ejecutan en el control de la expresión genética y de procesos celulares clave en dos modelos de eubacterias que se asocian íntimamente a las raíces de plantas y que contribuyen a mejorar su nutrición y salud: el rizobio simbiótico de alfalfa *Sinorhizobium meliloti* 2011 y la cepa biocontroladora de fitopatógenos fúngicos *Pseudomonas protegens* CHA0.

RAPID EVOLUTION OF NEW ENZYMES BY BACTERIA

Lawrence Wackett (1)

(1) College of Biological Sciences, University of Minnesota, EE.UU.

Dr. Wackett investigates bacterial biodegradative metabolism. Most recently, the lab is investigating the biodegradation of fertilizer and other agricultural chemical amendments to soils, in an effort to decrease chemical inputs and water contamination. In another example, enzymes of herbicide biodegradation, see for example the UM-BBD atrazine pathway, were elucidated by our group. Bacteria initiate metabolism of atrazine via the enzyme atrazine chlorohydrolase for which we first reported the structure (Seffernick, et al, 2010). The lab has defined the novel cyanuric acid hydrolase protein family (Seffernick, et al, 2016) and delineated X-ray structures for this class; an example is shown at right.

Bioremediation: Studies on biodegradation provide opportunities for bioremediation of chemical contaminants in water. Personal care products (PCPs) are notoriously hard to bioremediate and are increasingly found in waters due to their widespread uses in society. We have demonstrated methods for predicting and enzymatically degrading certain of these compounds. In another case, cyanuric acid hydrolase is being used to remove cyanuric acid in food and water applications. The company Minnepura Technologies was founded to further develop some of the fundamental research for applying the knowledge in real-world remediation applications.

Biosynthesis: Basic and applied research: Microorganisms are being used in biotechnology to produce products ranging from antibiotics to specialty chemicals. Our laboratory investigates the fundamental mechanistic and structural issues underlying biological production of beta-lactone natural products and hydrocarbons. Beta-lactones are an emerging class of anti-cancer, anti-microbial, and anti-obesity products and our fundamental research is opening new opportunities to produce and test these compounds (Christenson, et al, 2017). The lab has discovered that one class of hydrocarbons is biosynthesized in a large multi-enzyme complex with a molecular weight of ~2 million, approaching the size of the ribosome. Structural and mechanistic studies are ongoing.

Enzyme-based sensors: We had previously worked with Bioo Scientific to help develop the MaxSignal Melamine kit for detection melamine in milk and other food products. This research has been extended to detect other compounds such nitrate in water systems.

Novel enzymes: The laboratory continues to study novel microbial enzymes that nature has evolved to handle millions of natural product and anthropogenic chemicals. This has led to the discovery of numerous novel enzymes and metabolic pathways.

GENÓMICA APLICADA A LA VIGILANCIA DE ENTEROPATÓGENOS

Josefina Campos (1)

(1) Plataforma de Genómica y Bioinformática INEI-ANLIS “Dr Carlos G. Malbrán”, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

La metodología de secuenciación de genoma completo (SGC) y el análisis de secuencias de genomas bacterianos se aplica desde sus inicios en diferentes áreas de investigación. En la actualidad, está siendo utilizada en salud pública, en la identificación de especies, genes de virulencia y resistencia, y en investigación de brotes. Esta aplicación es posible ya que SGC se está convirtiendo en una metodología automatizada, rápida y de bajo costo, y además a la facilidad de análisis a partir de la existencia de protocolos y herramientas bioinformáticas estandarizadas, reproducibles y disponibles de uso público. El objetivo de esta conferencia es describir los avances en la implementación de SGC para diferentes especies bacterianas para la vigilancia a nivel nacional y global. Como parte de la Red PulseNet América Latina y Caribe (PNALC) se cuenta con una larga experiencia en la vigilancia molecular de patógenos de transmisión alimentaria y desde 2012 hemos comenzado con talleres y entrenamiento en SGC, en herramientas de bioinformática y laboratorio, mediante la asociación con diferentes grupos de trabajo (Wellcome Trust Sanger Institute, OPS/OMS, Salud Pública de Ontario, CDC y FDA). El primer Proyecto Piloto junto con el Wellcome Trust Sanger Institute comenzó con el estudio de la diversidad genética de *Shigella sonnei* y *Vibrio cholerae* en la región junto con un curso anual en análisis de genoma de patógenos bacterianos en vigilancia. Luego, se extendieron a otros proyectos globales y nacionales. En este estudio se comprobó la concordancia con los resultados de las pruebas convencionales para diagnóstico, caracterización, investigación de brotes, y estudio filogenético (SNPs). Con la Red PNALC y en forma conjunta con PNInt se está trabajando en el proceso de implementación y validación de SGC mediante la aplicación de la estrategia de wg-MLST. Dada la relevancia que SGC a nivel internacional, como Instituto de referencia nacional/regional, se creó la Plataforma de Genómica y Bioinformática con el objetivo de trabajar en forma transversal con diferentes grupos de trabajo y microorganismos, dando respuesta en Salud Pública en diagnóstico y vigilancia, y en conjunto con otras plataformas de genómica existentes en el país.

***Kluyvera* SPP.: JUGADOR CENTRAL EN LA CONEXIÓN AMBIENTE-HOSPITAL Y EN LA DISEMINACIÓN MUNDIAL DE LAS BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO CTX-M**

María Margarita Rodríguez (1)

(1) Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Los genes que constituyen el resistoma intrínseco de una especie bacteriana confieren bajos niveles de resistencia, pero su expresión puede aumentar por mutaciones en los genes regulatorios, o la asociación a otros elementos genéticos. El uso y mal uso de antibióticos en la clínica (y en otros muchos ambientes), sumado a la disponibilidad de elementos móviles, aceleró la presencia y diversificación de los mecanismos de resistencia antibiótica. Ejemplo del impacto biológico que esto implica es el de las β -lactamasas. Las β -lactamasas evolucionaron incrementando su espectro de actividad y alcanzando elementos genéticos como plásmidos, transposones e integrones, que sirven como vehículos para el intercambio y movilización de diversos genes entre bacterias (y entre moléculas de DNA). Actualmente se conoce un gran número de β -lactamasas tipo TEM, SHV, CTX-M, KPC y metalo- β -lactamasa. En Argentina y países limítrofes, cerca del 85% de la resistencia a oximino-cefalosporinas en patógenos gram negativos, se debe a alguna variante de CTX-M (β -lactamasas con fenotipo de “cefotaximasa”). Constituyen hoy el principal mecanismo de resistencia de relevancia clínica a nivel mundial, diseminadas “explosivamente” en todo el mundo, como CTX-M “pandémicas”. A diferencia de lo ocurrido en otras regiones del mundo, donde la emergencia de β -lactamasas de espectro extendido (β LEE), fundamentalmente variantes de TEM y SHV, fue principalmente debida a mutaciones espontáneas que ampliaron sus propiedades catalíticas, en Argentina y países limítrofes, y recientemente en Europa, las β LEE emergentes y prevalentes, parecen haber surgido por reclutamiento de genes pre-existentes en DNA cromosómico de especies bacterianas raramente patógenas o ambientales, a partir de las cuales fueron capturados como genes “preformados” por medio de unos pocos eventos de recombinación y movilización. En especies ambientales y clínicas de *Kluyvera* spp. existen de modo “silente” en el cromosoma bacteriano, genes codificantes de β -lactamasas tipo CTX-M “preformadas”. Estas enzimas poseen una actividad “innata” de espectro extendido, cuyo fenotipo es manifestado luego del reclutamiento del gen cromosómico por elementos como IS, gracias a la expresión a partir de plásmidos y a la presencia de promotores eficientes.

CUANDO EL ORDEN DE LOS FACTORES ALTERA EL PRODUCTO: CAMBIOS FENOTÍPICOS ASOCIADOS A LA RELOCALIZACIÓN EXPERIMENTAL DE GENES EN *Vibrio cholerae*

Alfonso Soler-Bistué (1)

(1) Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad de San Martín, San Martín, Buenos Aires, Argentina.

La comparación de cientos de genomas bacterianos muestra que el orden de los genes no es aleatorio. *V. cholerae* es un patógeno humano de gran relevancia que nos sirve de modelo. El estudio de cepas isogénicas donde experimentalmente se alteró la posición genómica de genes de proteínas ribosomales nos permite comprender a) la relación entre la fisiología celular y a la estructura primaria del genoma b) como dicha estructura condiciona la aptitud evolutiva en el corto y largo plazo c) los efectos del orden los genes en iniciación de la replicación bacteriana y en la transcripción a nivel global. Nuestro trabajo es uno de los primeros estudios que vinculan la posición genómica con la función de un gen. Dichos casos, son la punta del iceberg de muchos más por descubrir. Comprender las reglas de organización genómica en el contexto de la creación de las primeras formas de vida artificiales será fundamental para contribuir al incipiente desarrollo de la biología sintética.

MESAS REDONDAS

MESA REDONDA 1

Microorganismos promotores del crecimiento vegetal

MOVILOMA PLASMÍDICO DE UNA BACTERIA DE SUELO: EXPLORACIÓN DEL PRESENTE Y RECUERDOS DEL PASADO

José Luis López (1), Mauricio J. Lozano (1), Eugenia Salas (1), Ezequiel G. Mogro (1), Francisco Albicoro (1), Juliet Nilsson (1), Lucas Castelani (1), Gonzalo Torres Tejerizo (1), Walter O. Draghi (1), María Florencia Del Papa (1), Mariano Pistorio (1), Antonio Lagares (1)*

(1) IBBM – Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata. Argentina

Los rizobios son alfa- y beta-proteobacterias con capacidad de formar nódulos fijadores de nitrógeno en asociación con raíces de plantas leguminosas. A pesar de esta característica común a los rizobios, los genomas de los mismos son altamente diversos atento a que constituyen un grupo muy heterogéneo de bacterias más allá de la genética conservada vinculada a sus genes simbióticos (ej. genes *nod*). Desde el punto de vista genómico-estructural muchos rizobios (aunque no todos) poseen genomas multipartitos constituidos por un cromosoma, por uno o más megaplásmidos (miles de kilobases) portadores de genes simbióticos, y por plásmidos (de tamaño medio-alto, decenas a centenas de kilobases) conocidos como plásmidos crípticos atendiendo a que las funciones asociadas a los mismos son mayormente desconocidas. El conjunto de genes contenido en plasmidos es conocido en términos genéricos como plasmidoma, o como moviloma plasmídico cuando se quiere hacer mención al carácter móvil-conjugativo de muchos representantes de este compartimento genético. Tomando como modelo al rizobio modelo *Sinorhizobium meliloti*, simbiote de *Medicago*, *Melilotus* y *Trigonella* que hemos estudiado en el laboratorio durante años, en este trabajo mostraremos un análisis compartivo del contenido informacional de cada uno de sus compartimentos genéticos (cromosoma, pSymA, pSymB, plasmidoma críptico). Mostraremos la heterogeneidad genética de cada uno de ellos a nivel de especie, y el grado relativo en que cada replicón incorpora nueva información por transferencia génica horizontal. Por otra parte mostraremos cómo el uso de herramientas filogenéticas acopladas al análisis del uso de codones por el rizobio pueden ser utilizadas para identificar grupos de genes de distinta ancestralidad utilizando al cromosoma como modelo de análisis. Mostraremos finalmente que el uso de codones en los grupos de genes más ancestrales es el mejor adaptado a la maquinaria traduccional del rizobio, y que dicha observación es un hecho frecuente también presente en otras bacterias no simbióticas gram-negativas y gram-positivas muy diferentes de los rizobios. Los resultados que hemos obtenido han permitido poner en evidencia la plasticidad relativa de cada uno de los compartimentos genómicos, su relación con el moviloma plasmídico, y el modo en que la preferencia en el uso de codones se modifica en tiempos evolutivos con un sesgo hacia aquel que es utilizado por los genes más altamente expresados.

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PGPR DE MICROORGANISMOS, PROBLEMAS Y SOLUCIONES PENDIENTES

Luis G. Wall (1,2)

(1) Laboratorio de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas en el Suelo, DCyT, Universidad Nacional de Quilmes, Bs. As., Argentina. (2) CONICET, Argentina

La sigla PGPR corresponde a la abreviación de *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*, un concepto que comenzó a desarrollarse a fines de la década del 70 y que por su significado en el desarrollo de una agricultura sustentable y ambientalmente amigable, ha concertado una gran atención por parte de los científicos y del sector productor de bienes a partir del cultivo de plantas. La naturaleza dinámica y evolutiva del lenguaje nos lleva a usar la sigla como concepto y de manera muy variada gramaticalmente en nuestras construcciones enunciativas. Así, en el título de esta charla “PGPR” aparece para describir una posible cualidad de los microorganismos, que a su vez puede tener diferentes grados de expresión, de allí lo de “potencial”. Curiosa deformación del lenguaje. En estos casi 40 años de ciencia se ha avanzado mucho en el campo de la microbiología y en el estudio de las PGPR. Hoy conocemos una gran diversidad de mecanismos moleculares y fisiológicos que aplican al concepto de PGPR y a su vez conocemos una gran diversidad de especies de microorganismos que pueden llevar adelante estas funciones. Todos estos conocimientos se han logrado con el estudio de sistemas controlados, uso de mutantes y sustancias químicas de composición definida. Sin embargo, el valor PGPR no se expresa en el laboratorio sino en el mundo de la producción de plantas, es decir en el campo. En esta situación los microorganismos PGPR seleccionados y aún comercializados deben desarrollar sus capacidades probióticas sobre las plantas en presencia de la diversidad microbiológica (y biológica a mayor escala) que existe en el suelo donde las plantas se desarrollan. La disponibilidad de técnicas moleculares que permiten caracterizar esa diversidad biológica de los suelos, que antes nos era inaccesible e invisible dentro de la idea de suelo como una caja negra, debe ser utilizada para mejor comprender los mecanismos de acción de los PGPR en la vida productiva y poder discernir entre efectos determinísticos y estocásticos y avanzar con conocimientos más sólidos en el uso de estas herramientas microbiológicas para el desarrollo de una agricultura sustentable. También debemos transmitir en forma clara y rigurosa estos conocimientos al consumidor final de los productos generados con el cultivo de las plantas, pues el saber se desarrolla en comunidad y discutir en forma amplia estos conceptos puede ampliar significativamente sus alcances.

PERSPECTIVAS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES DEL FILOPLANO

Fernando Pieckenstain (1)

(1) IIB-INTECH. CONICET/UNSAM, Chascomús, Argentina.

La creciente demanda mundial de producción de alimentos requiere de métodos eficientes para el control de enfermedades y plagas de los cultivos. Las prácticas tradicionales de control de enfermedades, basadas en el uso de pesticidas sintéticos, presentan riesgos para la salud y el ambiente. Esto ha estimulado el desarrollo de métodos de control biológico, basados en el uso de antagonistas naturales, los cuales han cobrado importancia como alternativa a los pesticidas químicos. Dentro de la gran variedad de enfermedades que afectan a los cultivos, muchas son causadas por microorganismos. A su vez, la microbiota asociada a las plantas alberga una variedad de microorganismos capaces de actuar como antagonistas de patógenos. De este modo, el conocimiento de la diversidad de las comunidades microbianas, así como de las complejas interacciones que ocurren entre los integrantes de las mismas y las plantas, tiene una importancia clave para el desarrollo racional de estrategias de control biológico. La rizosfera de las plantas, contiene abundantes nutrientes excretados por las plantas, lo cual favorece la colonización de dicho ambiente por grandes cantidades de microorganismos, muchos de los cuales promueven el crecimiento vegetal a través de diferentes mecanismos. La microbiota rizosférica ha sido la fuente de aislamientos utilizados para el control biológico de diversas enfermedades, y existe un buen nivel de conocimiento de la complejidad de dichas comunidades. Por el contrario, la superficie de órganos aéreos de las plantas, conocida como filoplano, es un ambiente menos favorable para la colonización por parte de microorganismos. Sin embargo, dicho nicho es colonizado por microorganismos que pueden actuar como antagonistas de patógenos. En relación con esto, el conocimiento de la estructura de las comunidades de microorganismos del filoplano, así como también de los mecanismos de colonización de dicho nicho por microorganismos beneficiosos para las plantas, es aún limitado. Las metodologías independientes del cultivo para el análisis masivo de comunidades microbianas representan una herramienta de gran utilidad para entender la complejidad de las comunidades de microorganismos del filoplano. Dichas metodologías, junto con el conocimiento de los mecanismos de colonización del filoplano y la inducción de resistencia en los hospedantes vegetales, pueden contribuir al desarrollo de agentes eficientes para el control de enfermedades.

MESA REDONDA 2

La ecología microbiana y su encuentro con la
biotecnología ambiental

METAGENÓMICA APLICADA A LA EXTRACCIÓN MINERAL: UN ESTUDIO DE CASO DE LA MINERÍA DE COBRE

Sara Cuadros Orellana (1)

(1) Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile.

Durante un periodo de dos años, nuestro grupo de investigación realizó un monitoreo genómico en diferentes ambientes de una mina de calcopirita, en Brasil. Específicamente, fueron estudiadas muestras de sedimento y de agua superficial y profunda de un relave minero, y agua de un drenaje ácido de mina, en periodos de lluvia y de sequía. Nuestro objetivo fue comprender la dinámica microbiana en estos ecosistemas y dar soporte al monitoreo ambiental y al diseño de procesos de remediación que busquen prevenir posibles impactos ambientales. Utilizamos, para ello, un acercamiento metagenómico basado en dos estrategias distintas, a saber: la secuenciación de amplicones del gen RNAr 16S y la secuenciación de metagenomas completos a partir de ADN total aislado de muestras ambientales. Los resultados del análisis estructural revelaron que, en el relave, los grupos taxonómicos predominantes son Actinobacteria, Betaproteobacteria y Bacteroidetes, mientras en el ambiente de drenaje ácido los microorganismos oxidantes de hierro y de nitrito están diferenciadamente representados. Del punto de vista funcional, los metagenomas fueron clasificados en 156 subsistemas involucrados con una amplia diversidad de funciones metabólicas. Las funciones o procesos más abundantes en el relave fueron: el metabolismo de carbono, la biosíntesis de aminoácidos, la fosforilación oxidativa, y los procesos relacionados al ribosoma y a la biosíntesis de aminoacil-tRNA. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre las abundancias de las categorías funcionales entre diferentes compartimientos del relave o entre las diferentes estaciones, lo que sugiere una redundancia funcional en estas comunidades. En el drenaje ácido de mina, las funciones más importantes fueron: el metabolismo de carbono, los procesos que implican los transportadores ABC, el metabolismo de purinas, la biosíntesis de aminoácidos y los sistemas regulatorios de dos componentes. Los metagenomas también presentaron genes que codifican proteínas para degradación de compuestos aromáticos y xenobióticos, como la presencia de genes que codifican proteínas involucradas en la producción de catecol y en el catabolismo de fenol y benceno. Este trabajo proporciona información sobre la biogeoquímica de diferentes ecosistemas asociados a la minería de cobre y agrega un conjunto completo de nuevos conocimientos sobre estos ambientes acuáticos. El proyecto ha sido coordinado por el Dr. Guilherme Correa Oliveira (ITV-DS) y los resultados aquí presentados son parte de la tesis de doctorado de Laura Rabelo Leite (UFMG). Se agradece a Vale S.A. por el apoyo financiero (Grant no. 1786221).

LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DE LOS SEDIMENTOS Y SU ROL EN LA DEPURACIÓN DE CONTAMINANTES: ESTUDIOS METAGENÓMICOS EN AMBIENTES COSTEROS FRÍOS

Mariana Lozada (1)

(1) CESIMAR, CONICET, Puerto Madryn, Chubut, Argentina.

Las regiones costeras de nuestro planeta sufren el impacto creciente de las actividades humanas, tales como las modificaciones asociadas al manejo de tierras y cursos de agua, el vertido de nutrientes, la sobreexplotación de recursos y degradación de ambientes clave como humedales. Por sus características particulares (baja profundidad, influencia terrestre y exposición a actividades antrópicas), los sistemas costeros son muy variables y con alto flujo de materia y energía. Las comunidades microbianas del sedimento son muy diversas y poseen un rol de extrema importancia en este ambiente, interaccionando con la columna de agua y participando de servicios ecosistémicos críticos tales como el ciclado de C y N y la depuración de sustancias tóxicas. Los ambientes de regiones de altas latitudes son especialmente vulnerables, siendo afectados por la constante migración humana hacia los polos, el incremento en la exploración-explotación de combustibles fósiles y el cambio climático. En los últimos años, en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de CESIMAR-CONICET hemos utilizado herramientas moleculares para estudiar comunidades microbianas de ambientes fríos de la Patagonia, que nos permitieron obtener información sobre su estructura, su potencial metabólico, y el rol que las mismas poseen en la autodepuración del ambiente. Hemos diseñado herramientas moleculares para su aplicación en diagnóstico ambiental, como ensayos de qPCR de genes biomarcadores de poblaciones degradadoras de hidrocarburos aromáticos policíclicos y un indicador ecológico de exposición a hidrocarburos para el ambiente marino, basado en información de la estructura de la comunidad obtenida a partir de la secuenciación de amplicones del gen ARNr 16S. La construcción de una biblioteca metagenómica en fósidos permitió descubrir aspectos moleculares de estas capacidades en fragmentos del genoma de estas poblaciones degradadoras. Un análisis metagenómico comparativo de las comunidades de ambientes costeros fríos de la Patagonia con otros ambientes polares y subpolares del mundo por secuenciación en gran escala permitió analizar estos procesos a una escala geográfica global. Se hallaron evidencias de la importancia de los procesos anaeróbicos para la biodegradación de hidrocarburos, así como de la gran abundancia y diversidad de genes que participan en la depuración formas tóxicas de nitrógeno, reduciendo la liberación de N₂O, un gas de importante efecto invernadero.

DESDE LAS NUEVAS METODOLOGÍAS MOLECULARES HACIA LA OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

Irma Susana Morelli (1)

(1) CINDEFI, La Plata, CIC-PBA, Argentina.

La contaminación ambiental es uno de los desafíos más relevantes de nuestro tiempo, en términos de su potencial efecto adverso sobre la biodiversidad y la salud humana. La biorremediación tiene hoy en día gran aceptación como tratamiento para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos. No obstante, hasta el presente, este potencial no ha sido suficientemente explotado debido a la falta de conocimiento sobre las actividades metabólicas, estructura y dinámicas de las comunidades microbianas. Se ha propuesto que la inoculación de cepas o consorcios microbianos degradadores puede ser beneficiosa para mejorar las tasas de degradación de contaminantes orgánicos en los sitios contaminados. Sin embargo, el éxito de las estrategias de bioaumento es en su mayoría circunstancial y la actividad de los microorganismos inoculados en el medio ambiente es todavía relativamente impredecible. Cualquier esfuerzo racional de interferir con los procesos microbianos para optimizar el rendimiento metabólico de la comunidad microbiana del suelo tiene que hacer frente a la enorme complejidad del sistema. La aparición de nuevas metodologías capaces de realizar el inventario completo de genes, transcritos, proteínas, metabolitos y señales moleculares, parece haber allanado el camino hacia el uso racional de las estrategias de biorremediación. En este trabajo se presenta los resultados de la aplicación de secuenciación de amplicones del gen 16S rRNA, metagenómica funcional, qPCR y proteómica, a modelos de comunidades de distinta complejidad, con el fin de establecer la relación funcional entre los inoculantes y la comunidad indígena, incursionar en la determinación de la participación del inoculante en el flujo del carbono y diseñar inoculantes de alta eficiencia de degradación de hidrocarburos. El conocimiento adquirido nos permitirá en un futuro desarrollar modelos predictivos sobre la actividad degradadora de la comunidad microbiana del suelo en función de los distintos parámetros bióticos y abióticos, avanzando desde la perspectiva tradicional de la "caja negra" a una auténtica biotecnología ambiental.

MESA REDONDA 3

Tópicos selectos en bioprospección para una
agricultura sustentable

BIOPROSPECCIÓN DE MICROALGAS Y SU INTEGRACIÓN EN FÁBRICAS CELULARES MULTITRÓFICAS

Leonardo Curatti (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC - CONICET).
Mar del Plata, Argentina.

El crecimiento demográfico y la correspondiente demanda de alimentos, agua y energía para los próximos años desafían seriamente los sistemas de producción actuales. La agricultura está en el foco de atención para alcanzar los principales objetivos de desarrollo sustentable de la Humanidad como fuente primaria de alimentos y fuente alternativa de energía renovable, en forma de biocombustibles. El hecho de que la agricultura sea el principal impulsor del cambio ambiental global y, al mismo tiempo, se vea dramáticamente afectado por estos cambios promueve la innovación de los sistemas de producción agrícola actuales para contribuir al desarrollo sustentable. El cultivo de microorganismos acuáticos (microalgas y cianobacterias) podría representar una de tales innovaciones debido a una productividad fotosintética considerablemente mayor a la de cultivos convencionales, independencia de suelo fértil y composición bioquímica y propiedades estructurales más favorables que la biomasa de cultivos terrestres convencionales para su conversión en combustibles. La tecnología de producción masiva de biomasa algal disponible presenta limitaciones específicas, y también requiere de innovación para materializar su potencial. Dadas la gran diversidad de especies nativas como la incipiente historia de selección de cepas han promovido estudios de bioprospección de estos organismos tanto a nivel internacional como nacional. Los estudios de nuestro laboratorio permitieron reunir una colección de cepas nativas del territorio nacional con una variedad de características deseables. Dado que en general, tales características deseables rara vez se encuentran en la misma cepa, desarrollamos el concepto de fábricas celulares multiespecie que integran propiedades salientes de distintas cepas para facilitar el cultivo, acceso a nutrientes económicos, reciclado de nutrientes, tratamiento y/o valoración de residuos de otras industrias, recolección de la biomasa y procesamiento en biorefinerías de biomasa para la producción de alimento para animales y biocombustibles. Estudios complementarios de simulación de productividad de cepas nativas en distintas ecorregiones del país están permitiendo avanzar sobre la evaluación crítica de las posibilidades de esta tecnología en el territorio nacional, como así también refinar los programas de bioprospección para la selección de cepas más productivas.

CAZYmas BACTERIANAS Y SU APLICACIÓN EN APROVECHAMIENTO DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

Eleonora Campos (1)

(1) Instituto de Biotecnología - Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Castelar. Argentina.

Para superar los desafíos de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, disminuir el uso de combustibles y productos químicos derivados de combustibles fósiles y avanzar hacia una bioeconomía más sostenible, necesitamos hacer frente a una serie de retos, incluyendo la producción de azúcares monoméricos a partir de biomasa y su transformación eficiente en combustibles y compuestos de valor agregado. En la actualidad, la conversión biológica de la biomasa vegetal en azúcares fermentables utilizando enzimas glicosilhidrolasas, celulasas y xilanasas, así como enzimas oxidativas y desramificantes, es la principal vía de despolimerización de materiales lignocelulósicos. El objetivo general de nuestro grupo es el estudio de los mecanismos bacterianos de hidrólisis de polisacáridos con el fin de desarrollar enzimas para aplicación industrial en la degradación de biomasa residual, especialmente para la obtención de bioetanol y xilo-oligosacáridos (XOS). A partir del estudio del secretoma de dos aislamientos bacterianos (hemi)celulolíticos de los géneros *Cellulomonas* sp. y *Paenibacillus* sp., crecidos sobre sustratos de composición variada respecto del contenido de celulosa y hemicelulosa. Ambos géneros son positivos a la tinción de Gram, aeróbicos y mesófilos aunque tienen la capacidad de crecer en condiciones de anaerobiosis. Los genomas de ambas bacterias codifican para todo el repertorio de enzimas necesarias para la degradación integral de celulosa y hemicelulosa, sin embargo presentan diferencias respecto de las enzimas y proteínas auxiliares expresadas y secretadas en similares condiciones de cultivo. A su vez, la estructura de las enzimas presenta diferencias respecto de los módulos de unión a carbohidratos que se encuentran junto con los módulos catalíticos, en las proteínas multimodulares. Estos resultados sugieren distintos mecanismos para la utilización de polisacáridos complejos. A su vez, a partir de la identificación de las enzimas responsables de la actividad xilanolítica, hemos expresado de manera recombinante xilanasas, de las familias GH10 y GH11, caracterizamos su actividad enzimática y ensayamos su aplicación en un proceso de degradación de biomasa residual para obtención de bioetanol.

ESTUDIOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y MOLECULARES EN RIZOBIOS NATIVOS: APLICACIÓN DE BIOFERTILIZANTES PARA UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE

Walter Giordano (1)

(1) Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas, Físicoquímicas y Naturales,
Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina.

El establecimiento de la simbiosis rizobio-leguminosa es el resultado de una compleja serie de eventos entre ambos simbioses, que culmina con la formación de nódulos radicales con capacidad de reducir biológicamente al nitrógeno atmosférico. Mediante este proceso la planta utiliza el nitrógeno disponible en la atmósfera. Si bien existen modelos de estudios clásicos para la interacción rizobio-leguminosa, tal como *Sinorhizobium meliloti*-alfalfa, nosotros paralelamente hemos extendido nuestra investigación al par simbiótico *Bradyrhizobium* sp.-maní. En consecuencia, hemos evaluado cepas rizobianas aisladas de nódulos radicales y poblaciones bacterianas asociadas al suelo rizosférico de estos cultivos de impacto agroeconómico en la provincia de Córdoba. Por un lado, los aislamientos obtenidos a partir de nódulos radicales de alfalfa presentaron fenotipo mucoso en placa, aspecto que para cepas de referencia previamente caracterizadas es indicativo de la síntesis de exopolisacáridos. Los análisis filogenéticos de los aislamientos nativos reveló la existencia de un alto grado de identidad con cepas de *S. meliloti* de referencia. Además, el análisis por PCR del gen *expR* en estos aislamientos, puso de manifiesto que dicho gen no posee un elemento insercional, tal como ocurre en cepas de referencia. Por otro lado, las cepas nativas aisladas desde nódulos de raíces de maní, revelaron características fenotípicas y genotípicas de *Bradyrhizobium*. Los estudios de competencia por la ocupancia de los nódulos empleando marcadores moleculares y mutantes espontáneos resistentes a antibióticos, indicaron que la posición de la cepa introducida es clave para que pueda expresar sus propiedades competitivas y que por lo tanto dicha cepa compite mejor cuando es inoculada en surco en relación a cuando es inoculada sobre la semilla. En decir que la inoculación directa del suelo previo a la siembra de maní, denominada inoculación en surco, se presenta como una herramienta tecnológica con ventajas respecto a la típica inoculación en semilla, ya que permite ubicar células viables en el perfil del suelo facilitando la infección del sistema radical de la leguminosa. Finalmente, al evaluar el comportamiento de otras estrategias de biofertilización en el cultivo de maní, hemos observado un efecto positivo de la co-inoculación de *Bradyrhizobium-Azospirillum* en comparación con las inoculaciones simples.

MESA REDONDA 4

Microorganismos de ambientes extremos

ECOSISTEMAS MICROBIANOS EXTREMOS DE LA PUNA: EXPLORANDO LOS METAGENOMAS DE LOS ECOSISTEMAS MÁS ANTIGUOS DEL PLANETA

María Eugenia Farías (1)

(1) Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas de Lagunas Andinas (LIMLA), Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI), CCT, CONICET, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

Los Ecosistemas Microbianos Asociados a Minerales (EMAM) son asociaciones de microorganismos y diatomeas que influyen o inducen la precipitación de minerales asociados a humedales de la Puna (lagunas, fuentes hidrotermales, fumarolas de volcanes y salares). Incluyen tapetes microbianos, microbialitos (estromatolitos, trombolitos, oncolitos y leiolitos), biopelículas y endoevaporitas. Fueron reportados por primera vez en el año 2009 en Laguna Socompa Salta y Salar de la Laguna Verde Catamarca (Gómez y col., 2011; Farías y col., 2013, 2014, 2017; Rasuk y col., 2015, 2016; Fernández y col., 2016; Toneatti y col., 2017; Kurt y col., 2017) a partir de este hallazgo comienza el relevamiento integral de estos ecosistemas en todo el Altiplano de Argentina, Chile y Bolivia, registrándose hasta el momento al menos 36 sitios que presentan estos ecosistemas distribuidos en distintos países (Farías y col., en preparación). Estos ecosistemas microbianos son cerrados lo que significa que tienen la capacidad de llevar adelante todos los ciclos geoquímicos en unos pocos mm de espesor. El acceso a los metagenomas y genomas de estas comunidades extremófilas, nos permite develar interrogantes sobre la vida en el planeta primitivo. Desde descubrir formas alternativas de generar ATP a través de los sistemas de rodopsinas microbianas, las vías de fijación de C previas al ciclo de Calvin, hasta encontrar sistemas de respiración de As tan antiguos como LUCA (Last Unique Common Ancestor), o deducir cómo, la relación entre el contenido de P vs As en el agua, regula los genes de transporte de P y resistencia a As en comunidades microbianas. En paralelo, surgen aplicaciones de gran valor económico, como la capacidad de estas bacterias extremófilas para restaurar suelos salinizados, o de los oncolitos en contar ciclos hídricos milenarios en salares de gran interés económico donde hoy se explota el oro blanco (Li).

RODOPSINAS E INTEÍNAS VIRALES EN AMBIENTES ANTÁRTICOS, SU POTENCIAL USO BIOTECNOLÓGICO

José Luis López (1)

(1) Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

La aplicación de técnicas de *high throughput* a la de ecología microbiana, ha producido un gran salto en la capacidad de estudiar los microorganismos ambientales. En este contexto, nuestro trabajo se focalizó en el estudio de las comunidades microbianas de un sitio extremo, la Caleta Potter, Islas Shetland del Sur, Antártida. Particularmente, se obtuvieron 6 metagenomas de sedimento marino costero. El análisis de las secuencias codificantes de dichos metagenomas mostro entre las asignaciones de secuencias virales, una abundancia relativa de Phycodnavirus. Recientemente, se ha descrito para estos genomas virales la existencia de genes de probable origen en el hospedador, entre ellos genes de rodopsinas (fotosensores de membrana) eventualmente producto de la transferencia horizontal de genes (THG). El rol fisiológico *in vivo* de estos genes en el hospedador infectado se desconoce. Desde el punto de vista de las secuencias nucleotídicas, los genes de rodopsinas descritos en nuestro trabajo pueden ser segregados filogeográficamente, lo cual nos habilita a pensar que dichas diferencias podrían trasladarse a diferencias funcionales. La síntesis química de aquellas secuencias genómicas nos permitirá clonar y expresar heterológamente las rodopsinas para su uso biotecnológico (optogenética, biocombustibles, etc.). Paralelamente, el *screening* de secuencias codificantes de ADN polimerasas virales de la familia *Phycodnaviridae*, nos permitió identificar diversas secuencias de inteínas virales, una de las cuales conto con 333 aminoácidos estaba integrada en el sitio altamente conservado YGDTD. Dos aspectos de nuestro interés en el estudio de estos elementos genéticos móviles son, los aspectos evolutivos de la THG y el uso biotecnológico potencial de esta inteína en el desarrollo de vectores de expresión génica. En el primer aspecto, la THG de las inteínas grandes (≥ 250 aminoácidos) muestra evidencias de una transmisión asociada al tipo de gen conservado que parasitan mas que por el hospedador que contiene dichos genes. También aquí, como en el caso de las rodopsinas, la síntesis química de estas secuencias genómicas será realizada para su eventual uso en el diseño de vectores de expresión génica. En resumen, el uso de los metagenomas no solo tiene una gran utilidad en los estudios de ecología microbiana de ambientes extremos sino también en la prospección de genes de interés lo que abre una puerta gigante al descubrimiento de nuevas herramientas biotecnológicas.

SISTEMAS PROTEOLÍTICOS DE ARQUEAS HALÓFILAS: BIOLOGÍA Y APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS

Rosana De Castro (1)

(1) Instituto de investigaciones Biológicas, IIB-CONICET-UNMdP, Mar del Plata, Argentina.

Las arqueas son organismos procariotas con características particulares que constituyen un grupo filogenético diferenciado de las bacterias y eucariotas (Dominio *Archaea*). Muchos de sus representantes habitan en ambientes de extrema salinidad, pH y/o temperatura. En particular, las haloarqueas se desarrollan en hábitats hipersalinos ($\text{NaCl} > 2 \text{ M}$) y con elevada irradiación solar. Por su sorprendente capacidad para colonizar estos ambientes y el limitado conocimiento de su biología en comparación con bacterias y eucariotas, las arqueas son un modelo de estudio interesante desde el punto de vista del conocimiento fundamental. Además, sus biomoléculas con propiedades novedosas son de interés para la Biotecnología y otros campos, siendo aun escasamente utilizadas. La proteólisis es un proceso esencial para todas las células ya que controla la homeostasis proteica y regula la expresión génica entre otros procesos. Si bien los principales sistemas proteolíticos están conservados en las arqueas, sus propiedades, rol biológico y sustratos endógenos se conocen escasamente. Nuestro grupo ha caracterizado a nivel bioquímico, molecular y funcional proteasas extra e intracelulares en las haloarqueas. Se comentarán los avances sobre las proteasas regulatorias de membrana. La proteasa ATP-dependiente LonB está asociada a la membrana en las arqueas. Se construyeron cepas mutantes de esta proteasa en la haloarquea modelo *Haloferax volcanii*, éstas fueron caracterizadas a nivel fenotípico y proteómico. LonB resultó ser esencial para la viabilidad de *H. volcanii*, afectando el nivel y recambio de proteínas vinculadas con diversos procesos celulares. La reducción en los niveles de LonB incrementó la síntesis de pigmentos carotenoides (bacterioruberinas, Bctr) mediante el control de enzimas clave de la ruta carotenogénica. La mutante HVLON3 produce niveles muy superiores de Bctr en comparación con la cepa parental y con otros microorganismos. Teniendo en cuenta la capacidad antioxidante de los carotenoides, esta cepa representa una excelente fuente de Bctr para estudiar sus propiedades bioactivas, que en general no han sido exploradas. Se comentarán algunos avances en este sentido.

MESA REDONDA 5

Interacciones y señalización intra e interespecíficas en
comunidades bacterianas

INTERACCIONES INTER-ESPECIES EN EL MICROBIOMA DE LA CAÑA DE AZÚCAR

Conrado Adler (1)

(1) Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO-CONICET-UNT),
Tucumán, Argentina.

El microbioma asociado a plantas ha demostrado jugar un rol fundamental en el crecimiento y estado fitosanitario y por ello la manipulación del mismo posee un gran potencial para contribuir al desarrollo de una agricultura de precisión que sea ambientalmente benigna. Si bien numerosos microorganismos han sido propuestos o son actualmente utilizados en prácticas agrícolas, su utilización no resulta del conocimiento exhaustivo de los procesos que gobiernan a los microbiomas y el impacto que estos tienen sobre la fisiología vegetal. Por el contrario, la elección de dichos microorganismos se ha basado preponderantemente en el estudio de las propiedades individuales sin considerar en profundidad su relación con los demás microbios presentes. Consecuentemente, es necesario adquirir más información respecto a la capacidad de los miembros de un determinado microbioma de interactuar entre sí y con la planta. En esta presentación se analizarán los estudios realizados en nuestro laboratorio sobre el microbioma de la caña de azúcar, tanto a nivel de rizósfera como de endosfera del tallo. Dicho estudio, realizado a través de la descripción de la microbiota y la evaluación del tipo y frecuencia de interacciones inter-especies, pretende establecer una red de relaciones que refleje, al menos de manera parcial, los fenómenos complejos que ocurren en comunidades microbianas. Por último, se describirán aspectos mecánicos de una interacción inesperada en vista del registro de efectos contrapuestos, promoción del crecimiento o inhibición del mismo, según la distancia establecida entre las especies partícipes de la interacción.

REGULACIÓN POR *quorum sensing*: NO ESTAMOS SOLOS

Carlos Nieto Peñalver (1)

(1) Planta Piloto de Procesos Industriales y Microbiológicos (PROIMI-CONICET)
San Miguel de Tucumán, Tucumán.

Los microorganismos poseen diversos mecanismos regulatorios que modifican su expresión génica y su fisiología en función de las variables condiciones ambientales en las que se encuentran, tales como la disponibilidad de nutrientes, el pH o la temperatura. Los sistemas de *quorum sensing* se diferencian porque el factor clave en la regulación es la densidad de la población microbiana. A medida que la densidad aumenta, se incrementa la concentración extracelular de señales químicas, las que serán captadas por la proteína sensora correspondiente. En muchos microorganismos, la proteína sensora es a la vez un regulador transcripcional. Esta cascada de eventos es la que permite un cambio en la expresión génica en función de la densidad celular. En algunas especies se conocen ya muchos detalles relacionados con su regulación. Descriptos por primera vez en la bacteria marina *Vibrio fischeri*, los sistemas de *quorum sensing* están ampliamente presentes en microorganismos patógenos y benéficos, asociados a plantas o a mamíferos. Si bien se caracterizan por intervenir en la regulación de “aspectos sociales” de la vida microbiana, los estudios han sido mayoritariamente realizados sobre cultivos puros de bacterias. Sin embargo, en la naturaleza los microorganismos no se encuentran así sino que colonizan un determinado nicho junto con diferentes especies interactuando entre sí. En particular, las levaduras forman una de los grupos menos caracterizados de las comunidades microbianas. Partiendo de este hecho, nuestro trabajo en los últimos años se ha dirigido a entender no solo en qué proceso fisiológico interviene un determinado sistema de *quorum sensing*, sino también de qué manera los factores ambientales y los otros integrantes de una comunidad microbiana participan en la regulación. Utilizando bacterias y levaduras endofíticas como modelos de estudio pudimos poner en evidencia la importancia que tiene la presencia de un microorganismo en la regulación por *quorum sensing* del otro. No solo importa el número; también importa la compañía.

SEÑALIZACIÓN POR c-di-GMP EN EL CONTROL DE LA ARQUITECTURA DE BIOFILMS DE *Escherichia coli*

Diego Omar Serra (1)

(1) Institut für Biologie - Mikrobiologie, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Alemania.

En *Escherichia coli* el desarrollo estructural de biofilms de tipo macrocolonia depende de la distribución diferencial en el espacio de sus componentes de matriz extracelular. Esta distribución es a su vez dictada por la diferenciación fisiológica de las bacterias en respuesta a los gradientes de nutrientes y oxígeno que se generan a lo largo del biofilm. Es así como coexisten en el biofilm al menos dos estratos fisiológicamente bien diferenciados: un estrato inferior, próximo al agar, es decir, a la fuente de nutrientes, que consiste en bacterias flageladas que crecen, y (ii) un estrato superior, alejado del agar, ocupado por bacterias en fase estacionaria embebidas en un entramado de fibras amiloides (llamadas curli) y de fibras de celulosa. Este entramado no sólo protege a las bacterias, sino que también confiere al estrato propiedades de tipo tejido, lo cual facilita la formación de pliegues o arrugas que dan el aspecto rugoso a la macrocolonia. Un análisis microscópico a mayor resolución de la distribución de las fibras de curli y celulosa en el estrato superior revela además que mientras en la zona más externa (en la interface con el aire) ambos componentes forman una red homogénea embebiendo esencialmente cada bacteria, en la zona interior del estrato superior la producción de matriz es notablemente heterogénea con la presencia casi exclusiva de fibras de celulosa. En esta presentación se mostrará evidencia sobre cómo esta distribución diferencial en el espacio de fibras de curli y celulosa se encuentra controlada por una red de señalización molecular que tiene como componentes principales al factor sigma de fase estacionaria, RpoS, al regulador transcripcional CsgD y a un subgrupo de enzimas que sintetizan y degradan el segundo mensajero c-di-GMP. En particular, se ilustrará el papel de c-di-GMP como modulador de los cambios en la relación heterogeneidad/homogeneidad de componentes de matriz en el estrato superior y como estos cambios repercuten en el desarrollo estructural del biofilm.

MESA REDONDA 6

Diversidad y ecología de microorganismos acuáticos

CITOMETRÍA DE FLUJO Y SECUENCIACIÓN MASIVA: UNA COMBINACIÓN PROMISORIA PARA EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS ACUÁTICOS NO CULTIVABLES

Fernando Unrein (1)

(1) Laboratorio de Ecología y Fotobiología Acuática, Instituto Tecnológico de Chascomús (IIB-INTECH) UNSAM-CONICET, Chascomús, Argentina.

Los microorganismos juegan un papel determinante en los ciclos biogeoquímicos de los sistemas acuáticos. En particular el picoplancton, aquellos menores a 2 μm , son los organismos más abundantes de los ecosistemas y un componente fundamental dentro de las tramas tróficas de los lagos y océanos. Durante las últimas décadas, el desarrollo de técnicas basadas en tinciones fluorescentes, como la microscopía de epifluorescencia y la citometría de flujo, permitieron demostrar entre otras cosas que la abundancia de bacterias era varios órdenes de magnitud más elevada de lo que se podía estimar en crecimiento por placa. Esto generó, un cambio de paradigma en el conocimiento acerca de la estructura de las tramas tróficas acuáticas. La incorporación de técnicas de biología molecular a la ecología acuática asimismo revolucionó el conocimiento que se tenía de la diversidad de microorganismos. Los primeros trabajos de clonado de muestras ambientales de los genes ADNr 16S y 18S, para procariotas y eucariotas respectivamente, revelaron la existencia de una enorme diversidad de microorganismos, muchos de los cuales eran completamente desconocidos para la ciencia hasta ese momento. La aparición durante la última década de técnicas de secuenciación masiva está generando un avance exponencial en los estudios de diversidad y filogenia de microorganismos acuáticos. Actualmente, la combinación de estas técnicas con la capacidad de *sorting* de la citometría de flujo representa una herramienta sumamente poderosa y promisoría que permite vincular de manera directa la diversidad morfológica con la diversidad molecular.

DE LA ECOFISIOLOGÍA A LAS FUNCIONES ECOSISTÉMICAS: PRODUCCIÓN Y TRANSFERENCIA DE BIOMASA BACTERIANA EN SISTEMAS ACUÁTICOS

Cecilia Alonso (1)

(1) Centro Universitario Regional del Este-Universidad de la República, Rocha, Uruguay.

Los procariotas son los organismos más abundantes del planeta y, en términos de biomasa, constituyen un importante reservorio de C, N y P, a la vez que exhiben las tasas de producción de biomasa más elevadas. Las proteínas constituyen la mayor parte de las macromoléculas presentes en las células procariotas, por lo que la capacidad de incorporar aminoácidos de su medio natural y utilizarlos para la síntesis proteica es utilizada como método para estimar la producción de biomasa procariota a nivel de los ecosistemas. Las comunidades bacterianas acuáticas son extremadamente diversas, y dicha diversidad se manifiesta también en las tasas de producción de biomasa de los diferentes componentes. De esta forma, no todos los grupos presentes en un sistema dado contribuyen en la misma medida a la producción global de biomasa. A su vez, la biomasa bacteriana es consumida por el siguiente nivel trófico de la trama microbiana, en una compleja interacción presa-predador, en la cual los diferentes grupos bacterianos exhiben diversas estrategias que les permiten escapar de sus depredadores. En esta presentación abordaremos tanto los factores ambientales que condicionan la producción de biomasa bacteriana en los ecosistemas acuáticos, como la contribución de los diferentes grupos bacterianos a la producción y transferencia de biomasa al resto de la trama trófica acuática. Se presentarán una serie de ejemplos que combinan mediciones globales de dichas funciones ecosistémicas con evaluaciones realizadas a nivel de células individuales, de manera de poder relacionar la diversidad eco-fisiológica de las comunidades microbianas naturales con el funcionamiento a nivel ecosistémico. El abordaje de dichas relaciones se encuentra en la base de la comprensión y capacidad de predicción de procesos clave en el funcionamiento de los sistemas acuáticos, particularmente relevantes en un escenario de cambio global.

EL MICROBIOMA DEL OCÉANO

Hugo Sarmiento (1)

(1) Laboratório de Biodiversidade e Processos Microbianos, Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Brasil.

En el océano existen miles de millones de especies microscópicas, genéricamente conocidas como plancton. En este grupo se incluyen virus, bacterias, algas y protozoarios cubriendo una enorme biodiversidad que produce la mitad del oxígeno del planeta y absorbe hasta el 70% del gas carbónico emitido a la atmósfera por las actividades humanas. Además de esa función esencial en el ciclo del carbono, el océano tiene un papel fundamental en la regulación del clima del planeta. Sin embargo, el equilibrio de estas comunidades microbianas es muy sensible a los cambios climáticos globales, así como a la acidificación que se está produciendo en el océano debido al aumento de las emisiones de los gases de efecto invernadero, y es muy probable que estas comunidades sean afectadas antes de ser conocidas o estudiadas, y que este efecto pueda provocar profundos cambios en el funcionamiento de los océanos. Los estudios de esta comunidad invisible son de extrema importancia para la conservación de la biodiversidad y el mantenimiento del equilibrio de la biosfera, además del potencial enorme para el descubrimiento de nuevos compuestos o genes con potencial interés biotecnológico. De 2009 a 2013 el velero Tara Oceans realizó una campaña de investigación oceanográfica de circunvalación recorriendo todos los océanos y mares interiores, recogiendo millones de muestras que fueron analizadas por un consorcio internacional de investigadores, generando una gigantesca base de datos de acceso libre al público servicio de la humanidad. En ese proyecto se secuenció el microbioma del océano, es decir, el conjunto de todos los genes presentes en los océanos, y constituye el mayor proyecto de secuenciación realizado hasta el presente.

MESA REDONDA 7

Fitopatología: del campo al laboratorio,
y al campo otra vez

¿EL CANCRO BACTERIANO EN TOMATE SERÁ HISTORIA EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES?

Ana María Romero (1)

(1) Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

El tomate es el cultivo que más superficie protegida ocupa en el cinturón hortícola de Buenos Aires-La Plata (CHBALP). Desde principios de este siglo el cancro bacteriano se ha constituido en una de las enfermedades más graves del cultivo. El agente causal es una bacteria Gram positiva, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, que invade los haces vasculares de las plantas de tomate, causando su marchitamiento y muerte. No existe resistencia genética a la enfermedad y los compuestos cúpricos usados para controlar otras bacteriosis no son efectivos. Conocer mejor distintos aspectos de la epidemiología de la enfermedad era fundamental para establecer pautas de manejo sustentable. Con este fin se encararon diversos estudios en el campo y en el laboratorio. En relevamientos realizados durante 5 años se determinó su presencia en promedio en 83% de los invernaderos, afectando el 26% de las plantas. La reducción en la conductividad hidráulica de los tallos se relacionó con cambios en el espectro de reflectancia de las hojas; la aplicación de índices basados en la reflectancia foliar permitió detectar plantas enfermas 15 días antes de la aparición de síntomas. El análisis por rep-PCR de una colección de cepas locales identificó 3 grupos genéticos. Pese a que todas fueron patógenas, solo las cepas de uno de los grupos tienen los dos plásmidos descritos como indispensables para la patogenicidad de esta especie; todas poseen los genes descritos en una isla de patogenicidad del cromosoma. En algunos invernaderos se encontraron varios genotipos en un mismo muestreo, mientras en otros casos un mismo genotipo se aisló en distintos años en un mismo lugar lo que indicaría la coexistencia de cepas que ingresan en semillas infectadas/infestadas con cepas de origen local persistiendo en rastrojos. La infección en semillas se corroboró en muestras comerciales importadas. Las condiciones ambientales, especialmente la temperatura, afectan la supervivencia de las bacterias en rastrojos: es de menos de 3 meses en cultivos de primavera-verano y de 10 meses en cultivos de verano-otoño. La dispersión secundaria del patógeno puede reducirse desinfectando las herramientas de poda. También se evaluaron bacterias promotoras del crecimiento e inductores de distintas vías de defensa, con resultados satisfactorios. Los trabajos realizados permitieron conocer mejor la epidemiología de la enfermedad en el CHBALP y plantear un manejo integrado y sustentable.

LA PODREDUMBRE HÚMEDA DEL GIRASOL POR *Sclerotinia sclerotiorum*, ESTUDIOS DE INTERACCIONES PLANTA-PATÓGENO-AMBIENTE

Facundo Quiroz (1)*, Carolina Trogia (1)

(1) Laboratorio de Patología Vegetal, AIA, EEA INTA Balcarce, Balcarce, Argentina.

La podredumbre húmeda del capítulo (PHC) y de la base del tallo (PHT) por *Sclerotinia sclerotiorum* son enfermedades que limitan la producción y calidad del cultivo de girasol en la Argentina. Luego de la gran epifitía ocurrida en el SE bonaerense (1987/88), fueron numerosos los aportes de investigación y desarrollo llevados a cabo en el país, los cuales minimizaron el impacto de estas enfermedades sobre la producción nacional. Los primeros trabajos estuvieron orientados a la producción y mantenimiento de inóculos y al ajuste de metodologías de inoculación en tallo y capítulo. Estas metodologías fueron utilizadas en estudios básicos de interacción planta-patógeno-ambiente, trabajando con aislamientos o cepas de *S. sclerotiorum* y microorganismos biocontroladores, y con las respuestas moleculares y bioquímicas relacionadas con el patógeno y el hospedante. También se determinó el efecto del ambiente y de herramientas de manejo del cultivo sobre estas respuestas, como así también el desarrollo de modelos de pronóstico de PHC basados en variables meteorológicas y de comportamiento de cultivares. Se destacan los siguientes estudios: efecto de *Trichoderma* spp como controladora de PHC y de la abeja como dispersante del biocontrolador; la actividad de la enzima poligalacturonasa como agente de patogenicidad de *S. sclerotiorum*; factores relacionados con la fuente de inóculo y la degradabilidad del inóculo primario en el suelo y/o rastrojos; el periodo de susceptibilidad y sitios de inicio de infección del hospedante relacionado con fecha de siembra y presencia del inóculo; la resistencia del hospedante a través de sus componentes parciales y la identificación de marcadores moleculares funcionales y respuestas bioquímicas asociados a dicha resistencia; y el desarrollo de marcadores moleculares neutros para asistir al mejoramiento del girasol y a la caracterización y mantenimiento de los materiales del banco de germoplasma de INTA. Todos estos estudios serán detallados en la presentación oral, donde se pondrá énfasis en la transferencia de los conocimientos básicos generados en el laboratorio a diversos escenarios presentes en el campo.

CULTIVOS RESISTENTES A VIRUS EN UNA CITRICULTURA MODERNA

Marña Laura García

Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Las enfermedades producidas por virus, viroides, bacterias y hongos producen importantes pérdidas económicas en los cítricos de todo el mundo. Algunas de ellas provocan la muerte de las plantas y otras al menos disminuyen la producción por pérdida de vigor y/o longevidad de la planta, afectando la calidad de la fruta. Actualmente, una de las enfermedades mundialmente más devastadoras para los cítricos es HLB o *greening*, provocada por la bacteria *Candidatus Liberibacter*, afectando a todas las especies cítricas y sus portainjertos. Sin embargo, aun cuando esta enfermedad lleva toda la atención de científicos y productores, otras enfermedades han producido epidemias en el pasado, por lo que no dejan de ser importantes a la hora del saneamiento del material, que luego será multiplicado en viveros. Esto es, para competir en un mercado cítrico globalizado se necesita la máxima eficiencia en todas las fases de la producción, y es primordial partir desde el vivero con material de excelencia, certificado como libre de patógenos, siendo éste el primer eslabón de una citricultura exitosa. Entre estas enfermedades se encuentra la psorosis de los cítricos, causada por Citrus psorosis virus (CPsV), que ha sido muy destructiva en todas las regiones cítricas del mundo, afectado económicamente a la actividad. En Argentina y Uruguay, donde predominan formas severas de la enfermedad, se ha observado difusión natural, es decir que, si la enfermedad no se controla, se disemina. Por esto es que se incluye en todos los programas de certificación de yemas y portainjertos en el mundo. Psorosis, su estudio, el virus que la causa y su diagnóstico, y la búsqueda de resistencia, se puede tomar como ejemplo de un problema que surge en el cultivo, se realizan las investigaciones hasta llegar a su resolución, y luego volcar ese conocimiento al cultivo. Se trata entonces de integrar desde las técnicas más modernas de monitoreo, diagnóstico y biotecnología actual, hasta aquellas más antiguas como el cultivo de tejido, la multiplicación de yemas y la genética clásica. Enfermedades de las cuales hasta hace poco tiempo no se conocían sus agentes causales, pero que por su severidad se incluyen dentro de los programas de certificación y saneamiento, hoy pueden ser estudiadas por técnicas como la secuenciación masiva. Todas estas alternativas de manejo integral y tecnologías hacen que actualmente tengamos una citricultura exitosa y reconocida mundialmente.

MESA REDONDA 8

El rol de los microorganismos en el tratamiento
de residuos

BIOCOBERTURA PARA LA MITIGACIÓN DE EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN RELLENOS SANITARIOS

Leonardo Erijman (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Los rellenos sanitarios constituyen una de las principales fuentes de emisión antropogénica de metano. Existen tres destinos para el metano producido por digestión anaeróbica de la materia orgánica que se dispone en el relleno. El primero es su utilización como insumo para la producción de energía eléctrica. Sin embargo, los sistemas de colección de biogás de rellenos sanitarios están limitados por el número de pozos de gas que pueden ser instalados, por lo que se estima que la cantidad de metano capturado representa solo una fracción equivalente a un tercio del total de metano generado en los rellenos. Una fracción significativa del metano producido es emitida a la atmósfera, y la emisión continúa por décadas luego de la finalización de la fase activa, cuando la recuperación del biogás para la generación de electricidad ya no es económicamente viable. El tercer destino del metano producido por la biodigestión anaeróbica en el relleno es la oxidación a dióxido de carbono, que tiene lugar naturalmente a medida que el metano fluye a través de la cobertura del relleno. La oxidación de metano es llevada a cabo por un grupo de bacterias aeróbicas (metanótrofos), que utilizan el metano como única fuente de carbono y energía. En algunos rellenos sanitarios la separación de residuos sólidos urbanos, que no fueron separados en origen, se realiza en sistemas de Tratamiento Mecánico Biológico (TMB). Se presentarán resultados preliminares de un proyecto destinado a evaluar la utilización de la fracción orgánica del TMB como material de biofiltro para coberturas finales de rellenos sanitarios.

MIS VILLANAS FAVORITAS II: EL HUMEDAL RECARGADO

Juan Pablo Busalmen (1)

(1) Laboratorio de Bioelectroquímica, División Corrosión, INTEMA-CONICET, Mar del Plata, Argentina.

Muchos son los usos que se avizoran para las bacterias electroactivas, pero se sabe que hay un largo camino por recorrer antes de que esa miríada biotecnológica se convierta en una realidad concreta. Existe sin embargo un caso funcional en el cual toda la potencialidad de la interacción eléctrica entre especies microbianas y materiales conductores, ya se aprovecha para mejorar la calidad de vida de las personas: los humedales electroquímicos para tratamiento de aguas. Como muchas veces pasa con los desafíos complejos, éste tenía una solución simple, pero hicieron falta algunos años de trabajo y mucho respaldo para demostrarlo. En esta charla se presentarán los avances realizados en el Intema como parte del proyecto europeo iMETland, que apunta a la validación, difusión y adopción de la tecnología de humedales electroquímicos para el tratamiento de aguas residuales domiciliarias.

APLICACIÓN DE ESTRATEGIAS COMBINADAS EN LA REMEDIACIÓN DE RESIDUOS PETROQUÍMICOS

María Teresa Del Panno (1)

(1) CINDEFI, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

La intensiva actividad petrolera y petroquímica ha contribuido por años a incrementar la extensión de áreas contaminadas con hidrocarburos. Para su restauración han sido desarrollados estudios aplicando métodos físicos/químicos y/o biológicos. La biorremediación, como estrategia que incentiva la capacidad metabólica de la comunidad microbiana del suelo, es aun hoy una estrategia ampliamente aplicada con la finalidad de degradar el contaminante. Sin embargo, el proceso tiene una aplicabilidad limitada al tratarse de suelos crónicamente contaminados con mezclas complejas de hidrocarburos, principalmente policíclicos aromáticos (PAH) altamente hidrofóbicos. La baja solubilidad de estos compuestos y la tendencia a adsorberse a la materia orgánica del suelo reducen la eficiencia del tratamiento debido a la baja transferencia de masas, condicionando su biodisponibilidad. La aplicación de un tratamiento drástico como la oxidación química, podría reducir estas limitaciones. El persulfato es un ejemplo de los más recientemente usados en la remediación de suelos contaminados con PAHs. Requiere su activación previa con calor, metales de transición, entre otros, rindiendo radicales sulfato altamente reactivos. La aplicación en tándem de un tratamiento oxidativo-biológico demostró ser en varios casos una estrategia más eficiente que ambas individualmente aplicadas. Sin embargo, el tipo de suelo, contaminante, oxidante, dosis y modo de aplicación condicionan el éxito del tratamiento combinado, dependiendo del impacto producido sobre la microbiota autóctona de la matriz a remediar y de la extensión de la acción oxidativa inespecífica sobre la matriz del suelo, pudiendo reducir su eficiencia. Una remediación en tándem con persulfato de amonio seguido de biorremediación fue aplicada sobre muestra de suelo procedente de un landfarming ya cerrado. El tratamiento oxidativo del suelo contaminado (2457ppm Alifáticos y 214ppm PAHs) produjo una significativa eliminación de PAHs e incrementó su biodisponibilidad, promoviendo la movilización de nutrientes desde la matriz del suelo. La comunidad microbiana, negativamente afectada por la oxidación, fue recuperada durante la etapa de biorremediación, promoviendo una adicional eliminación de PHAs además de hidrocarburos alifáticos, luego de un año. El acoplamiento de otras estrategias biológicas que aporten biomasa activa y materia orgánica podrían acelerar la eliminación de hidrocarburos y recuperación de las propiedades del suelo.

MESA REDONDA 9

Comunidades bacterianas involucradas en los ciclos
de P y N: cuando la agricultura deja su marca

IMPACTO DE PRÁCTICAS AGRÍCOLAS SOBRE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO ASOCIADAS AL CULTIVO DE MANÍ

María Soledad Anzuay (1), Tania Taurian (1)*, Jorge Guillermo Angelini (1), Liliana Mercedes Ludueña (1)

(1) FCEFQyN, UNRC, Río Cuarto, Argentina.

La productividad de los sistemas agrícolas depende, en parte, de los procesos funcionales de las comunidades microbianas del suelo y algunas prácticas agrícolas pueden poner en riesgo a estas comunidades. La agricultura moderna depende de una amplia variedad de agroquímicos de los cuales una gran parte se acumula en la capa superior del suelo donde se produce la mayoría de las actividades microbiológicas. A estas prácticas se suma la aplicación de inoculantes biológicos de gran importancia en una agricultura sustentable. Argentina es el quinto productor y el primer exportador mundial de maní. El 95% de la producción nacional se concentra en la región centro sur de la provincia de Córdoba y en ella la aplicación de agroquímicos e inoculantes constituyen una práctica habitual. Los microorganismos del suelo llevan a cabo funciones importantes, tales como descomposición y mineralización de materia orgánica, liberación y transformación de nutrientes inorgánicos, participación en los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, supresión de enfermedades de plantas y en la promoción del crecimiento vegetal. Entre las propiedades de promoción vegetal, la capacidad solubilizadora de fósforo constituye uno de los principales mecanismos de aporte de P para las plantas. Los cambios en la diversidad y estructura de las comunidades microbianas del suelo pueden ser la clave para entender el impacto de los factores ambientales en la calidad del suelo en los sistemas agrícolas. Así, se realizaron estudios tendientes a analizar el efecto de la aplicación de agroquímicos y de inoculantes bacterianos sobre la abundancia y diversidad de las bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) de los suelos maniseros. El abordaje fue realizado mediante estudios dependientes e independientes del cultivo. Fue posible observar que el tratamiento con agroquímicos modifica la estructura de la comunidad de BSP incrementando la diversidad y variabilidad del gen *pqqE*. La abundancia de las BSP y el contenido de P del suelo permanecieron en valores similares en todas las muestras y durante el desarrollo de las plantas indicando que la capacidad solubilizadora de fósforo del suelo no fue modificada. El tratamiento con los inoculantes bacterianos no modificó la abundancia de las BSP rizosféricas de maní y los valores de P del suelo no mostraron diferencias entre los tratamientos. Las prácticas agrícolas analizadas pueden modificar la estructura de las BSP del suelo sin afectar la capacidad solubilizadora de fósforo del mismo.

EL ANÁLISIS DE ARN-*nifH* REVELA FILOTIPOS RELACIONADOS CON *Geobacter* y *Cyanobacteria* COMO IMPORTANTES COMPONENTES FUNCIONALES DE LA FIJACIÓN DE N EN SUELO

Mónica Collavino* (1), Priscila Calderoli (2), Filipe Kramer (3), O. Mario Aguilar (2)

(1) IBONE, FCA, UNNE-Conicet, Corrientes, Argentina (2) IBBM, UNLP-Conicet, La Plata, Argentina (3) INTA-CIRN, Instituto de Suelos, Buenos Aires, Argentina.

Las bacterias del suelo con capacidad de fijar N₂ en vida libre presentan un alto grado de diversidad taxonómica y fisiológica. Previamente encontramos que el perfil de estas comunidades es fuertemente afectado por las características químicas y físicas del suelo en una relación suelo-tratamiento específica (Collavino y col., Env Microb 2014). Sin embargo, la presencia de secuencias *nifH* en el ADN de suelo no indica necesariamente que las mismas correspondan a bacterias activas en la fijación de nitrógeno. La fijación de N₂ es un proceso fuertemente regulado en todos los microorganismos estudiados y su expresión depende de varios factores ambientales (Bürgmann y col., 2005). En este estudio nos propusimos estudiar la población fijadora activa considerando diferentes profundidades y tratamientos bajo siembra directa mediante el análisis de secuenciación masiva de ADNc-*nifH*. Encontramos que la diversidad es significativamente mayor en el suelo no cultivado y, a su vez es afectada por la profundidad en forma dependiente del tratamiento agrícola. Los filotipos relacionados con *Geobacter*, *Rhizobiales*, *Cyanobacteria*, y *Verrucomicrobiales* son componentes activos claves de la fijación de N₂. Es interesante destacar que en la comunidad diazotrófica potencial los grupos como *Geobacter* y *Rhizobiales* son también predominantes mientras que, por el contrario, los órdenes *Cyanobacteria* y *Verrucomicrobia* estuvieron pobremente representados. La cuantificación de los filotipos *Geobacter* y *Cyanobacteria* por qPCR demostró que estos grupos son abundantes en suelos bajo rotación intensiva y bajo monocultivo de soja, respectivamente. La correlación con propiedades físico-químicas del suelo mostró que la estabilidad física del suelo y el carbón orgánico contribuyen a la funcionalidad de ciertas poblaciones y promueve una mayor diversidad de grupos diazotróficos, este incremento en la diversidad podría deberse a la presencia de diferentes nichos (poros de diámetros diferentes), y la estabilidad estructural de los mismos (Calderoli y col., MicrobiologyOpen 2017). Combinando los resultados obtenidos del análisis de la comunidad diazotrófica potencial y activa, es posible concluir que las características edáficas y el uso agronómico afectan significativamente la estructura de las mismas y que la distribución de algunos grupos filogenéticos parece estar asociada a características particulares del suelo, abriendo así la posibilidad de su aplicación como marcadores de calidad.

EFFECTO DE LAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS EN LA PRESENCIA Y ABUNDANCIA DE BACTERIAS DESNITRIFICANTES

Eva Figuerola* (1), Juan Frene (2), Luciano Gabbarini (2), Luis Wall (2), Leonardo Erijman (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética Y Biología Molecular "Dr. Héctor Torres" - CONICET (2)
Laboratorio de Biología de Suelos - Universidad Nacional de Quilmes

La desnitrificación es una fuente importante de gases de efecto invernadero en suelos agrícolas. La siembra directa ha surgido como una alternativa para mantener la calidad del suelo, sin embargo, la ausencia de arado podría favorecer mayores emisiones de óxido nitroso a la atmósfera. Los genes *nirK* y *nirS* son comúnmente empleados como genes marcadores de microorganismos desnitrificantes. El objetivo del trabajo consiste en estudiar la influencia de la labranza sobre la abundancia y diversidad de las poblaciones desnitrificantes y su respuesta al cambio de tipo de labranza. El análisis fue realizado sobre un ensayo de largo plazo con 30 años de historia sito en el sudoeste de la Provincia de Buenos Aires el cual compara labranza convencional con siembra directa en un campo bajo producción agrícola. El suelo es un Argiudol típico profundo franco-arcilloso. 30 meses previo al muestreo, una parcela del campo bajo labranza convencional se cambió a siembra directa al tiempo que lo opuesto fue realizado sobre otra parcela. De esta manera quedaron definidos cuatro tratamientos: Labranza Convencional histórica (LC), Siembra Directa histórica (SD) y los cambios a de LC a SD (nSD) y SD a LC (nLC) todos respetando la misma secuencia de cultivos. Los microorganismos portadores de *nirS* demostraron ser poco abundantes en todos los tratamientos, siendo despreciable su abundancia con respecto a la del gen *nirK*. Las poblaciones portadoras de *nirK* fueron significativamente más abundantes en la parcela bajo siembra convencional que en las restantes, seguida por la nLC, mientras que no se detectaron diferencias entre los tratamientos bajo SD y nSD. Esta tendencia coincide con la proporción de agregados de menor tamaño, que fue significativamente mayor en el tratamiento de LC, seguido por aquellos que fueron sometidos a labranza y finalmente por el de SD. Los efectos del cambio a LC comienzan a ser perceptibles en el número de microorganismos desnitrificantes. El tiempo transcurrido desde el cambio de tipo de labranza fue suficiente para restaurar el comportamiento de la SD en las nSD tanto en la abundancia de desnitrificantes como en la proporción de agregados menores a 63 micrones. Estos resultados sugieren que la desnitrificación podría ser más importante en suelos bajo LC cuya estructura ha sido alterada dando lugar a un menor grado de agregación. La presencia de agregados más pequeños podría limitar la difusividad del oxígeno favoreciendo las condiciones anaeróbicas.

MESA REDONDA 10

Biocontrol de plagas

***Bacillus thuringiensis*: ¿NUEVAS APLICACIONES PARA UN VIEJO CONOCIDO?**

Diego Sauka (1, 2)

(1) Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Bacillus thuringiensis se caracteriza por producir durante la esporulación cristales proteicos, que son selectivamente tóxicos para larvas de insectos cuando estos son ingeridos. Los mismos son inocuos para las plantas, animales, incluso para el hombre, e incluyen proteínas insecticidas (Cry/Cyt) que representan la base del insecticida biológico más difundido mundialmente. Desde el surgimiento del primer bioinsecticida comercial para el control de plagas de lepidópteros, se han ido descubriendo cepas nuevas y el espectro de artrópodos susceptibles fue ampliado a miembros de los órdenes Coleoptera y Diptera, entre otros. Posteriormente, gracias a la ingeniería genética se desarrollaron plantas que expresan genes de proteínas insecticidas de *B. thuringiensis*, lo que las ha convertido en plantas genéticamente modificadas resistentes a insectos. En estos últimos años el espectro de sus aplicaciones ha ido en aumento y se ha hecho notorio que el potencial de *B. thuringiensis* trascendería el control biológico de insectos. Estudios recientes analizan propiedades nuevas para esta bacteria. *B. thuringiensis* podría emplearse como promotor del crecimiento vegetal, y se ha sugerido su aplicación como inoculante para el sector agrícola. Otra aplicación importante en esta materia podría estar dada por la implementación de ciertas cepas como ingrediente activo de bionematicidas contra nematodos fitopatógenos. Las nuevas aplicaciones no se restringirían solo a la agricultura, sino que se extenderían a la biorremediación de ambientes contaminados. Asimismo, *B. thuringiensis* produce bacteriocinas que podrían emplearse como sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimenticia. Otras cepas producen celulasas que podrían desarrollar un papel relevante en la producción de biocombustibles. La posible aplicación en oncología clínica de un grupo nuevo de proteínas de los cristales (parasporinas), se destaca por su impacto para la salud pública. Las mismas son responsables del efecto citotóxico sobre células de cáncer de diversos orígenes, y se caracterizan por presentar baja toxicidad hacia células normales. Las parasporinas manifiestan un potencial indiscutido en el desarrollo de agentes anticancerígenos. De este modo, *B. thuringiensis* no sería solo un entomopatógeno exitoso. Diversas propiedades de esta bacteria están vislumbrando un escenario de nuevas aplicaciones biotecnológicas, que están a la vista para ser evaluadas con mayor detalle y tal vez explotadas.

PATOLOGÍA DE LEPIDÓPTEROS: VIRUS Y MICROSPORIDIOS

Joel D. Arneodo (1,2)

(1) Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

El estudio de las enfermedades en insectos, en particular lepidópteros, fue impulsado por las fuertes pérdidas económicas ocasionadas en especies benéficas. De hecho, dos de los principales grupos de entomopatógenos, los baculovirus y los microsporidios, fueron descritos por primera vez en explotaciones comerciales del gusano de seda, *Bombyx mori*. En vista de los efectos que producen en sus hospedantes, con el tiempo la investigación se orientó hacia el posible empleo de estos agentes en el control biológico de plagas. Miembros de la familia *Baculoviridae* han sido reportados en dípteros, himenópteros y, sobre todo, lepidópteros. Poseen un genoma de ADN bicatenario contenido en una nucleocápside en forma de bastón rodeada por una envoltura lipoproteica. Para su persistencia en el ambiente y transmisión, se encuentran ocluidos en una matriz proteica ("cuerpo de oclusión", OB según sus siglas en inglés) de ca. 0,5 – 2 μm de diámetro, visible en el microscopio de luz. Los OBs ingeridos por las larvas se disuelven en el intestino, liberando los viriones e iniciando la infección. El virus se multiplica en los tejidos del hospedante y se forman millones de nuevos OBs. Éstos son diseminados al medio cuando la larva muere y se desintegra, sirviendo de fuente de inóculo para infectar a otras larvas. En algunos casos, además, los insectos que sobreviven hasta el estado adulto pueden transmitir el virus a su descendencia. Los microsporidios, por su parte, son microorganismos parásitos obligados relacionados con los hongos. Afectan a diversos animales, y son especialmente frecuentes en lepidópteros. Producen esporas fácilmente reconocibles por microscopía óptica, que además de ser las formas de resistencia, son responsables del ingreso "per os" al hospedante y la progresiva colonización de células y tejidos. Las esporas suelen medir de 2 a 5 μm de largo por 1,5 a 2 μm de ancho, y contienen un filamento enrollado a través del cual inyectan su contenido en el citoplasma de la célula blanco, para dar inicio a un complejo ciclo que incluye distintas fases vegetativas y culmina en la formación de nuevas esporas. También en los microsporidios se ha registrado la ocurrencia de transmisión vertical. Dado que son en su mayoría específicos y altamente virulentos, existen varios ejemplos exitosos de utilización de baculovirus como controladores biológicos de lepidópteros perjudiciales. Los microsporidios, en cambio, son muy comunes en crías de laboratorio y también ayudan a regular las poblaciones de insectos en campo, pero actúan más lentamente y a menudo producen infecciones subletales. Por ello, su potencial bioinsecticida es menor. En varias especies de polillas y mariposas se han detectado, asimismo, virus pertenecientes a las familias *Ascoviridae*, *Poxviridae*, *Iridoviridae*, *Iflaviridae* y *Reoviridae*, pero su eventual participación en programas de manejo ha sido relativamente poco explorada.

APLICACIÓN DE BACTERIAS EN EL CONTROL DE POBLACIONES DE MOSQUITOS O EN LA MANIPULACIÓN DE SU CAPACIDAD VECTORIAL

Nicolás Lazarte (1), Rocio Lopez (1), Leonardo Díaz-Nieto (2), Corina Berón (1)*

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC) – CONICET y Fundación para Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de San Juan e Instituto y Museo de Ciencias Naturales, San Juan, Argentina.

De acuerdo con las estimaciones realizadas por la Organización Mundial de la Salud, más de la mitad de la población mundial se ve afectada por enfermedades provocadas por patógenos transmitidos por mosquitos tales como malaria, dengue, fiebre chikungunya, Zika, fiebre amarilla, ciertas encefalitis y filariasis, dando como resultado millones de muertes y cientos de millones de casos nuevos cada año. Debido a la cantidad de agentes patógenos diferentes que estos culícidos vectorizan, con especificidad patógeno - vector variable, existe un consenso general de que la forma más eficiente, económica y segura para la prevención de las estas enfermedades es por medio del control de las poblaciones de mosquitos. Esta se realiza principalmente por medio de la aplicación de insecticidas químicos de síntesis; sin embargo, algunos de estos productos han presentado problemas de resistencia, mientras que otros han sido prohibidos en el mundo debido a su toxicidad sobre las especies no blanco y el medio ambiente. En este contexto, el uso de diversos grupos de bacterias constituye una alternativa valiosa y ambientalmente segura que debe ser explorada. Bacterias entomopatógenas, tales como *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* y *Lysinibacillus sphaericus* han sido las más estudiadas y son ampliamente utilizadas en los programas de control de vectores. Estas bacterias son específicamente tóxicas contra especies de mosquitos y simúlidos, a partir de dosis relativamente bajas, cuando son ingeridas por estadios larvales de insectos susceptibles. En base a estos microorganismos se han diseñado diferentes productos formulados, disponibles comercialmente tanto para su uso doméstico como a escalas mayores. Por otro lado, *Wolbachia pipientis*, α -proteobacteria, endosimbionte obligatoria, identificada originariamente en ovarios de mosquitos del género *Culex*, tiene la capacidad de manipular la sexualidad y / o la reproducción de los insectos, por lo que se está estudiando como posible agente de control, y ya en algunos países como Brasil, Colombia y USA se están realizando liberaciones experimentales de mosquitos infectados con esta bacteria, en el marco de programas nacionales de control vectorial. A su vez, se ha demostrado que la presencia de *Wolbachia* en algunos mosquitos inhibe su capacidad vectorial, dando como resultado el control ya no de las poblaciones del insecto, sino de la transmisión de los agentes patógenos transmitidos por ellos. Adicionalmente, a nivel mundial se está analizando la posibilidad de manipular la microbiota presente en los sistemas digestivos de mosquitos ya sea para incorporar moléculas tóxicas contra los mismos, o para la eliminación de aquellos microorganismos indispensables para la digestión de nutrientes y/o necesarios para el desarrollo del insecto. En esta presentación se expondrán algunos avances obtenidos por el grupo de Control Biológico de Insectos Plaga y Vectores de Importancia Sanitaria del INBIOTEC, orientados al desarrollo de sistemas de control de poblaciones de mosquitos.

MESA REDONDA 11

Micro-ómicas: aplicación de técnicas high throughput
en el estudio global de microorganismos

TÉCNICAS PROTEÓMICAS Y ESTRATÉGIAS ALTERNATIVAS PARA EL ESTUDIO DE PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Sebastián Trejo (1)

(1) Laboratorio de Neurofisiología, Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), CONICET-CIC, Universidad Nacional de La Plata.

Hace ya casi un cuarto de siglo, en el año 1994, Marck Wilkins y colaboradores [1] utilizaron la técnica de electroforesis bidimensional para hacer un estudio de proteínas sobre la base de un análisis de expresión de genes en *E. coli*. Haciendo una analogía con el término GENOMA definieron el concepto de PROTEOMA como el conjunto de proteínas que puede ser expresado por una célula o un organismo. Si bien esta es una de las primeras referencias científicas donde se registra la definición del proteoma sabemos que conceptualmente ya hacía un cuarto de siglo que Ornstein [2] (en el año 1964 con los discos de geles) Laemmli [3] (en el año 1970 con el SDS-PAGE) y otros investigadores venían trabajando en lo que actualmente conocemos como proteómica. La proteómica, al igual que otros campos de investigación científica, se nutre indefectiblemente de los avances de la tecnología como así también de la implementación de técnicas clásicas y el desarrollo de nuevas metodologías de estudio. Así, la combinación de una técnica resolutive como el 2D-PAGE y la identificación de proteínas por espectrometría de masas contribuyó exponencialmente a la caracterización de los proteomas y a la alimentación de las bases de datos. En esta última década el cambio más significativo que hemos visto en la proteómica vino de la mano de la aparición de la nueva generación de espectrómetros de masas.

En esta presentación veremos las alternativas de trabajo frente a diferentes espectrómetros de masas y como estas diferentes estrategias de estudio pueden contribuir a responder muchas de las preguntas que se nos plantean cotidianamente en el laboratorio.

Referencias

- [1] M. R. Wilkins, C. Pasquali, R. D. Appel, K. Ou, O. Golaz, J. C. Sanchez, J. X. Yan, A. A. Gooley, G. Hughes, I. Humphery-Smith, K. L. Williams, and D. F. Hochstrasser, "From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis.," *Biotechnology. (N. Y.)*, vol. 14, no. 1, pp. 61–5, Jan. 1996.
- [2] L. Ornstein, "Disc Electrophoresis. I. Background and theory.," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 121, pp. 321–49, Dec. 1964.
- [3] U. K. Laemmli, "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.," *Nature*, vol. 227, no. 5259, pp. 680–5, Aug. 1970.

UNA VISIÓN MULTI-OMICA APLICADA AL ESTUDIO DEL ESTRÉS EN BACTERIAS

Walter Omar Draghi (1)

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, CONICET - CCT La Plata.

Las poblaciones bacterianas están sujetas a continuos cambios en el ambiente que colonizan. La falta de nutrientes, fluctuaciones de temperatura, radiación UV, desecación, niveles tóxicos de metales, estrés osmótico, oxidativo, o altos/bajos pH, son alguno de los factores que varían en forma continua en el ambiente suelo. Para poder superar dichas fluctuaciones, las bacterias deben ser capaces de responder a las mismas a través de cambios en la expresión génica que les permita adaptarse rápidamente a las nuevas condiciones imperantes en el ambiente. Dichos cambios en la expresión génica implican la expresión y el funcionamiento de mecanismos biológicos muy variados, que pueden incluir factores sigma alternativos, sistemas de dos componentes, ARN no codificantes, sistemas toxina-antitoxina, o respuesta severa, por nombrar solo algunos. Los rizobios son proteobacterias capaces de fijar nitrógeno atmosférico en asociación con leguminosas (mayoritariamente), adquiriendo un rol preponderante en el ciclo biogeoquímico de este elemento en la naturaleza. La efectiva asociación simbiótica está, sin embargo, limitada por estreses abióticos que limitan el éxito en la generación de un sistema fijador en las raíces vegetales. En este sentido, la asociación *Medicago-Sinorhizobium* es reconocida como altamente sensible al estrés ácido, afectando dicho estrés diversos pasos claves en la interacción bacteria-planta. Para obtener un mejor conocimiento de los mecanismos celulares bacterianos implicados en la defensa frente al bajo pH hemos realizado un acercamiento multiómico, utilizando herramientas de proteómica, transcriptómica y metabolómica sobre cultivos *in vitro* de *S. meliloti* 2011 creciendo en condiciones controladas de acidez. La integración de los resultados obtenidos nos permitió observar, por ejemplo, que a bajo pH la población bacteriana presentó altas tasas respiratorias celulares, en concordancia con la sobreexpresión de proteínas involucradas en la cadena respiratoria. Paralelamente se observó la implicancia de metabolitos, transcriptos y enzimas involucradas en el funcionamiento de la vía de las Pentosas Fosfato, sugiriendo un rol activo de la misma a bajo pH. Estos sistemas, junto a otros mecanismos registrados por las distintas "ómicas" utilizadas, nos han permitido construir un modelo de funcionamiento celular en condiciones de acidez ambiental para entender la fisiología bacteriana bajo condiciones de bajo pH.

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DUAL RNAseq EN EL MODELO RIZOBIO-LEGUMINOSAS

Gonzalo Torres Tejerizo (1,2)

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CONICET, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (2) CeBiTec, Bielefeld Universität, Bielefeld, Germany.

La aparición de nuevas metodologías de secuenciamiento masivo, con su capacidad de obtener un elevado número de secuencias a un precio relativamente bajo, ha generado un considerable aumento en el número de proyectos genómicos. La combinación de estas metodologías con estrategias particulares ha permitido la obtención de transcriptomas (RNAseq) de organismos en diversas condiciones. La realización de RNAseq permite la cuantificación de la expresión de los genes como así también el descubrimiento de regiones transcripcionalmente activas. En un principio, la realización de RNAseq se limitó a transcriptomas de organismos aislados. Recientemente, se han aplicado estas tecnologías en sistemas simbióticos o patogénicos (dual RNAseq), con el fin de conocer el transcriptoma de los organismos involucrados en dicha interacción, confiriendo así una ventaja desde un punto de vista metodológico como así también en la información que se obtiene de ambos integrantes. En nuestro laboratorio estudiamos la simbiosis rizobio-leguminosas, un proceso altamente complejo como así también ampliamente estudiado por la capacidad de ciertos rizobios de fijar el N₂ para brindárselo a las leguminosas, facilitando su crecimiento. El desarrollo de esta asociación se lleva a cabo bajo la expresión coordinada de varios genes, tanto en la planta como en la bacteria. Si bien se conocen numerosos genes y procesos involucrados en el establecimiento de esta simbiosis, el proceso de incompatibilidad entre rizobios y leguminosas, es decir, el proceso por los cuales un rizobio que infecta no puede fijar nitrógeno eficientemente en algunas plantas, sigue siendo un área inexplorada. Con el fin de conocer mejor este proceso, realizamos dual RNAseq para estudiar los transcriptomas tanto de la planta como de la bacteria, utilizando como modelo rizobios eficientes (*Ensifer meliloti* 2011) e ineficientes (*Rhizobium favelukesii* LPU83) en la fijación de nitrógeno con *Medicago truncatula*. El RNAseq mostró que más de 5500 genes de *M. truncatula* cambian entre los nódulos infectados por cada cepa, con diversos procesos biológicos afectados. Por el lado de las bacterias utilizadas, en cada una de ellas más de mil genes se encuentran afectados al analizarlas en vida libre y dentro de nódulos. De manera colectiva, las diferencias transcriptómicas observadas en ambos organismos permitirán extender nuestro conocimiento de los mecanismos involucrados en la interacción rizobio-leguminosas.

MESA REDONDA 13

Cuando la investigación básica se vuelve aplicada:
desde el desarrollo hasta la comercialización de un
bioinsumo

EL ROL DEL CABUA COMO PROMOTOR DEL DESARROLLO Y EL USO DE LOS BIOINSUMOS DE USO AGROPECUARIO EN ARGENTINA

Germán Ceizel Borella (1)

(1) Dirección de Biotecnología - Ministerio de Agroindustria, SAV-SSBI.

El Comité Asesor en Bioinsumos de Uso Agropecuario (CABUA), es un órgano intersectorial de gestión, concertación y formulación de proyectos para el sector de los Bioinsumos creado en el ámbito de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) en diciembre de 2013. La creación de este Comité fue fruto de la primera edición del “Taller sobre la institucionalidad para el desarrollo y comercialización de bioinsumos en Argentina. Experiencias en países de América Latina y el Caribe” llevado a cabo en Buenos Aires y organizado por la Dirección de Biotecnología del ex MAGyP, el IICA y el SENASA y dio inicio a una política explícita en materia de Bioinsumos agropecuarios que se sostuvo en el tiempo. El mencionado comité ha definido a los Bioinsumos Agropecuarios como “todo aquel producto biológico que consista o haya sido producido por microorganismos o macroorganismos, extractos o compuestos bioactivos derivados de ellos y que estén destinados a ser aplicados como insumos en la producción agropecuaria, agroalimentaria, agroindustrial, agroenergética e incluso en el saneamiento ambiental agropecuario”. En Argentina al día de hoy existen más de 500 bioinsumos; en su mayoría biofertilizantes, debido al auge de su utilización en cultivos a gran escala como la soja. Asimismo, existen unos 50 biocontroladores y bioestimulantes a base de bacterias benéficas, virus entomopatógenos o extractos vegetales. En este sentido, aunque el interés por los Bioinsumos ha crecido desde distintos sectores productivos en los últimos años, el número de registros no acompaña esta tendencia. En esta línea, el rol del CABUA es fundamental ya que funciona como ámbito facilitador y de colaboración entre Ministerios (Ciencia y Tecnología, Agroindustria, Ambiente entre otros), reguladores (SENASA, ANMAT y SAYDS) y sector privado, con el objetivo de fomentar el uso seguro y regulado de los bioinsumos y el desarrollo de la industria. Entre sus aportes más recientes podemos citar: la resolución de reducción de aranceles para el registro de bioinsumos en SENASA, el desarrollo y seguimiento del “Programa de Fomento del uso de bioinsumos Agropecuarios (PROFOBIO)”, el proyecto de reducción del IVA sobre biofertilizantes, la propuesta de generación de una red de Laboratorios para la certificación de bioinsumos y la creación de un espacio dedicado a la asesoría a desarrolladores para el registro de nuevos bioinsumos.

PRESENTE Y FUTURO DE LAS MICRO-BIO-TECNOLOGÍAS EN EL SIGLO XXI

Gustavo Gonzalez Anta (1)

(1) Rizobacter Argentina, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Buenos Aires, Argentina.

Las Micro-Bio-Tecnologías han tenido un desarrollo sustantivo y acelerado en el transcurso de lo que va de este siglo que ha pivotado en tres grandes áreas: selección de microorganismos cada vez más eficientes y adaptados a diferentes condiciones agro-edafo climáticas; alta compatibilidad con formulaciones y principios químicos de fitosanitarios e incremento de la supervivencia microbiana sobre la superficie de las semillas de diferentes cultivos. En lo que hace a la eficiencia microbiana per se, baste mencionar las cepas de *Bradyrhizobium* sp; *Azospirillum* sp y *Pseudomonas* sp que han sido empleadas en diferentes formulaciones de productos inoculantes y que han manifestado impactos productivos importantes sobre el rendimiento en grano de los cultivos de soja y maíz. Por otra parte, la compatibilidad de componentes químicos y microbianos se han incrementado sustancialmente, gracias a la mejora en los componentes de las formulaciones químicas y la generación de nuevos protectores microbianos. Por último, la composición equilibrada de sustancias nutritivas, bioprotectoras y humectantes han permitido extender la supervivencia de los microorganismos sobre las semillas protegiéndolos de los agentes químicos y de la desecación. No obstante, los avances alcanzados y los resultados productivos obtenidos, el futuro se presenta aún más promisorio, a través de la generación de nuevos y desafiantes conocimientos relacionados con la comunicación a nivel celular de microbios y plantas para potenciar tanto la biofertilización como el biocontrol; pero al mismo tiempo los desafíos en el desarrollo de bioproductos genéticamente modificados y Micro-Bio-Tecnologías que permitan la protección y supervivencia microbiana como es el caso de las microcápsulas microbianas. Estas Biotecnologías aseguran una mayor eficiencia y una mejora continua en la utilización de los microbios que aporten incremental y positivamente al crecimiento, desarrollo y rendimiento en grano de los cultivos. En definitiva, el Presente y Futuro de las Micro-Bio-Tecnologías en el siglo XXI, están permitiendo la obtención de beneficios productivos concretos; en un momento de la historia de la humanidad en general y de la agricultura en particular muy comprometido y consiente de la necesidad de lograr producciones más amigables con el medio ambiente.

MESA REDONDA 14

Aplicaciones de microscopía al estudio de
microorganismos

MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA EN MICROBIOLOGÍA: MÁS ALLÁ DE LA TOPOGRAFÍA

Lía Pietrasanta (1)

(1) Instituto de Física de Buenos Aires (IFIBA, UBA-CONICET) y Centro de Microscopías Avanzadas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Un desafío actual en microbiología celular y molecular es estudiar la organización, dinámica e interacciones de distintos componentes/estructuras en la célula, a nivel de moléculas individuales, con alta resolución espacial y temporal. La microscopía ha sido, y es actualmente, una herramienta fundamental en microbiología. El microscopio óptico, desde su invención en el siglo XVII, ha permitido contar e identificar células así también como determinar su forma y observar detalles de su morfología. En el siglo XX el desarrollo del microscopio de fluorescencia y diversas técnicas asociadas llevó a localizar moléculas específicas en una célula y a visualizar la organización y la heterogeneidad de las mismas. Sin embargo, la resolución espacial en esta microscopía está limitada por la difracción de la luz (~200 nm) y resulta imposible evaluar la localización y las interacciones de moléculas individuales. Las técnicas de microscopía electrónica que utilizan longitudes de onda más corta que la luz proveen imágenes de estructuras celulares a mayor resolución pero requieren trabajar en condiciones de vacío. En los últimos 20 años han sido desarrollados varios microscopios de alta resolución entre los que se destaca el microscopio de fuerza atómica (AFM). El AFM es una herramienta ideal para observar y monitorear interacciones moleculares con alta resolución espacial, temporal y la posibilidad única de detectar fuerzas en el orden de piconewtons. El principio de operación del AFM se basa en hacer barrer una punta sobre la muestra que se quiere estudiar. La punta está ubicada en el extremo libre de un fleje cuyas deflexiones son detectadas durante el barrido y resultan en una imagen tridimensional. Más allá de la obtención de imágenes, el AFM se puede usar para obtener información sobre la localización, adhesión, elasticidad y las interacciones de moléculas individuales. En este modo llamado espectroscopía de fuerza (FS-AFM) se obtienen curvas de fuerza (deflexión del *cantilever* vs distancia punta-muestra) en distintos puntos de la muestra generando un mapa. La modificación química/molecular específica de la punta permite simultáneamente la visualización y la detección dando origen a la microscopía de fuerza atómica basada en reconocimiento químico (CFM) o en reconocimiento molecular (MR-AFM). En la presentación se introducirán las bases y funcionamiento del AFM, la preparación de las muestras, las aplicaciones y perspectivas de esta microscopía en microbiología.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA: SU UTILIZACIÓN EN ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

Susana Jurado (1)

(1) Servicio Central de Microscopía Electrónica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.

Los avances tecnológicos han permitido que el microscopio electrónico se convierta en una herramienta muy valiosa en microbiología, ya sea para colaborar en la identificación de agentes causales de enfermedad o para investigar las relaciones entre el patógeno y el huésped. La principal razón para utilizar un microscopio electrónico en estudios microbiológicos del campo de la salud o del medioambiente se basa en el gran poder de resolución que tiene este instrumento. La fuente de energía utilizada en el microscopio electrónico, tanto de transmisión (TEM) como de barrido (SEM), es un haz de electrones que tiene una longitud de onda excepcionalmente corta, lo que aumenta la resolución de la imagen de manera significativa si se la compara con la imagen obtenida con el microscopio óptico. El gran poder de resolución captura detalles finos de estructura lo que permite esclarecer la ultramorfología de cualquier microorganismo. Al TEM se lo utiliza para observar la morfología interna de células y microorganismos, obteniendo imágenes bidimensionales de los mismos. En cambio, al SEM se lo emplea para examinar los detalles morfológicos de la superficie de un objeto diminuto, siendo la imagen final de carácter tridimensional. Si bien la microscopía electrónica es una técnica particularmente valiosa en el diagnóstico rápido de enfermedades víricas, también es indispensable en el estudio de parásitos, hongos y bacterias ya que, en muchos casos, las características ultraestructurales de estos microorganismos permiten clasificarlos específicamente. El espectro de muestras microbiológicas que se pueden observar en el microscopio electrónico es muy amplio, por lo que es necesario realizar diversos procedimientos que preserven la ultraestructura del microorganismo en estudio. También es posible que los microorganismos en sí mismos puedan diferir profundamente unos de otros, tanto en su composición como en su ultraestructura, por lo que en muchos casos es necesario realizar algunas modificaciones al protocolo general. En este trabajo se describen algunas técnicas de preparación de muestras para microscopía electrónica de transmisión y barrido aplicadas en estudios microbiológicos.

MICROSCOPIA RAMAN CONFOCAL PARA EL ESTUDIO *in situ* E *in vivo* DE BIOFILMS ELECTROGÉNICOS

Luciana Robuschi (1)

(1) División IIBio, INTEMA-CONICET, Argentina.

La microscopia Raman confocal es una técnica no destructiva que permite obtener información química detallada de los componentes de un material en dos y tres dimensiones, con la resolución espacial de un microscopio óptico y sin interferencia del agua. Estas características son de particular interés en el campo de la microbiología, ya que posibilitan el estudio de *biofilms* bacterianos vivos completamente hidratados, en función del espacio y tiempo, y bajo diversas condiciones. Utilizando esta herramienta, se llevó a cabo el estudio *in vivo*, no invasivo, de perfiles en profundidad de *biofilms* eléctricamente activos (capaces de comunicarse eléctricamente con un electrodo polarizado). Esto es posible debido a que las bacterias que lo forman poseen un mecanismo de transferencia extracelular de electrones, que les permite la respiración anaeróbica de aceptores insolubles en su ambiente natural. Para realizar este estudio, *biofilms* de la bacteria *Geobacter sulfurreducens* fueron crecidos sobre un vidrio conductor recubierto de óxido de indio y estaño (ITO) el cual cumple un doble rol: actúa como electrodo de soporte para la población de bacterias, y también como una ventana transparente que da acceso directo al cuerpo del *biofilm*. Se utilizó un microscopio Raman confocal para examinar el estado redox del *biofilm* a distancias crecientes desde la superficie de ITO, con polarización variable y bajo la presencia o no de un dador o aceptor químico de electrones. El efecto de resonancia Raman permitió investigar selectivamente la respuesta redox de los citocromos del *biofilm* en las condiciones y potencial aplicados, revelando detalles de conectividad interna de la población bacteriana.

MESA REDONDA 15

Nuevas tecnologías aplicadas al estudio de helmintos

GENÉTICA Y GENÓMICA APLICADA AL ESTUDIO DE LA HIDATIDOSIS

Lucas L Maldonado(1), Natalia Macchiaroli(1), Marcela Cucher(1), Federico Camicia(1), Mara Rosenzvit (1), Guilherme Oliveira (2), Laura Kamenetzky (1)

(1) IMPaM, CONICET, Facultad de Medicina – Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto Tecnológico do Vale-ITV –Belem, Brazil.

Los parásitos helmintos causan enfermedades de gran importancia socioeconómica en todo el mundo, ya que tienen un impacto importante en la salud humana y constituyen una enorme carga a su desarrollo, en la producción animal y agricultura. Son los agentes infecciosos más frecuentes en humanos en países en vías de desarrollo y colectivamente el daño a la salud humana es comparable con las principales enfermedades de alta mortalidad, como el VIH/SIDA o la malaria. El parásito *Echinococcus canadensis* G7 (filo Platelminos, clase Cestoda) es uno de los agentes causantes de la echinococcosis, zoonosis crónica que afecta tanto a los seres humanos como a mamíferos domésticos y silvestres, y es considerada una enfermedad prioritaria por la Organización Mundial de la Salud. Dada su gravedad e incidencia en el mundo, nuestro grupo de investigación secuenció, ensambló y anotó el genoma de 115 Mb de *E. canadensis* G7. Se identificaron 11435 genes y mediante análisis de ortología se determinaron 881 grupos de genes específicos de cestodos y 581 grupos específicos del género *Echinococcus* que permitieron identificar genes que podrían ser nuevos blancos terapéuticos. Asimismo, análisis de genómica comparativa realizado entre tres especies de *Echinococcus* reveló un alto grado de variabilidad genética entre *E. canadensis* G7 y *E. granulosus* G1, que fueron confirmados por análisis filogenéticos basados en SNPs, a pesar de que ambas especies pertenecen al complejo *E. granulosus sensu lato* y presentan un fenotipo similar del estadio de metacestodo. Asimismo, se identificaron SNPs en genes del metabolismo y su validación permitió desarrollar nuevos marcadores moleculares nucleares para diferenciar las especies de *Echinococcus* que infectan a animales y al hombre en Argentina. Además se estudiaron cuatro características biológicas particulares; la distribución de islas CpG, el sistema de metilación del ADN, componentes de la vía de pequeños ARN basados en el análisis estructural proteína-ARN y el uso de codones de *Echinococcus* que sugieren el hallazgo de mecanismos de regulación génica aún desconocidos y diferenciales entre las especies. Los datos generados aquí contribuyeron a la construcción de la base de datos WormBase ParaSite especializada en parásitos helmintos y del Nodo Bioinformático IMPaM en el que se implementaron herramientas especializadas para el análisis de cestodos que puede ser utilizada para el diseño de nuevas herramientas de control.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ANTÍGENOS PARA SU USO EN EL DESARROLLO DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE HELMINTIASIS HUÉRFANAS

Nahili Giorello (1,2), Marcos Butti (2), Lucas Maldonado (3), Laura Kamenetzky (3), Dominik R. Laetsch (4), Mark Blaxter (4), Nilda A. Radman (2), Betina Córscico (1), Gisela Franchini (1)

(1) INIBIOLP-CONICET, Fac.de Ciencias Médicas, Universidad de La Plata, Argentina. (2) Laboratorio de parasitosis humanas y zoonosis parasitarias, Catedra de Parasitología Comparada, Fac. de Veterinaria, Universidad de La Plata, Argentina. (3) IMPAM-CONICET, Fac. de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina. (4) Universidad de Edimburgo, Escocia, Reino Unido.

La Dioctofimosis es una enfermedad parasitaria causada por el nematode *Dioctophyma renale*. Esta es una parasitosis de ciclo indirecto que tiene como hospedadores definitivos a diferentes mamíferos, entre ellos al hombre. En Argentina, se encuentra generalmente en los cánidos y su diagnóstico resulta del análisis de orina, ecografías, maniobras quirúrgicas o necropsias. Estudios realizados recientemente por la Facultad de Veterinaria de la UNLP en el marco de un proyecto de extensión muestran un 25% de Dioctofimosis patente en riñones de perros adultos en zonas ribereñas periurbanas. Aunque el parásito usualmente se ubica en uno de los riñones, los gusanos también pueden desarrollar a adultos en otros sitios aparte de este órgano, como la cavidad abdominal, ovarios, testículos, nódulos linfáticos mesentéricos, etc. Los métodos diagnósticos actuales son difíciles de implementar debido a la necesidad de utilizar equipos complejos o por una baja sensibilidad, frecuentemente dando como resultados falsos negativos. Las abundantes proteínas que son expresadas por los parásitos son relevantes tanto para inmunodiagnos así como también para su persistencia en los hospedadores. Este es un proyecto fundacional que tiene el objetivo de descubrir proteínas específicas de *D. renale* que podrían ser útiles como nuevos marcadores diagnósticos para su uso en perros y potencialmente en humanos. Datos preliminares obtenidos en nuestro laboratorio mostraron que el líquido pseudocelómico corporal (PCF) de especímenes adultos de *D. renale* contiene dos proteínas en alta concentración, una de 44 kDa (P44) que une lípidos, y otra de 17 kDa (P17) de color rojo. El análisis de identidad aminoacídica demostró que la región N-terminal no presenta homología con ninguna proteína descrita hasta el momento, posicionándolas como buenas candidatas para uso como marcadores diagnósticos. Adicionalmente, hemos comenzado el análisis genómico de este parásito con la finalidad de poder predecir y encontrar marcadores moleculares novedosos y alternativos. Determinar la secuencia y anotar el genoma generará una nueva plataforma de investigación y contribuirá también al estudio evolutivo de nematodes dado que *D. renale* pertenece al Clado I del Phylum Nematoda el cual está poco representado en estudios genómicos. La existencia de métodos diagnósticos más específicos contribuirá a generar mejores estudios de prevalencia y epidemiología de *D. renale* que mejorara el control y profilaxis. Los datos funcionales que podrían emerger de este proyecto fruto de una caracterización de las proteínas candidatas contribuirían también a una mejor comprensión de la relación parásito:hospedador que opera en este tipo de infecciones.

FARMACOTERAPIA EXPERIMENTAL DE LA ECHINOCOCCOSIS: ESTADO ACTUAL Y NUEVAS PERSPECTIVAS

María Celina Elissondo (1)

(1) Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), FCEyN, UNMdP, Mar del Plata, Argentina. CONICET.

La hidatidosis o echinococcosis, una enfermedad zoonótica parasitaria causada por el estadio larval del metacestodo del género *Echinococcus*, produce infecciones de larga duración en humanos y animales, siendo un serio problema de salud pública. Es considerada por la OMS como una de las principales enfermedades zoonóticas desatendidas a nivel mundial. En la actualidad existen cuatro alternativas de tratamiento en humanos: cirugía, PAIR (aspiración monitoreada por ecografía), quimioterapia con benzimidazoles, y, para quistes inactivos la modalidad de observar y esperar ("*watch and wait*"). No existen al momento fármacos que demuestren un 100% de eficacia sobre el estadio larval del parásito. Albendazole y su principal metabolito el albendazole sulfóxido son los únicos fármacos aprobados por la FDA, con una efectividad que no supera el 50%. Los benzimidazoles presentan limitaciones en su eficacia debido a su escasa velocidad de disolución. Albendazole es una droga liposoluble por lo que es pobremente absorbida en el tracto gastrointestinal y por ello su biodisponibilidad es muy baja. Como consecuencia de esto, la menor llegada del fármaco al sitio de localización parasitaria puede explicar la eficacia variable que presenta este fármaco en los pacientes con echinococcosis. En este contexto, es evidente la necesidad de encontrar nuevos fármacos o nuevas alternativas para el tratamiento de la echinococcosis humana. La terapéutica experimental de la enfermedad está orientada en tres niveles. Un primer enfoque es la búsqueda de nuevos fármacos con actividad antihelmíntica. Por otro lado, la tecnología farmacéutica está contribuyendo al mejor aprovechamiento de los principios activos mediante el diseño de formulaciones en las que se optimiza la efectividad, seguridad y confiabilidad, logrando aumentar el cociente beneficio/riesgo de los tratamientos. En tercer lugar, a partir de la integración del conocimiento del genoma, transcriptoma, proteoma y metaboloma del parásito, se están investigando nuevos blancos de acción. En la presente ponencia se discutirán algunas de las nuevas tecnologías disponibles ya aplicadas al tratamiento experimental de la echinococcosis, con énfasis en nuevas estrategias de vectorización de drogas que permitan mejorar la biodisponibilidad de las ya existentes.

MESA REDONDA 16

Biología y biotecnología de microorganismos en
reservorios no humanos con impacto en Salud Pública

CONTAMINACIÓN BACTERIOLÓGICA DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO: MARCO CONCEPTUAL Y SU PROBLEMÁTICA

Yolanda Elina Andreoli (1)

(1) Microbiología General y Microbiología de Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias de Balcarce-Universidad Nacional de Mar del Plata, Prov. Bs.As., Argentina.

El agua potable es un recurso escaso, si se considera su disponibilidad a nivel global. En esta presentación se analizarán las implicancias de la calidad del agua en relación con la salud humana, y los principales tipos de agentes contaminantes, con especial atención en los de naturaleza microbiana. Asimismo, se proporcionará información sobre el análisis de agua para consumo humano según los criterios del Código Alimentario Argentino (CAA), incluyendo las condiciones adecuadas de toma de la muestra e información relevante sobre la localización del pozo, a fin de facilitar la interpretación de los resultados del laboratorio. Se espera que esta presentación pueda ser útil como introducción para comprender la complejidad de estas enfermedades con el fin de dispensar información práctica que nos proporcione herramientas aptas para seleccionar y aplicar de manera efectiva las mejores medidas de control disponibles.

PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS POR BACTERIAS LÁCTICAS DEL ECOSISTEMA MARINO PATAGÓNICO

Emilio R. Marguet (1)

(1) Laboratorio de Biotecnología Bacteriana, Facultad de Ciencias Naturales y Cs. de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Sede Trelew, Argentina.

El medio marino es un reservorio excepcional que alberga una gran variedad de microorganismos con capacidad para producir metabolitos con propiedades potencialmente bioactivas. Las bacterias lácticas (BL) constituyen un grupo que, no obstante sus altos requerimientos nutricionales, se han adaptado con éxito al ámbito marino. La capacidad inhibitoria de las BL se basa en la generación de metabolitos que exhiben mecanismos inespecíficos (ácidos orgánicos) o específicos como es el caso de las bacteriocinas. Estas moléculas antimicrobianas de naturaleza peptídica, de origen genético diverso, suelen presentar modificaciones postraduccionales y pueden funcionar como una estrategia competitiva contra otros microorganismos. En el presente trabajo se describe la capacidad inhibitoria de cepas de BL contra microorganismos Gram positivos y negativos, aisladas de peces e invertebrados marinos de la provincia del Chubut (Patagonia-Argentina). Del total de muestras procesadas provenientes del medio marino se lograron aislar y clasificar 351 cepas de BL pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Enterococcus*. Se empleó el método de difusión en agar para detectar la actividad antimicrobiana de las cepas aisladas contra microorganismos patógenos y/o contaminantes de alimentos. Además, se evaluaron las características físico-químicas de los principios activos y los genes relacionados con la producción mediante PCR. Del total de microorganismos evaluados, se seleccionaron 8 cepas de enterococos y 2 de lactococos sobre la base de su actividad antimicrobiana e inocuidad. Las cepas seleccionadas producen metabolitos bioactivos de naturaleza proteica, estables al calor, a la conservación en frío y exhiben un amplio espectro de inhibición. La mayor producción de los metabolitos antimicrobianos se obtiene durante la fase exponencial de crecimiento, en un amplio rango de temperatura, destacándose la producción a bajas temperaturas. Las cepas de BL estudiadas, específicamente las especies de *Enterococcus* son productoras de múltiples bacteriocinas que podrían resultar efectivas para el control biológico de bacterias patógenas y/o contaminantes de alimentos.

IMPACTO EN SALUD PÚBLICA DE MICROORGANISMOS AMBIENTALES: VISIÓN DE UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Laura Morvay (1)

(1) Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Microbiología, Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil Don Victorio Tetamanti, Ciudad de Mar del Plata, Prov. Bs.As, Argentina

Shigella spp. es el agente clásico de la disentería bacilar que afecta a intestino grueso. Incluye 49 serotipos que corresponden a 4 especies: *S. dysenteriae* (serogrupo A, 15 serotipos), *S. flexneri* (serogrupo B, 14 serotipos), *S. boydii* (serogrupo C, 19 serotipos) y *S. sonnei* (serogrupo D, 1 serotipo). En Argentina las especies de mayor circulación son *S. flexneri*, *S. sonnei* y *S. boydii*. La transmisión es oral-fecal (agua y alimentos contaminados) y por contacto persona-persona. Anualmente se documentan 150 millones de casos de diarreas bacterianas producidas por *Shigella* spp. en países en vías de desarrollo y 1,5 millones en países industrializados. La mayoría ocurren en la primera infancia. Este microorganismo se encuentra entre los 4 principales enteropatógenos asociados con enfermedad severa a moderada, siendo la 4^{ta} causa entre 0-11 meses de vida, 2^{da} entre 12-23 meses y 1^{ra} entre 24-59 meses. En nuestro hospital la shigelosis es la 2^{da} enfermedad infecciosa notificada luego de las infecciones respiratorias agudas virales. De acuerdo con nuestros datos locales en los últimos 5 años del total de diarreas bacterianas (517 casos), correspondieron 64%, *S. flexneri*; 27%, *S. sonnei*; 7,8%, *Salmonella* sp. y 1,2%, ECST O157. La presentación clínica y evolución depende de cada cepa y del estado inmunológico y nutricional del huésped. En las primeras 48 h la diarrea puede ser acuosa o secretora, con hipertermia, dolor abdominal, tenesmo, deshidratación y luego aparecer leucocitos y sangre en materia fecal. En la mayoría de los casos es autolimitada. Sin embargo, existen complicaciones, que pueden requerir internación, como: megacolon tóxico, perforación intestinal, peritonitis, hiponatremia, hipoglucemia, artritis post-infecciosa, neumonía, vulvovaginitis en niñas pre-púberes, bacteriemias por coliformes. El tratamiento se basa en la rehidratación, pero algunos pacientes pueden requerir antimicrobianos que reducen el periodo de enfermedad y disminuyen los síntomas. En relación a la patogénesis, *Shigella* es un microorganismo intracelular invasivo que utiliza las células del intestino como su nicho para replicarse. La infección se produce en varios pasos que incluyen la penetración de la barrera epitelial, inducción de la muerte de macrófagos, invasión de las células epiteliales intestinales, supresión de la respuesta inmune y movimiento intra e inter-celular. Adicionalmente pueden producir toxinas que han sido implicadas en la diarrea acuosa.

FACTORES DE VIRULENCIA Y RESISTENCIA A METALES PESADOS EN CEPAS DE ENTEROCOCOS AMBIENTALES DE LA PROVINCIA DEL CHUBUT

Marisol Vallejo (1)

(1) Laboratorio de Biotecnología Bacteriana, Facultad de Ciencias Naturales y Cs. de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Sede Trelew, Argentina.

El género *Enterococcus* debido a su naturaleza ubicua y su alta resistencia a condiciones ambientales extremas se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y en ambientes asociados con la presencia humana. En la actualidad, existe una preocupación creciente sobre el rol de los enterococos en ambientes disturbados como potenciales reservorios de factores de virulencia y de resistencia a metales pesados (MP). En este trabajo se aislaron cepas de enterococos de diversas fuentes de las comarcas Valle Inferior del Río Chubut- Península Valdés y Río Senguer-Golfo San Jorge de la provincia del Chubut, Argentina con el objetivo de determinar la presencia de cepas resistentes a MP y su potencial vinculación con factores de virulencia. Se procesaron 1000 muestras de diversos orígenes (animales de cría y salvajes, agua, suelo, alimentos y muestras clínicas) y se recuperaron 730 cepas de *Enterococcus* utilizando medios selectivos y diferenciales. Todas las cepas aisladas se clasificaron mediante pruebas fenotípicas y se evaluó la actividad de gelatinasa, hemólisis, la resistencia a vancomicina y resistencia a plomo (Pb^{+2}) por el método de dilución en placa. Un total de 89 cepas presentaron actividad gelatinasa, 29 resultaron hemolíticas, 122 exhibieron resistencia a vancomicina (6 μ g/ml) y 223 resistencia a plomo a concentraciones ≥ 50 mg/L. La distribución de especies encontrada en este estudio es comparable con los resultados expuestos en trabajos previos, en los cuales *E. faecalis* y *E. faecium* fueron las especies predominantes en alimentos, agua y animales, mientras que *E. columbae* y *E. mundtii* se recuperaron de muestras de invertebrados marinos principalmente. En la región patagónica son escasos los estudios sobre la presencia e impacto de MP en el ambiente, la mayor parte de la información está relacionada con los niveles de metales en zonas costeras, especialmente sedimento y en organismos marinos, pero son nulos los estudios llevados a cabo en microorganismos y en hábitats diferentes al medio marino. Los resultados obtenidos demuestran la amplia distribución de este género en la naturaleza y en ambientes asociados con la presencia humana, y permitirían mediante la identificación y caracterización de cepas, determinar de forma indirecta el impacto sobre el ambiente y su potencial utilización como un bioindicador de disturbios antrópicos.

MESA REDONDA 17

Vacunas: nuevos desafíos, nuevos desarrollos

DISEÑO RACIONAL DE UNA VACUNA DE SUBUNIDAD PARA *Trypanosoma cruzi*: DESDE EL DESARROLLO DEL ADYUVANTE Y LA SELECCIÓN DEL ANTÍGENO HASTA LA EVALUACIÓN EXPERIMENTAL

Iván Bontempi (1)

(1) UNL-CONICET

Las tripanosomiasis son enfermedades causadas por parásitos del género *Trypanosoma*. Diferentes especies afectan tanto a humanos como animales, reduciendo la calidad de vida con importantes pérdidas económicas en países en desarrollo. El *Trypanosoma cruzi* es una especie que afecta principalmente a poblaciones humanas de América latina, produciendo la enfermedad de Chagas. Este mal presenta en su fase crónica un estadio irreversible en la que no existe una cura. El desarrollo de una vacuna profiláctica o terapéutica podría beneficiar a un sector muy vulnerable contra dicha enfermedad. En la actualidad no existen vacunas contra ningún tripanosoma, siendo una faltante importante en nuestro sistema de salud. Para el diseño de vacunas de subunidades, no solo es primordial la selección del antígeno, sino el correcto empleo del adyuvante. Estas sustancias no específicas, no solo realzan la respuesta inmune, sino que tienen la capacidad de modular el tipo de respuesta, hacia el perfil que se requiere para generar protección contra la infección en cuestión. Pensando en estas características para el diseño de una vacuna contra el *T. cruzi*, en nuestro grupo de trabajo hemos evaluado en un modelo murino, diferentes antígenos de dicho parásito. La enzima Transilidasa (TS) arrojó los mejores parámetros inmunes tanto en la respuesta humoral, como celular. Además la TS, presentó frente al desafío con *T. cruzi*, una marcada protección y escasa evolución de los signos propios del estadio crónico, como son la disminución de fibrosis y carga parasitaria en tejido cardíaco. Estos resultados fueron obtenidos, empleando un adyuvante de nueva generación basado en saponina. En los últimos años, hemos desarrollado un biosimilar denominado ISPA. Este adyuvante, no solo reproduce los resultados conseguido con el comercial, sino que hemos realizados importante avances en la modulación del sistema inmune regulatorio, aumentando la población T regulador, lo que conferiría un mayor control de la respuesta durante la infección de este parásito. En el diseño de una vacuna profiláctica, uno se enfrenta con diferentes desafíos. Las vacunas más complejas abren un abanico de posibilidad, pero su aprobación y evaluación de seguridad afronta grandes obstáculos. El desarrollo de una vacuna de subunidad, empleando una única proteína purificada y formulada con un adyuvante acuoso, es nuestra mayor herramienta para lograr su aprobación y comercialización en un plazo considerable.

ESTRATEGIAS VACUNALES CONTRA BRUCELAS RUGOSAS

Silvia Marcela Estein (1)

(1) Laboratorio de Inmunología. Departamento SAMP. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-CIC). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Bs. As., Argentina.

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico causada por las bacterias del género *Brucella*. Las especies naturalmente rugosas del género son *B. ovis* y *B. canis*. *B. ovis* provoca la epididimitis contagiosa del carnero que conlleva pérdidas económicas importantes en la producción ovina mundial. La brucelosis canina es considerada una zoonosis emergente que provoca pérdidas reproductivas en perros. En la situación epidemiológica actual, la inmunoprevención sería la herramienta de control más económica y eficaz. Sin embargo, hasta el presente no existen vacunas específicas contra ambas brucelas lo cual plantea un desafío interesante para distintos grupos de investigación. Sólo existe una vacuna comercial que confiere protección heteróloga contra *B. ovis*, aunque patógena para el humano, mientras que la inmunoprevención de la brucelosis canina es un área temática que no ha sido suficientemente explorada. El abordaje interdisciplinario de esta problemática ha facilitado la producción de inmunógenos recombinantes y la evaluación de alternativas vacunales que siguen dos líneas de desarrollo principales: vacunas atenuadas y vacunas subcelulares. Nuestro grupo ha estudiado la inmunogenicidad y la protección conferida por estrategias de inmunización que involucran el empleo de vacunas subcelulares contra *B. ovis* y *B. canis* en el modelo ratón. Los inmunógenos ensayados han sido proteínas citosólicas como la *Brucella* lumazina sintasa (BLS), de membrana externa (Omp25, Omp31) y la quimera BLSOmp31. La inmunización parenteral con ADN plasmídico, proteínas o quimeras y la inmunización mixta ha conferido niveles de protección similares o superiores contra *B. ovis* o *B. canis* respecto de las vacunas de referencia. La inmunización parenteral de ovinos con BLSOmp31+adyuvante oleoso resultó inmunogénica y protegió contra *B. ovis*, mientras que la inmunización con esta quimera+hidróxido de aluminio generó anticuerpos (Ac) con actividad opsonizante y bacteriolítica. En base a los resultados obtenidos desarrollamos nuevas formulaciones con BLSOmp31 para la administración conjuntival e intranasal en ovinos con el objetivo de inducir una respuesta inmunitaria protectora en las diferentes vías de entrada de estos patógenos. Las formulaciones empleadas indujeron la producción de Ac a nivel sistémico y en mucosas, la respuesta celular y confirieron protección parcial considerando el número total de órganos infectados y de colonias de *B. ovis* por órgano.

VARIABLES INMUNOPARASITOLÓGICAS EN LA NEOSPOROSIS BOVINA

Dadin Prando Moore (1)

(1) CONICET, Argentina

La neosporosis bovina está causada por un protozoo intracelular obligado del *phylum Apicomplexa* denominado *Neospora caninum*. La principal manifestación clínica es el aborto aunque pueden nacer terneros con ataxia e incoordinación. Las variables inmunológicas asociadas a protección involucran una respuesta *T helper 1* mediada por linfocitos T CD4⁺ y a la producción de interferón-gamma, interleuquina-12, factor de necrosis tumoral e inmunoglobulina G₂. Además, la disminución de la transmisión vertical en las sucesivas preñeces y el bajo nivel de repetición de abortos en animales infectados sugieren la existencia de mecanismos inmunitarios de protección. Hasta el momento se conoce que la inoculación antes de la gestación con taquizoítos vivos protege contra la infección y el aborto. La existencia de una vacuna viva atenuada en la toxoplasmosis ovina estimula la búsqueda de una vacuna de este tipo contra la neosporosis bovina. Por otra parte, una vacuna inactivada, aun con una baja eficacia, es útil en la prevención del aborto en aquellos establecimientos donde la enfermedad es epizootica. Nuestro grupo de trabajo pretende comprender las variables inmunoparasitológicas en la relación parásito-huésped no sólo para desarrollar inmunógenos experimentales sino también para diagnosticar la enfermedad en diferentes momentos de la enfermedad.

MESA REDONDA 18

Actualización en metodologías y aproximaciones al
estudio de patógenos virales

NANOANTICUERPOS VHHS COMO HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS: POTENCIALES APLICACIONES DIAGNÓSTICAS Y TERAPÉUTICAS

Elena Barbieri (1)

(1) CESIMAR, CENPAT, CONICET, Argentina.

Los camélidos poseen un tipo especial de anticuerpos circulantes en sangre denominados anticuerpos de cadena pesada (Hab). El sitio de unión al antígeno entonces se encuentra codificado en una única cadena polipeptídica hidrosoluble correspondiente al dominio variable, denominado VHH. Dicho dominio VHH puede clonarse y expresarse en forma soluble resultando así un nanoanticuerpo monoclonal recombinante de 2,2 nm de diámetro y 4 nm de largo (15kDa). Los VHH son las moléculas naturales más pequeñas con capacidad de reconocer y unirse con una gran afinidad a un antígeno específico (nanomolar). Presentan gran resistencia a la temperatura y pH extremos, plegamiento reversible en condiciones fisiológicas. Asimismo, poseen elevada hidrosolubilidad y por ello y su pequeño tamaño pueden penetrar tejidos 10 veces más rápido que un anticuerpo convencional y atravesar la barrera hematoencefálica. Dado sus características de tamaño los VHH se incluyen dentro de las disciplinas de la nanotecnología y son considerados nanoreactivos aplicables a nanodiagnóstico; purificación específica de proteínas; direccionamiento de drogas anti-tumorales y terapias génicas; nanosensores, entre otras. Desde el año 2007, en el laboratorio de InculNTA (CICVyA - INTA) se está trabajando en esta plataforma tecnológica para el desarrollo de nanoanticuerpos específicos contra antígenos virales, entre otros. En este marco, las líneas de investigación desarrolladas hasta el momento incluyen los siguientes antígenos virales: a) Proteína VP6 de Rotavirus: potencial uso como terapia oral para la protección contra la diarrea por rotavirus en lactantes y niños; b) Proteína E2 del virus de la diarrea viral bovina: desarrollo de ensayos de detección de Ag y Ac; c) Cepas de Norovirus humano GI, GII y GIV con potencial aplicación terapéutica y en el diagnóstico clínico y en alimentos; d) Influenza A H1N1 Pandémica y H3N2 estacional, e) Arteritis viral equina, f) Coronavirus bovino. Como producto de esta investigación se está desarrollando una plataforma de reactivos y kits comerciales cuyo primer producto Rotadial, Elisa de detección de Rotavirus A, hoy se encuentra en un ensayo multicéntrico en la red centinela de diarreas del INEI ANLIS Malbrán.

ESTUDIOS BÁSICOS DEL BACULOVIRUS ACMNPV Y SU IMPACTO EN EL DESARROLLO DE HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS

Victoria Alfonso (1)

(1) INTA, CONICET, Argentina.

Los baculovirus son patógenos de insectos que poseen un ciclo de replicación bifásico y muy complejo. Su relevancia radica en la amplia variedad de sus aplicaciones biotecnológicas. Constituyen uno de los más poderosos y versátiles sistemas eucariontes para la expresión de proteínas y son utilizados como pesticidas para el control biológico de plagas. Por otra parte, se propone su uso como vectores virales para terapia génica y como vectores de presentación de antígenos en su envoltura y cápside para utilizarse como vacunas. Además, recientemente se han descrito las propiedades inmunomoduladoras de los baculovirus en mamíferos. Un acabado conocimiento de los factores determinantes de la infectividad viral y de la morfogénesis de los dos fenotipos baculovirales resulta de importancia para el desarrollo de investigaciones que tienen por objetivo la optimización del sistema en cualquiera de sus aplicaciones. Así, nuestro grupo de trabajo se enfoca en el estudio de los aspectos básicos de la interacción del baculovirus AcMNPV con células de insecto, larvas de lepidóptero, células inmunes y no inmunes de mamífero y animales de experimentación. Asimismo, es objetivo del grupo aplicar estos conocimientos para el desarrollo de novedosas herramientas biotecnológicas basadas en baculovirus. En primer lugar, mediante la construcción de virus *knockout* para determinados genes virales (*ac109* y *ac12*), hemos estudiado su funcionalidad tanto en su hospedador natural como en mamíferos. Respecto del uso de AcMNPV como sistema de expresión de proteínas, desarrollamos estrategias para la formación de cuerpos de oclusión quiméricos. Así, se incorporaron distintos antígenos sin interferir con la normal morfogénesis de poliedros y se exploraron diversas alternativas para optimizar su expresión. Por otra parte, en cuanto al estudio de la capacidad de los dos fenotipos virales de despertar respuestas innatas en mamíferos, hemos determinado que el fenotipo brotado pero no el ocluido es capaz de madurar células dendríticas, disparar respuestas antivirales en células no inmunes y conferir protección inespecífica a ratones contra un desafío letal con el virus de la fiebre aftosa. Finalmente, determinamos fehacientemente además la influencia de la localización de antígenos heterólogos en el tipo de respuesta adaptativa inducida.

CONTROLES VIRALES UTILIZADOS EN VIROLOGÍA AMBIENTAL Y ALIMENTARIA

Viviana Mbayed (1)

(1) Universidad de Buenos Aires, CONICET, Argentina

Se ha reconocido que los virus son una causa importante de enfermedades transmitidas por alimentos y por aguas, ya sea de consumo o recreacionales. Existen más de 120 especies diferentes de virus que son excretados en heces y orinas humanas hacia aguas residuales que con distintos niveles de tratamiento son liberadas en aguas superficiales. Las aguas son entonces fuentes potenciales de infecciones virales, por contacto directo con el hombre o por contaminación de alimentos durante su producción. La detección de la contaminación viral en aguas y alimentos constituye una medida necesaria para el control de la diseminación de infecciones por estas vías. Esto involucra la concentración y/o elusión de los virus desde matrices sólidas o líquidas seguidas de técnicas moleculares para la detección y/o cuantificación de ácidos nucleicos virales. Resulta indispensable incluir controles virales internos que permitan evaluar la eficiencia de recuperación viral durante estos procesos, ya que la misma es muy variable. En estudios de evaluación de riesgo microbiológico, la cuantificación de los patógenos debe considerar las pérdidas ocurridas durante la concentración, que puede medirse mediante los controles internos. Estos controles deben estar naturalmente ausentes en las muestras a estudiar, ser diferenciables de los virus entéricos humanos a evaluar pero tener comportamientos semejantes a ellos. Se desarrolló un adenovirus recombinante (AdVr) como control viral no replicativo, que incorporó una construcción con regiones genómicas de virus humanos que pueden encontrarse en el ambiente [virus con genoma ARN – enterovirus, virus de hepatitis A, norovirus, virus de hepatitis E y rotavirus- y virus con genoma ADN – adenovirus y poliomavirus]. Las regiones incorporadas mantienen el tamaño, el porcentaje de GC y los sitios de hibridación de cebadores de los virus nativos, pero modificando la secuencia interna de complementariedad con sondas específicas para la cuantificación diferencial por qPCR. La recuperación de norovirus y enterovirus presentes en efluentes cloacales no fue significativamente diferente que la del AdVr, por lo que se lo incorporó de rutina a las muestras evaluadas. Se comparó su comportamiento con otro virus control, un bacteriófago ARN de *Pseudomonas aeruginosa*. El uso de estos virus como controles internos de los procesos permitió la evaluación de la metodología aplicada a la concentración y detección de virus en aguas y alimentos.

SESION DE COMUNICACIONES ORALES

COMUNICACIONES ORALES 1

Microorganismos promotores del crecimiento vegetal

ESTUDIO TAXONÓMICO Y FUNCIONAL DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE SIDERÓFOROS COMO POTENCIALES BIOCONTROLADORAS DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Rosario Anahí Lastra (1)*, Luis Nazareno Castagno (1), María Julia Estrella (1,2), Fernando Luis Pieckenstain (1)

(1) Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), Chascomús, Argentina. (2) CIC, Buenos Aires, Argentina.

Una de las principales actividades económicas de la región pampeana es la ganadería. Dicha producción se abastece principalmente de recursos forrajeros en pie, que suelen verse afectados por diferentes tipos de estrés, impactando negativamente en su productividad. Entre las diferentes afecciones bióticas que experimentan, las causadas por hongos fitopatógenos del género *Fusarium* spp., son de gran relevancia. En cuanto al estrés abiótico, uno de los de mayor importancia es la deficiencia nutricional de hierro (Fe). Por tal motivo, el empleo de microorganismos capaces de competir con organismos patógenos y proveer de nutrientes a los vegetales, es una opción prometedora, ya que contempla tanto la productividad como la sustentabilidad del ecosistema. Tal es el caso de las bacterias productoras de compuestos con alta afinidad por Fe, denominados sideróforos. Se ha reportado que dicha producción les confiere una ventaja competitiva a estos organismos, pudiendo afectar el desarrollo de organismos fitopatógenos. Por otro lado, muchas plantas tienen la capacidad de tomar este complejo de origen bacteriano y así incorporar Fe que, de no mediar dichas bacterias, no estaría disponible. Se analizó cualitativamente la producción de sideróforos encontrando que, de 211 aislamientos analizados, 23 presentaron gran producción, 37 intermedia, 75 poca y 76 indetectable. Se identificaron los aislamientos redundantes por medio del análisis de perfiles de huellas dactilares, descartando 7 de las consideradas mejores productoras de sideróforos. Se identificaron taxonómicamente los aislamientos por medio de PCR específica para el gen que codifica el ARN ribosomal 16S y los genes *housekeeping gyrB* y *rpoB*, posterior secuenciación y análisis filogenético. El análisis reveló que una gran proporción de los aislamientos se agrupan con el género *Pseudomonas*, principalmente con las especies *P. putida* y *P. fluorescens*. Por otro lado, se evaluó la actividad antagonista de los aislamientos bacterianos seleccionados frente a hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, encontrando que estos inhibieron su desarrollo. De lo observado se desprende el potencial de estos microorganismos para el desarrollo de bioformulados para incrementar la producción de los sistemas agrícola-ganaderos mediante la mejora, no sólo del crecimiento y la calidad nutricional, sino también de la sanidad de los mismos a través del biocontrol de microorganismos fitopatógenos.

UTILIZACIÓN DE *Bacillus amyloliquefaciens* MEP₂18 PRODUCTOR DE LIPOPÉPTIDOS CÍCLICOS COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE PATÓGENOS FÚNGICOS EN FRUTOS POSTCOSECHA Y SU POTENCIAL MODO DE ACCIÓN

Daniela Beatriz Medeot (1)*, María Laura Flores-Cáceres (1), Juan Pablo Liaudat (1), Edgardo Jofré (1)

(1) Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina

Las enfermedades fúngicas son comunes en la producción frutihortícola provocando pérdidas durante la manipulación, transporte y almacenamiento. En la actualidad se utilizan fungicidas sintéticos aunque el avance del cambio climático hace inminente la aplicación de alternativas ecológicas, como los métodos de control biológico. En nuestro laboratorio hemos clasificado y caracterizado cepas del grupo *Bacillus subtilis* aisladas de suelos de Córdoba productoras de lipopéptidos cíclicos (LPCs) con actividad antifúngica y antibacteriana. El objetivo es evaluar el potencial efecto protector del antagonista bacteriano *Bacillus amyloliquefaciens* MEP₂18 frente a infecciones en frutos poscosecha causadas por *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*. La actividad antifúngica *in vitro* de MEP₂18 o los LPCs purificados se realizó mediante ensayos de inhibición en placa, utilizando como control *B. subtilis* JH642 no productora de LPCs. Los LPCs fueron identificados mediante HPLC-MALDI-TOF. Luego se realizaron ensayos en frutos obtenidos en el mercado local previamente lavados y desinfectados. El diseño experimental incluyó: frutos sin inocular y sin infectar; frutos sin infectar y rociados con MEP₂18 y frutos rociados con A) diluciones de cultivos de MEP₂18, B) sobrenadantes de cultivos de MEP₂18, C) LPCs purificados a partir de sobrenadantes de cultivos de MEP₂18. Los tratamientos A, B y C fueron posteriormente infectados con 1×10^5 esporas/ml de hongos fitopatógenos e incubados por 7 días a temperatura ambiente. Luego se determinó la incidencia (% heridas infectadas) y severidad (diámetro de la lesión) de la infección. *P. digitatum*, *P. expansum* y *B. cinerea* fueron inhibidos *in vitro* tanto en presencia de MEP₂18 como de los LPCs purificados, los cuales se identificaron como variantes de iturinas, fengicinas y surfactinas. Los ensayos *in vivo* corroboraron estos resultados ya que todos los tratamientos preventivos aplicados disminuyeron la severidad de la enfermedad, retardando la aparición de los síntomas. En ensayos con naranjas y *P. digitatum*, se registró una reducción del diámetro de la lesión del 100% al 44% con el tratamiento con LPCs. Además se observó una correlación positiva entre el aumento de dosis de LPCs y la disminución de la severidad de la enfermedad. Estos resultados sugieren que la aplicación de MEP₂18 podría ser una alternativa ecológica y eficiente para el control biológico de hongos fitopatógenos en frutos poscosecha.

GRUPOS MICROBIANOS EDÁFICOS ASOCIADOS A DIFERENTES SISTEMAS PRODUCTIVOS DE LA REGIÓN CHAQUEÑA ARGENTINA

M. Flavia Salvatierra(1)*, Facundo Marcos Valle(1), Matías Mastrangelo(1), Claudia Castellari(1), Sebastián Villarino(1)

(1) Unidad Integrada Balcarce (FCA, UNMdP – EEA Balcarce, INTA), Ruta 226 km 73,5 Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Los microorganismos del suelo sustentan funciones ecológicas claves para la provisión de servicios ecosistémicos como el mantenimiento de la estructura, fertilidad y detoxificación del suelo, etc. El Chaco semiárido argentino se encuentra experimentado una fuerte intensificación agropecuaria, mediante el reemplazo de bosques por pasturas y cultivos anuales, lo que podría alterar las comunidades microbianas. En el presente trabajo se evaluó la abundancia de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT), actinobacterias y hongos, además del pH y la humedad, a lo largo de un gradiente de intensificación del uso del suelo, con el objetivo de identificar posibles alteraciones en los grupos microbianos y/o variables fisicoquímicas. Para ello, se seleccionaron parcelas con diferente uso: monte nativo, pastura implantada y cultivo, se consideraron dos profundidades de muestreo (0-5 y 5-20 cm) y ocho repeticiones en la localidad de Sachayoj, noreste de Santiago del Estero, Argentina. La evaluación de las poblaciones microbianas se realizó por la técnica de dilución seriada al décimo en tubo y siembra en placa de Petri con medios de cultivos específicos para cada grupo microbiano. La humedad se determinó por gravimetría y el pH por potenciometría. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza de los datos (ANOVA) y comparaciones de medias (Tukey, 5%). Los resultados no evidenciaron un efecto del uso del suelo sobre los recuentos de BAMT, actinobacterias y hongos que registraron recuentos promedio de 7,49 ($\pm 0,91$), 6,29 ($\pm 0,23$) y 5,08 ($\pm 0,39$) \log_{10} UFC/g, respectivamente. La humedad ($p=0,17$) y el pH ($p=0,59$) de los suelos no fueron afectados por el uso ni la profundidad del perfil registrando valores promedio de 14,59% ($\pm 4,90$) y 5,91 ($\pm 0,31$), respectivamente. El recuento de hongos resultó significativamente superior en el estrato 0-5 que en el 5-20 cm con valores de 5,29 y 4,86 \log_{10} UFC/g, respectivamente, lo que podría estar explicado por una mayor disponibilidad de oxígeno en la superficie considerando que dichos microorganismos son aerobios estrictos. En conclusión, no se evidenciaron cambios en los recuentos de los grupos microbianos realizados en función del uso del suelo. Estos resultados contribuyen a monitorear procesos de cambio de uso del suelo y sería conveniente complementarlos con nuevos relevamientos sumando otros grupos microbianos, con identificación de especies y/o en diferentes épocas del año.

LAS AUXINAS PRODUCIDAS POR *Azospirillum brasilense* SERÍAN NECESARIAS PERO NO SUFICIENTES PARA LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO DE MICROALGAS OLEAGINOSAS

Luciana Pagnussat (1)*, Guillermo Maroniche (1), Leonardo Curatti (2), Cecilia Creus (1)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina. (2) INBIOTEC, Mar del Plata, Argentina.

La utilización de microalgas para la producción de biodiesel, constituye una alternativa sustentable a la crisis energética mundial, 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 con baja intensidad nutricional pero que permitan la obtención de niveles de biomasa más elevados en condiciones de sustentabilidad económica y ambiental. Las auxinas son fitohormonas fundamentales que controlan una amplia variedad de procesos durante el crecimiento y desarrollo de las plantas. Hasta el momento se ha detectado la presencia de auxinas en varias especies de microalgas pero aún se desconoce cuál sería su rol fisiológico. 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*). En el presente trabajo, se determinó que la coinoculación de la microalga *Senedesmus obliquus* con *A. brasilense* en condiciones de deficiencia de nitrógeno, alcanzan contenidos de algas más elevados que en ausencia de *A. brasilense* o con la cepa Faj009 (mutante en *ipdC*) a los 20 días de cocultivo. Por otra parte, cuando el cocultivo fue realizado con la cepa Faj009 conteniendo un plásmido que restituye su capacidad para producir auxinas (cepa Faj009pipdC), o con la cepa Faj009 y complementación con auxinas exógenas, el crecimiento de las algas fue similar al observado en presencia de la cepa salvaje. Al utilizar una cepa de *A. brasilense* con el gen reportero GFP bajo el promotor del gen *ipdC* pudo comprobarse que el gen se expresa activamente luego de 20 días de cocultivo con el alga. Sorprendentemente, cuando las microalgas fueron tratadas con diferentes concentraciones de auxinas exógenas, en ausencia de *A. brasilense*, no se observó en ningún caso promoción significativa del crecimiento. Esto indicaría que el incremento en el crecimiento de microalgas observado en presencia de la bacteria *A. brasilense*, sería dependiente de su capacidad para producir auxinas, pero dichas hormonas no serían *per se* la señal promotora. Avanzar en el conocimiento de los mecanismos subyacentes a dicha respuesta tendrá importantes implicancias en el cultivo extensivo de microalgas.

COMUNICACIONES ORALES 2

Ecología y fisiología microbiana

DIFERENCIAS EN LA DIVERSIDAD DE COMUNIDADES BACTERIANAS DE HUERTAS PERIURBANAS SOMETIDAS A DESCARGA DE CONTAMINANTES

José Ibarra (1)*, Facundo Almasqué (1), Nancy López (1), Diana Vullo (2), Laura Raiger Iustman (1)

(1) IQUIBICEN-CONICET. Departamento de química Biológica, FCEyN, UBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. (2) Área Química, Instituto de Ciencias, Universidad Nacional de General Sarmiento-CONICET, Los Polvorines, Buenos Aires, Argentina.

Gran parte de la actividad agrícola en nuestro país se desarrolla en los alrededores de las grandes ciudades. Muchos de estos lugares presentan problemas ambientales derivados de la producción misma, así como de otras actividades contaminantes que pueden afectar estas zonas. En la localidad de Cuartel V (Moreno, Provincia de Buenos Aires), existe una zona destinada al cultivo hortícola ubicada en las cercanías de una planta de tratamiento de residuos industriales (PT), cuyos derrames pueden alterar el estado trófico del suelo. Estudios previos mostraron que los suelos de una de las huertas aledañas a la PT sufrieron el efecto de un derrame ocurrido en 2014. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la PT sobre la diversidad de las comunidades microbianas del suelo. Los sitios muestreados durante invierno de 2017 fueron P1 y P4 (área de incubencia de la PT), Y1, Y4, Y6 (transecta sobre el suelo de la huerta afectada). Las muestras se tomaron por triplicado, se homogenizaron, se extrajo el DNA total utilizando *PowerSoil DNA extraction kit* (MoBio) y se secuenció la región V1-V3 del gen 16S rRNA por Illumina MiSeq utilizando los primers 27F y 519R. Las secuencias se analizaron con la plataforma QIIME y se determinó alfa y beta diversidad y la composición de las comunidades bacterianas, utilizando los cocientes Proteobacteria/Acidobacteria (P/A) y Alfaproteobacteria/Proteobacterias totales (A/P) como indicadores del grado de oligotrofia. La riqueza (índice Chao-1) de las muestras Y6 (zona más afectada por el desborde) fueron menores a la muestra Y1 (zona menos afectada, $p=0,0042$). El índice de diversidad (Shannon) mostró diferencias entre Y6 e Y4 ($p=0,0001$). Las muestras P1, P4 e Y6 no fueron significativamente diferentes ($p>0,1$) para ninguno de los índices mencionados. Los análisis de beta diversidad mostraron mayor similitud entre las comunidades correspondientes a P4 e Y6. Finalmente, el índice A/P fue menor en los suelos Y6 y P1, indicando un ambiente menos oligotrófico y el índice P/A de todos los suelos hortícolas fue similar ($p>0,1$) siendo el P/A de Y6 menor al obtenido en muestreos de años anteriores. Nuestros resultados permitieron observar la influencia de la planta de tratamiento sobre las comunidades bacterianas de las muestras cercanas a la misma, así como el efecto de la atenuación natural ocurrida en Y6 a 3 años del volcado, indicando que estos índices pueden ser de utilidad para analizar la evolución de suelos contaminados.

LOS NÓDULOS SON NICHOS ADECUADOS PARA LA TRANSFERENCIA DE PLÁSMIDOS DE RIZOBIOS

Luis A. Bañuelos Vazquez (1,3)*, Gonzalo Torres-Tejerizo (3), Laura Cervantes-de La Luz (1), Lourdes Girard (2), David Romero (1), Susana Brom (1)

(1) Programa de Ingeniería Genómica, (2) Programa de Dinámica Genómica, Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México. (3) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CCT-La Plata-CONICET, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina.

Rhizobium etli CFN42 tiene una gran importancia agrícola debido a su capacidad de establecer una simbiosis con *Phaseolus vulgaris* formando nódulos fijadores de nitrógeno. El genoma de *R. etli* CFN42 está constituido por un cromosoma y seis plásmidos de gran tamaño. Entre estos, está el pRet42a, un plásmido conjugativo. La expresión de los genes de transferencia está regulada por un sistema de tipo *quorum sensing* que incluye un gen *trai* el cual codifica para una homoserín lactona y dos reguladores transcripcionales (TraR y CinR), que inducen la transcripción de dichos genes en respuesta a *trai*. El objetivo de este trabajo es determinar la capacidad de transferencia conjugativa del pRet42a en los nódulos, que se han considerado estructuras exclusivas para la fijación de nitrógeno. Para hacer estos experimentos, utilizamos la estrategia de doble marcaje fluorescente. El cromosoma de la cepa donadora se marcó con la proteína roja fluorescente (RFP) y con la proteína verde fluorescente (GFP) en el pRet42a. Al transferirse el plásmido a la receptora, las transconjugantes solo expresarán la GFP, permitiendo su detección diferencial. En los experimentos pudimos visualizar transconjugantes en los nódulos y en la rizosfera. Utilizamos 3 estrategias para determinar si la conjugación ocurría solamente en la rizosfera o también en el interior de los nódulos: 1) determinamos el nivel transcripcional de genes conjugativos, fusionándolos con un gen reportero (*ptrA::GFP*, *ptral::GFP*), 2) inhibimos la conjugación en la rizosfera, utilizando TraM, un antiactivador de los receptores *traR* y *cinR* y 3) el gen *trai* se puso bajo el promotor *nifH*, de tal manera que solo se encienda dentro del mismo. Los resultados indicaron que la maquinaria de conjugación está activa dentro del nódulo, que se encuentran transconjugantes en nódulo tanto al inhibir la conjugación en la rizosfera con *traM*, como al poner la regulación de *Trai* bajo el promotor de *nifH*. Estos resultados sugieren fuertemente que la conjugación puede ocurrir dentro del nódulo, además de en la rizosfera.

EFFECTO DE LA PRESENCIA DE LITIO SOBRE LA MORFOLOGÍA CELULAR Y SÍNTESIS DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS EN LA CEPA HALOTOLERANTE *Micrococcus* sp SA211

Fabiana Martínez (1), Mónica Aparicio (1), Verónica Rajal (1,2), Verónica Irazusta (1,3)*

(1) INIQUI-CONICET-UNSa, Salta, Argentina. (2) Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta (UNSa), Salta, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina.

Los ambientes con condiciones extremas albergan organismos naturalmente adaptados, capaces de sintetizar compuestos que posibiliten su supervivencia y proliferación. La síntesis diferencial de proteínas puede desencadenar varios procesos en la célula, desde protección osmótica hasta modificaciones morfológicas. Uno de los salares más importantes en el norte argentino es el del Hombre Muerto, conocido por la elevada concentración de litio en su salmuera. En ensayos previos, y a partir de muestras obtenidas de dicho salar, se aislaron bacterias que fueron caracterizadas de acuerdo a su tolerancia frente a sales de litio. En este trabajo, los objetivos fueron determinar si la presencia de litio producía modificaciones morfológicas en la bacteria aislada del Salar del Hombre Muerto, parcialmente identificada como *Micrococcus* sp SA211, y estudiar la síntesis diferencial de sus proteínas en condiciones de ausencia y presencia de cloruro de litio y de cloruro de sodio. Para estudiar variaciones en la morfología celular, la bacteria fue cultivada en medio líquido definido en presencia (MLi) y ausencia (M) de 0,72 M de cloruro de litio. Luego de 7 días de incubación, las células fueron cosechadas y fijadas en formaldehído. Posteriormente, fueron sometidas a un proceso de deshidratación y acondicionamiento para ser observadas en el Laboratorio de Microscopio Electrónico de Barrido (LASEM). Para el estudio de síntesis diferencial de proteínas, la cepa fue cultivada en M y MLi hasta fase exponencial de crecimiento. Además, fueron sometidas al mismo tratamiento en presencia de cloruro de sodio (MNa). Las células obtenidas fueron cosechadas y la extracción de proteínas se realizó de manera mecánica. Las proteínas obtenidas fueron separadas mediante electroforesis monodimensional desnaturizante en geles de poliacrilamida teñidas con Coomassie Blue y los geles fueron analizados utilizando el programa GelAnalyzer 2010. Los resultados obtenidos permitieron determinar que la cepa SA211 no presenta variaciones morfológicas en presencia de litio. El análisis proteico permitió detectar la síntesis diferencial de algunas proteínas en presencia de litio, en comparación al perfil obtenido en ausencia de sales y en presencia de cloruro de sodio. Esto nos indica que el litio induciría una respuesta específica en la bacteria. Actualmente estamos llevando a cabo estudios de separación bidimensional de proteínas para detectar las sintetizadas diferencialmente y determinar su identidad.

EL TRANSPORTADOR AITP DE *Sinorhizobium meliloti* MEDIA LA HOMEOSTASIS DE HIERRO EN CONDICIONES DE VIDA LIBRE Y EN SIMBIOSIS CON *Medicago truncatula*

Paula Mihelj (1), Jesús Montiel González (2), Manuel González-Guerrero (2), Daniel Raimunda (1)*

(1) Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra-CONICET-UNC, Córdoba, Argentina. (2) Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA), Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.

El hierro es un micronutriente esencial para la vida a bajas concentraciones y letal a concentraciones ligeramente mayores. Su control es especialmente importante en rizobios, un grupo de bacterias que, al colonizar los nódulos radicales de las leguminosas, son capaces de fijar nitrógeno, proceso mediado por múltiples ferro-proteínas. Este requerimiento es debido a la variable exposición al hierro que sufren cuando crecen en el suelo en vida libre y a la necesidad del tolerar el masivo aporte de hierro desde la planta cuando están en simbiosis. Estudios previos han propuesto la participación de P_{IB-5} -ATPasas (Nia) y transportadores homólogos a MbfA en el control del hierro en rizobios. En este trabajo analizamos la participación del transportador AitP en *S. meliloti* Rm1021. Estudios de transporte en vesículas invertidas de *Escherichia coli* sobreexpresando la proteína AitP, muestra que es un transportador de baja afinidad por el Fe^{2+} . Además el transporte es específico para Fe^{2+} y sólo el Co^{2+} compite por el sitio de transporte. *In vivo*, si bien los ensayos de tolerancia a metales indican que la mutante simple de AitP muestra sensibilidad a Co^{2+} pero no a Fe^{2+} , la doble mutante Aitp-MbfA es sensible a Fe^{2+} y acumula el metal intracelularmente. Esta acumulación de hierro parece causar una menor tolerancia a H_2O_2 . En el nódulo, la mutación de AitP causa un descenso en los niveles de expresión del transportador de *Medicago truncatula* *MtNramp1*, transportador responsable de introducir hierro en las células infectadas con rizobios. Consecuente con este descenso, los niveles de actividad nitrogenasa en plantas inoculadas con este mutante son más sensibles a una caída en las concentraciones de hierro en el suelo. Los datos sugieren la existencia de un mecanismo de regulación cruzado sobre el ingreso de Fe^{2+} al nódulo y que AitP participa en la homeostasis de Fe^{2+} en *S. meliloti*.

COMUNICACIONES ORALES 3

Microbiología de suelos agrícolas y forestales

LA APLICACIÓN REITERADA DE GLIFOSATO AFECTA TANTO LA ABUNDANCIA COMO LA ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE *Pseudomonas* CULTIVABLES EN SUELOS DE PASTIZALES DE LA PAMPA DEPRIMIDA BONAERENSE

Melani Lorch (1,3)*, Pablo García Paris (2,3), Marina Omacini (2,3), Claudio Valverde (1,3), Betina Agaras (1,3)

(1) Lab. de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas del Suelo (UNQ), Buenos Aires, Argentina.
(2) IFEVA (FAUBA), Buenos Aires, Argentina. (3) CONICET, Argentina.

Las bacterias del género *Pseudomonas* habitan los suelos y muchas especies contribuyen a la salud vegetal. El glifosato no sólo se aplica en cultivos transgénicos resistentes, sino también en pastizales naturales para mejorar la calidad forrajera. Nuestro objetivo es conocer el efecto a corto y mediano plazo (CP y MP) de la aplicación anual de glifosato, sobre la comunidad cultivable de *Pseudomonas* spp. de un pastizal natural. Los ensayos se instalaron en un pastizal de un establecimiento ganadero de la pampa deprimida (Ignacio Correas, La Plata, Bs. As.). Para el ensayo MP, se trataron parcelas (n=10) durante 4 años con diferentes dosis de glifosato al final del verano: control (0 l/ha), dosis subletal (0,8 l/ha) y dosis recomendada (3 l/ha). En el CP, se efectuó una única aplicación (0 o 3 l/ha, n=5). Las muestras de suelo libre (0-10 cm) se tomaron en otoño y verano de 2015. Para cuantificar las *Pseudomonas* cultivables, se realizaron recuentos en medio selectivo S1 de suspensiones de suelo en solución salina. Luego de incubar por 48 hs a 28 °C, se registraron las UFC/g de *Pseudomonas* totales (PT) y UFC/g fluorescentes bajo luz UV (PF). La abundancia de bacterias mesófilas heterótrofas totales (HT) se cuantificó en medio TSA 10%. El efecto sobre la estructura de la comunidad se analizó mediante PCR-RFLP del gen *oprF*. Los amplicones se trataron con *HaeIII* y *TaqI*, y se analizaron los perfiles de bandas. El enriquecimiento de los suelos MP con *Pseudomonas* capaces de utilizar el glifosato como fuente única de Carbono, Nitrógeno y Fósforo (FCNP), se evaluó en medio mínimo líquido semiselectivo con y sin glifosato como FCNP. Luego de incubar 48 hs a 28 °C y 200 rpm, se determinó la presencia/ausencia de *Pseudomonas* por repique en medio selectivo S1, y luego se expresó el NMP en UFC/g. En el ensayo MP, la población PT se redujo un 6,8% (0,8 l/ha) y un 14,9% (3 l/ha) en otoño ($p < 0,05$), y un 9,8 % y 22,5% en verano ($p < 0,05$). La dosis 3 l/ha redujo también HT y PF. En el ensayo CP, se vio la misma tendencia, sin diferencias significativas. Los perfiles PCR-RFLP del ensayo MP se agruparon según la dosis en otoño, aunque este efecto se diluyó en verano. Respecto del uso del glifosato como FCNP, de nuevo notamos una disminución de la abundancia de *Pseudomonas* en la dosis 3 l/ha (17% otoño y 30% verano) respecto a la 0 l/ha ($p < 0,05$). En verano se obtuvo un aumento del 28% en el NMP de la dosis 3 l/ha con glifosato respecto del control sin FCNP. En otoño se observó la misma tendencia. Por lo tanto, la aplicación reiterada de glifosato durante 4 años se asoció a una reducción en la abundancia de *Pseudomonas* spp. y modificación de la estructura de su comunidad de manera dosis-dependiente luego de la aplicación. Además, también parecería provocar una selección de individuos capaces de metabolizar este herbicida.

EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE CAÑA VERDE SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DEL SUELO Y SUS PRINCIPALES ACTIVIDADES METABÓLICAS

Lucrecia Ludueña (1)*, Maria L. Tortora (1), Micaela Alderete (1), Maria de los Ángeles Nuñez (1), Atina Criado (1), Juan Fernandez de Ullivarri (1), Eduardo R. Romero (1), Patricia A. Digonzelli (1)

(1) Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). W. Cross 3150. Las Talitas-Tucumán.

La creciente necesidad de implementar sistemas agrícolas sustentables al manejo de las plantaciones de caña de azúcar, ha llevado a la reducción de la quema de los cañaverales como práctica asociada a su cosecha. La cosecha de la caña de azúcar sin quema se conoce como cosecha de caña verde. Durante esta práctica, se depositan sobre la superficie del suelo grandes cantidades de residuo agrícola de cosecha (RAC) que pueden dejarse como cobertura, mezclarse con los primeros centímetros del perfil o quemarse. En este trabajo, se evaluó el efecto de diferentes sistemas de manejo del RAC sobre las poblaciones microbianas del suelo, y sobre sus actividades metabólicas, antes (Julio) y después (Septiembre) de la cosecha. El ensayo se realizó en Simoca, con la variedad LCP 85-384. Se tomaron muestras de suelo (0-10 cm) de parcelas: a) sin RAC (quemado pos-cosecha) (RQ); b) con RAC como cobertura (RC) y c) con RAC incorporado (RI), y se utilizaron medios de cultivos selectivos para el recuento de mesófilos totales (LB), hongos y levaduras (APG), *Pseudomonas* (AC) y fijadores de nitrógeno (NFb). Además, se hizo una evaluación semicuantitativa de la colonización de raíces por micorrizas. Por otro lado, se analizó la actividad enzimática total con diacetato de fluoresceína (FDA) y actividad nitrato reductasa (NR). El ensayo fue aleatorizado con 3 repeticiones y los datos se analizaron estadísticamente con el test LSD Fisher $p \leq 0,05$. El RAC como cobertura mejoró significativamente el desarrollo de los mesófilos totales con respecto a RI y RQ. Luego de la quema del RAC (RQ), se observó una disminución tanto de los mesófilos totales, como de los fijadores de nitrógeno, que fueron los más afectados por esta práctica. La población de hongos, levaduras y *Pseudomonas* aumentaron después de la cosecha, independientemente de los tratamientos evaluados. El porcentaje de colonización por micorrizas fue de 51,3% para RC, 45,3% en RI y 41,3% para RQ. Por otro lado, antes de la cosecha las parcelas RC y RI presentaron mayor actividad FDA y NR en comparación con RQ. Además, se observó que tanto la cosecha como la quema del cañaveral afectan significativamente las actividades FDA y NR, especialmente en las parcelas RQ, en las que no se detectó actividad NR. La conservación e incorporación del RAC contribuye a mejorar la funcionalidad del suelo, mientras que su quema afecta tanto a las actividades enzimáticas como a las poblaciones de microorganismos benéficos.

ANÁLISIS DEL POTENCIAL GÉNICO PARA LA DEGRADACIÓN DE GLIFOSATO EN BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DE *Avena sativa* L.

Marianela E. Morales (1)*, Marco Allegrini (2), Helena Arndt (3), Jessica Basualdo (1,3), Elena Gomez (2,4), María Celina Zabaloy (1,3)

(1) CERZOS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) IICAR-CONICET, Zavalla, Argentina. (3) Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (4) Fac. Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, Argentina.

El glifosato es un herbicida del grupo de los organofosfonatos, usado en el control de malezas en cultivos transgénicos, barbechos químicos y para la desecación de cultivos de cobertura. Los efectos del herbicida sobre comunidades microbianas rizosféricas han sido comparativamente menos estudiados que los efectos en suelo no rizosférico. Los mismos pueden ser indirectos, mediados por la modificación de los exudados radicales o directos por la exudación del glifosato a través del sistema radical. Esto último podría conducir al enriquecimiento de bacterias con capacidad de metabolizar fosfonatos. El objetivo de este trabajo fue diseñar cebadores específicos para detectar y cuantificar el potencial génico para la degradación de glifosato en bacterias. Los cebadores phnJF1 y phnJR2 se diseñaron en base a 42 secuencias disponibles en base de datos, incluyendo secuencias pertenecientes a los filo Proteobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Firmicutes y Cyanobacteria, del gen codificante para C-P liasa (*phnJ*), una enzima clave en la degradación del glifosato. En función de la hipótesis se diseñó un ensayo con plantas de *Avena sativa* L. (cultivo de cobertura) como modelo experimental, en macetas con suelo con historia de uso de glifosato. Luego de 67 días de crecimiento las plantas fueron sometidas a: 1) corte (con tijeras, control); 2) secado con glifosato (Roundup, 6,8 µl/maceta= 4 l ha⁻¹). Se tomaron muestras de suelo rizosférico 4 y 26 días luego del tratamiento, se extrajo el ADN con un kit comercial y se utilizó como molde para PCR cuantitativa (qPCR) con los cebadores phnJF1/ phnJR2. El ADN amplificado fue examinado en gel de agarosa, purificado y ligado a un vector de clonación para transformar células competentes de *Escherichia coli*. Se seleccionaron de 16 clones para ser secuenciados por Macrogen (Corea). Los datos de abundancia de copias de *phnJ* fueron analizados mediante un ANOVA doble. El número de copias del gen en el suelo control fue $6,85 \times 10^8$ copias/µg de ADN y en el tratamiento con glifosato $8,29 \times 10^8$ copias/µg de ADN. Si bien no se detectaron diferencias significativas, los resultados sugieren un enriquecimiento en bacterias degradadoras de glifosato por medio de la vía C-P liasa posiblemente relacionado con la exudación de este compuesto. Las secuencias obtenidas fueron alineadas con secuencias depositadas en Genbank, confirmando la especificidad de los cebadores para la detección y cuantificación de un fragmento de ~200 pb del gen *phnJ*.

EVALUACIÓN *in vitro* DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA MEDIANTE MICOPARASITISMO DE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. CONTRA *Valsa ceratosperma* (AGENTE CAUSAL DE LA CANCROSIS PAPIRÁCEA DEL MANZANO)

Lucio Valetti* (1), Leandro Ortega (1), Silvina Pastor (1)

(1) IPAVE-CIAP-INTA Córdoba, Argentina.

Trichoderma spp. es el antagonista más utilizado para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos. Los mecanismos descritos por los cuales desplaza al fitopatógeno son: a) competencia directa por el espacio o los nutrientes; b) producción de metabolitos antibióticos; c) micoparasitismo; d) inducción de resistencia sistémica. El micoparasitismo que presenta *Trichoderma* spp. es un proceso complejo que incluye una serie de eventos sucesivos. Inicialmente toma contacto físico con el fitopatógeno y sus hifas se enrollan alrededor de éste o se le adhieren por medio de estructuras especializadas. Luego la producción de enzimas líticas, responsables de la degradación parcial de la pared celular de su huésped, actúa sinérgicamente aumentando su acción antagonista. *Trichoderma* ha sido ampliamente estudiado por su potencial biocontrolador de enfermedades en diferentes cultivos. Sin embargo, el efecto antagonista sobre *Valsa ceratosperma*, causante de la cancrrosis papirácea del manzano, ha sido escasamente estudiado. Teniendo en cuenta dicho potencial se planteó como objetivo evaluar su capacidad antagónica mediante micoparasitismo frente a *V. ceratosperma* en ensayos *in vitro*. Para ello se evaluaron 8 aislamientos obtenidos de suelo de chacras productoras de manzano sintomáticos del valle de Río Negro. Los aislamientos de *Trichoderma* spp. y el patógeno fueron sembrados en lados opuestos de una membrana de agar papa glucosado solidificado sobre un portaobjetos y se incubó en cámara húmeda a 21°C hasta la superposición de las colonias. La zona de interacción fue observada por microscopía de contraste de interferencia diferencial (DIC) y microscopía confocal de escaneo laser (Nikon Eclipse Cs1); utilizando un láser Argon a una potencia del 30% en la línea de 488nm. La emisión se observó a través de filtros BA515/30 y 605/75. Sólo 5 aislamientos evidenciaron micoparasitismo: *Trichoderma* sp. RN-15, RN-13, RN-18, RN-19 y RN-34; observándose el enrollamiento de las hifas de *Trichoderma* sobre el patógeno y la presencia de un compuesto autofluorescente en la zona de contacto. Además se observó la degradación de la pared celular de *V. ceratosperma* cuando se enfrentó al aislamiento RN-18. A partir de estos resultados se concluye que *Trichoderma* posee potencial como agente biocontrolador de *V. ceratosperma*, por lo que resulta necesario continuar con estudios *in vitro* de la interacción entre ambos hongos.

COMUNICACIONES ORALES 4

Tratamiento y valorización de residuos

EMPLEO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS COMO PLATAFORMAS PARA LA VALORIZACIÓN DE EFLUENTES LÍQUIDOS Y SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES

María Benzzo (1)*, Emliano Cian (1), Priscila Ariel (1), Lisandro Seluy (1,2), Raúl Comelli (1,2)

(1) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental. Depto. de Medio Ambiente. Fac. de Ingeniería y Ciencias Hídricas, Univ. Nacional del Litoral (FICH-UNL), Santa Fe, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

El ácido láctico (AL) es el α -hidroxiácido de mayor demanda destacándose su empleo en la industria alimenticia, cosmética, química y de plásticos. Alrededor del 90% del AL disponible en el mercado se produce mediante fermentación por bacterias ácido lácticas (BAL) y un 40% del costo global del proceso deriva del costo de la materia prima (glucosa y sacarosa, principalmente), por lo que resulta de gran interés la identificación de fuentes alternativas y económicas. En este sentido, hemos identificado efluentes líquidos de la industria de bebidas azucaradas y subproductos agroindustriales (purgas de tanques de la industria cervecera, glicerol de la industria del biodiesel y burlanda húmeda de la producción de etanol 2G) como materias primas renovables y de bajo costo para la producción de AL. El objetivo de nuestro trabajo fue seleccionar cepas de BAL con las propiedades adecuadas para ser empleadas como plataformas productivas e investigar el impacto de diferentes variables (aireación, agitación, temperatura, concentración del inóculo, fuente de nitrógeno y co-metabolismo) sobre el desempeño de las bacterias y la producción de AL. Se evaluaron cepas de *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Weisella* spp., *Pediococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. mediante ensayos de fermentación en reactores de 100 ml operados en forma discontinua con control de pH y temperatura. Se efectuó el seguimiento en el tiempo de las concentraciones de biomasa, azúcares (totales, reductores y glucosa), glicerol, etanol y ácidos orgánicos (AL, acético y fórmico). Se demostró la factibilidad técnica de producir AL a partir de diferentes combinaciones con las materias primas evaluadas. Luego de 72 horas de ensayo, se obtuvieron rendimientos de $0.75 \pm 0.05 \text{ g}_{\text{láctico}}/\text{g}_{\text{azúcar}}$ sobre los efluentes de industrias de bebidas azucaradas (contienen glucosa, fructosa y sacarosa) y de $0.50 \pm 0.05 \text{ g}_{\text{láctico}}/\text{g}_{\text{azúcar}}$ sobre la burlanda húmeda (alto contenido de pentosas, medio remanente luego de la destilación de un proceso de fermentación alcohólica a partir de maíz y cascarilla de soja), con un consumo de azúcares promedio del 95% y el empleo de las purgas de los tanques de la industria cervecera (conteniendo levaduras inactivadas por calor) como fuente de nitrógeno. Para el caso del glicerol proveniente de la industria del biodiesel, sólo fue posible obtener AL con bajos rendimientos cuando se ensayaron diferentes sustratos carbonados como co-metabolismo.

APLICACIÓN DE ENZIMAS FÚNGICAS PARA LA EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DEL DESECHO ORUJO DE UVA

María Rocío Meini (1)*, Ignacio Cabezudo (1), Diana Romanini (1)

(1) IPROBYQ-CONICET, FCBioyF, UNR, Rosario, Argentina.

El residuo remanente del proceso de fermentación de las uvas para la elaboración de vino tinto contiene altos niveles de compuestos polifenólicos. Las principales aplicaciones de este desecho incluyen su uso como fertilizante, como materia prima para la producción de etanol y ácido tartárico y como aditivos en alimento para animales. Sin embargo, la alta proporción de polifenoles puede inhibir la germinación de semillas y la presencia de polifenoles polimerizados disminuye su digestibilidad. Por otro lado, los compuestos polifenólicos presentan aplicaciones potenciales tanto en la industria alimenticia, como en las industrias cosmética y farmacéutica, derivadas principalmente de su capacidad antioxidante. Es así que los tratamientos de orujo de uva que permiten la extracción de polifenoles cumplen una doble función: por un lado disminuir su carga contaminante y aumentar su digestibilidad; y por el otro, recuperar compuestos naturales de alto valor. En el presente trabajo, nos proponemos optimizar un método de extracción acuosa donde intervienen enzimas hidrolíticas producidas por hongos de *Aspergillus niger*: celulasa y tanasa. La enzima celulasa permite disminuir la complejidad de la matriz de la pared celular que retiene estos compuestos; mientras que la enzima tanasa actúa sobre los enlaces éster de los taninos hidrolizables, disminuyendo su complejidad. Para ello se realizó un cribado de las condiciones que afectan la extracción, y una posterior optimización mediante la metodología de superficie de respuesta. Los resultados obtenidos muestran que es factible aumentar el rendimiento de extracción de polifenoles en un 70% y su capacidad antioxidante en un 80% mediante el empleo de ambas enzimas en simultáneo, en las condiciones optimizadas. También se observó que cada enzima tiene un efecto particular en la composición de los extractos, destacándose que la enzima tanasa enriquece los extractos en ácido gálico, mientras que la enzima celulasa aumenta la proporción de ácido p-cumárico en las muestras. El procedimiento optimizado resultó factible para la extracción de polifenoles en orujos de uva correspondientes a cinco cepas empleadas para la elaboración de vino tinto en Argentina.

CARACTERIZACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS OXIDANTES DE MANGANESO (II) PRESENTES EN PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS Y AISLAMIENTO DE LAS OXIDANTES MÁS EFICIENTES

Ainelén Piazza (1), Lucila Ciancio (1), Virginia A. Pacini (2), Graciela Sanguinetti (2), Jorgelina Ottado (1), Natalia Gottig (1)*

(1) Inst. de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Rosario, Argentina. (2) Centro de Ingeniería Sanitaria Facultad de Ciencias Exactas, Ing. y Agrimensura, Univ. Nac. de Rosario, Argentina.

El manganeso (Mn) cuando está presente en aguas para consumo humano causa problemas de orden estético y de aceptabilidad, organolépticos, operativos y sanitarios. Los métodos empleados para la remoción de Mn en el agua subterránea se pueden clasificar en: fisicoquímicos y biológicos. En estos últimos, el Mn contenido en el agua es oxidado y precipitado con la ayuda de bacterias ambientales que suelen aparecer en forma natural en las aguas subterráneas que contienen Mn. Sin embargo, en estos procesos se alcanza una óptima remoción de Mn únicamente cuando los sistemas contienen comunidades bacterianas apropiadas, es decir, bacterias oxidantes de Mn (MOB) y formadoras de *biofilm*. En este trabajo, usando pirosecuenciación de fragmentos del gen 16S rRNA bacteriano, se caracterizó el microbioma total de dos plantas de tratamiento biológico de aguas de la provincia de Santa Fe, que actualmente funcionan eficientemente removiendo Mn. Los resultados obtenidos permitieron diseñar estrategias de selección y aislamiento de MOB en medios de cultivo específicos. Se obtuvieron 202 aislados bacterianos putativos oxidantes de Mn(II), los cuales fueron identificados molecularmente. Los mismos fueron caracterizados en función de su capacidad oxidante de Mn y formadora de biofilms. Cinco cepas fueron clasificadas como las mejores: MOB-181, MOB-449, MOB-343 y MOB-436 del género *Pseudomonas* spp. y MOB-326 del género *Terrabacter* spp. Considerando como objetivo final el uso de estas cepas en plantas de tratamientos de aguas a fin de optimizar la remoción biológica de Mn, los cinco mejores aislados fueron estudiados luego en función de su capacidad de oxidación de Mn(II) frente a diferentes condiciones: cambios de temperaturas y presencia de metales inhibidores. MOB-181 resultó ser la bacteria más versátil, con capacidad de oxidar en todas las temperaturas ensayadas, siendo la óptima 37°C. Asimismo, MOB-449 resultó interesante porque mostró mejor capacidad de oxidación de Mn a temperaturas bajas (18°C). La presencia de otros metales no inhibió la oxidación de Mn mediada por ambas bacterias. Finalmente, se construyó un sistema de filtros a escala laboratorio donde se evaluó si MOB-181 y MOB-449 pueden remover Mn del agua. Se demostró que una mezcla de estas dos bacterias fue capaz de acelerar el inicio de la remoción de Mn en aguas naturales. Estos resultados se utilizarán para optimizar los procesos de remoción de Mn de aguas y para el diseño de mejores tecnologías.

MICROENCAPSULACIÓN DE BIOACTIVOS DE FITASAS DE *Aspergillus niger* PRODUCIDAS EN TRITICALE POR FERMENTACIÓN SÓLIDA

José Daniel García García (1), Ana Iliná (1), Janeth Ventura (2), Georgina Michelena (3), Erika Nava (4), José Luis Martínez (1)*

(1) Cuerpo Académico de Nanobiociencia, México. (2) Escuela de Ciencia de la Salud, Universidad Autónoma de Coahuila, México. (3) Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), La Habana, Cuba. (4) Centro Nacional de Investigación Disciplinaria RASPA – Inifap, Durango, México.

El fósforo es el tercer elemento más importante en las dietas de animales monogástricos. Las fitasas son enzimas que hidrolizan el fitato y liberan fósforo, sin embargo, las enzimas presentan una baja estabilidad y viabilidad. Para mejorar estos aspectos se ha empleado algunos componentes como polioles y azúcares. otra alternativa es la microencapsulación mediante el secado por aspersión, la cual permite proteger a la enzima mediante el uso de diferentes materiales encapsulantes, entre los cuales se encuentra la goma guar (GG), que ha demostrado ser una opción para ser usada con esta tecnología. El suero de leche (SL) se ha utilizado como material encapsulante con ventajas importantes. El objetivo fue obtener microencapsulados bioactivos de fitasas para la alimentación animal, producir la enzima por fermentación en estado sólido (FES), la estabilización mediante el uso de glicerol y maltosa, y el desarrollo de microcápsulas de SL y GG. La producción de fitasa se realizó en FES empleando el hongo *A. niger* y residuos del triticale como sustrato. Se evaluó glicerol (10 y 30% v/v) y maltosa (0 y 20% p/v) para la estabilización de la enzima. Se diseñaron los microencapsulados, evaluando factores como la temperatura, el flujo y el contenido de GG y SL y se evaluó el rendimiento, humedad, color, actividad de agua, proteína y actividad fitasa. Los resultados arrojaron una producción máxima de fitasa de 6 UF/g de ss y de proteína (0.16 mg/ml) al quinto día de la fermentación. El estudio de estabilidad de la enzima permitió observar una actividad remanente entre 60 y 75%. Los resultados muestran una vida media de 22.35 semanas, resultados semejantes a los de otros autores, lo cual se puede atribuir al glicerol como estabilizador. Debido a las características del SL, se considera una buena opción como material encapsulante, y en conjunto con la GG le pueden proveer propiedades de estabilidad. Las condiciones adecuadas para los microencapsulados fueron 110°C, flujo de 10% (3.33 ml/min) y GG al 1%, con una actividad remanente de 90%, actividad de agua inferiores a 0.6, que permite proveer mayor estabilidad periodos prolongados. Se ha reportado, microencapsulados de fitasa con harina de soya con actividad remanente de 60% y con maltodextrina con un 58% de actividad fitasa. Los resultados mostrados anteriormente demuestran el potencial del uso del SL y GG como materiales encapsulantes durante el proceso de secado por aspersión.

COMUNICACIONES ORALES 5

Microbiología general

RE-ENSAMBLAJE Y ANOTACIÓN DE LA LEVADURA PSICRÓFILA *Naganishia vishniacii*

Paula Nizovoy (1)*, Diego Libkind (1,2), Nicolás Bellora (1), Martín Moliné (1,2)

(1) IPATEC, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. (2) Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

Naganishia vishniacii es una levadura basidiomicética (orden Filobasidiales, clado albidus), que ha sido aislada únicamente en la región de los Valles Secos de las Tierras de Victoria (Antártida Occidental). *N. vishniacii* es un organismo poliextremófilo, capaz de crecer a muy bajas temperaturas (-3°C) y escasez de nutrientes. El estudio de las adaptaciones que permiten que estos organismos logren sobrevivir en nichos tan extremos revierte especial interés debido a su potencial aplicación en biotecnología, y puede abrir nuevas hipótesis respecto del origen de la vida y comprender la evolución de los distintos linajes de hongos y levaduras. Hoy en día, la secuenciación de genomas resulta fundamental a la hora de realizar este tipo de abordajes, y la obtención de un buen ensamblado y anotaciones de calidad son esenciales. En este trabajo se realizó el re-ensamblaje del genoma de *N. vishniacii*, en base al genoma y a los *reads* de secuenciación disponibles. Se realizó un ensamblado *de novo* (*coverage* mediano 245.2X), que se utilizó para complementar la versión pre-existente (146.X), logrando así resolver zonas previamente indefinidas y reducir la cantidad de *scaffolds* (7 unidades menos que en la versión borrador). Se obtuvo un genoma de 19.8-Mb estructurado en 31 *scaffolds* (N_{50} =1080 kpb), con un contenido de GC de 52.92%. Este valor se contrastó con el de especies secuenciadas dentro del mismo orden, sin encontrarse una dependencia que permitiera correlacionar dicha característica con la capacidad de sobrevivir en ambientes fríos (mecanismo reportado en bacterias psicrófilas). La combinación de las predicciones génicas realizadas *de novo*, junto con las previamente disponibles permitió obtener 7362 genes putativos, sobre los cuales se realizó una búsqueda de genes de interés. A fin de caracterizar la especie y de generar anotaciones fidedignas, se anotaron y curaron manualmente 24 genes de *mating*, 46 de meiosis, 248 del *core of eukaryotic* (CEG) y un *set* de 20 relacionados con capacidades antioxidantes y fotoprotección. Se caracterizó el *set* completo de genes relacionados con la síntesis de carotenoides lo cual es destacable dado que se trata de una especie con coloración crema que no acumula carotenoides en cultivos de laboratorio (se evaluaron 4 condiciones: temperatura, radiación UV/PAR, fotoperíodo y daño oxidativo). Este nuevo material de partida permitirá ahondar en el estudio de las adaptaciones que dotan a *N. vishniacii* de su cualidad de poliextremófila.

DIVERSIDAD DE ENZIMAS EXTRACELULARES QUE DEPOLIMERIZAN ALGINATOS EN SEDIMENTOS DE BAHÍA USHUAIA

Priscila Calderoli (1), Mariana Lozada (1), Hebe Dionisi (1)*

(1) Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR-CONICET), Puerto Madryn, Chubut, Argentina.

Los alginatos constituyen hasta un 40% del peso seco de las algas pardas, cuya biomasa domina los ecosistemas costeros templados y fríos. En consecuencia, estos polisacáridos, polímeros lineales de los ácidos β -D-manurónico y α -L-gulurónico, representan una importante fuente de carbono y energía para los microorganismos heterotróficos que habitan estos ambientes. A pesar de constituir un paso relevante del ciclo del carbono de estos ambientes del cual participaría una alta proporción de la comunidad microbiana, nuestro conocimiento sobre la estructura de los gremios alginolíticos y los mecanismos que utilizarían para asimilar a los alginatos es aún limitado. El objetivo de este trabajo fue estudiar la diversidad funcional de este gremio en sedimentos intermareales de Bahía Ushuaia, a partir del análisis de secuencias putativas de enzimas alginato liasas (acción endolítica) y oligoalginato liasas (acción exolítica) identificadas en una biblioteca metagenómica secuenciada al azar. Utilizando Hidden Markov Models de las herramientas pfam y dbCAN, se identificaron 247 secuencias metagenómicas pertenecientes a 6 (PL5, PL6, PL7, PL14, PL15 y PL17) de las 7 familias de polisacárido liasas que incluyen estas enzimas a partir del set de datos de 7×10^5 secuencias codificantes. Los scaffolds contenían entre 1 y 6 secuencias putativas de estas enzimas, y fueron asignados taxonómicamente a 10 diferentes phyla, siendo Bacteroidetes, Proteobacteria y Planctomycetes los más abundantes. El 71% de las secuencias identificadas se encontraban completas, y más de la mitad de las mismas fueron altamente divergentes de las secuencias depositadas en la base de datos CAZy, en su gran mayoría provenientes de cepas cultivadas y de las cuales menos del 4% han sido caracterizadas bioquímicamente. Las secuencias identificadas más novedosas provenían de scaffolds asignados a los phyla Planctomycetes y Actinobacteria. En particular, la familia PL5 presentó el más alto porcentaje de secuencias divergentes (94%), con 22% de ellas conteniendo módulos no identificados previamente en esta familia de enzimas y 42% de las secuencias con residuos del sitio activo identificados como esenciales para la catálisis, no conservados. Estas secuencias putativas de alginato liasas y oligoalginato liasas serán el punto de partida para estudiar la relación que existe entre las propiedades estructurales y catalíticas en estas familias de enzimas, y explorar sus posibles aplicaciones biotecnológicas.

COLONIZACIÓN DE GRANOS DE ARENA POR *Bradyrhizobium diazoefficiens*

Gabriela López-Guerra (1)*, Aníbal Lodeiro (1), M. Julia Althabegoiti (1)

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, La Plata, Argentina.

Bradyrhizobium diazoefficiens es un rizobio frecuentemente aplicado como inoculante debido a su capacidad de establecer una simbiosis fijadora de N₂ con plantas de soja. Este microorganismo es un habitante normal de la microbiota del suelo, y por lo tanto es capaz de desplazarse por natación entre los poros y colonizar las superficies de las partículas del suelo. Para caracterizar algunos determinantes bacterianos de estos procesos, en este trabajo estudiamos el rol de los flagelos y los polisacáridos extracelulares en la colonización de granos de arena. Suspensiones de granos de arena en medio nutritivo se depositaron entre porta y cubreobjetos, se inocularon con rizobios y se mantuvieron en cámaras húmedas a 30°C por diversos periodos. Las cepas de *B. diazoefficiens* utilizadas fueron marcadas con marcadores de fluorescencia, lo que permitió su visualización microscópica sobre los granos de arena. A los 7 días de incubación, se observó la formación de pequeñas microcolonias. Luego, a partir de los 14 días, se observaron estructuras filamentosas de origen bacteriano que conectaban granos de arena próximos entre sí. Estas estructuras requirieron la presencia de polisacáridos extracelulares, ya que mutantes incapaces de sintetizarlos formaron escasos filamentos menos robustos. A tiempos mayores (21 y 28 días) las colonias bacterianas formaron estructuras alargadas y ramificadas, que requirieron la presencia de flagelos, puesto que mutantes carentes de los mismos fueron incapaces de generar estas ramificaciones. Estas observaciones sugieren que hubo desplazamientos dependientes de flagelos sobre las superficies de los granos de arena. Para estudiar la movilidad de los rizobios en los poros generados entre los granos de arena, empaquetamos arena en columnas saturadas de medio nutritivo líquido e inoculamos los rizobios en la parte superior. Los rizobios salvajes pudieron recuperarse del reservorio líquido en la base de la columna luego de 4 días, mientras que mutantes carentes de flagelos que fueron co-inoculados con los salvajes no pudieron recuperarse en ese tiempo o se recuperaron en mucha menor proporción, indicando que en ese lapso los rizobios salvajes se autopulsaron entre los poros del sustrato. Estos resultados muestran que *B. diazoefficiens* es capaz de moverse entre y sobre los granos de arena, colonizarlos, e interconectarlos con filamentos que al menos en parte estarían formados por polisacáridos extracelulares bacterianos.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBICIDA, ESPOROCIDA Y ANTI-BIOFILM DE NUEVAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS COMO ALTERNATIVA CONTRA PATÓGENOS MULTI-RESISTENTES

Sebastián Cogliati (1)*, Marcos Francisco (1), Estanislao Porta (2), Victoria Clementi (1), Celina Lobais (1), Victoria Boselli (1), Nora Pellegrini (2), Roberto Grau (1)

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular, subsuelo sala 9 - Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Rosario, Argentina. (2) Laboratorio de Materiales Cerámicos, IFIR, Rosario, Argentina.

El uso indiscriminado de antibióticos ha catalizado la emergencia de bacterias patógenas multi-resistentes (PMR). Muchos de estos patógenos tienen la capacidad de formar biofilms y esporas que les confieren resistencia frente a estresores ambientales. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad microbicida, esporocida y anti-biofilm de nanopartículas de Cu y de Ag (MNPs) como nueva alternativa para eliminar los PMR. Las cepas utilizadas en este trabajo fueron los patógenos de humano *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* resistente a β -lactámicos y el probiótico *Bacillus subtilis* NCIB3610. La actividad microbicida fue medida como la disminución de la DO_{600nm} en medio LB. Para obtener esporas, *B. anthracis* y *C. perfringens* se crecieron en medio SM y DSSM, respectivamente, y luego se calentaron a 80°C por 20 min para eliminar las células vegetativas remanentes. Las esporas se incubaron con las MNPs y se realizó el recuento de células viables. Los medios LBY y BHI fueron utilizados para determinar el efecto anti-biofilm de las MNPs. Se determinó la capacidad de las MNPs de desensamblar biofilms pre-formados. La permeabilidad de los mismos hacia las MNPs se cuantificó con las técnicas de cristal violeta y azul de metileno. Se utilizó la cepa NCIB3610, con las fusiones transcripcionales reporteras *PbsIA-gfp* y *Peps-lacZ*, para medir la expresión de componentes de la matrix del biofilm como intensidad de fluorescencia o actividad β -galactosidasa, respectivamente. *P. aeruginosa* y *S. aureus* se expusieron a antibióticos (eritromicina y kanamicina, respectivamente) o MNP en medio LB y se determinaron las cinéticas de emergencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos. El crecimiento planctónico, la formación de biofilm y la supervivencia de las esporas para todas las cepas fueron inhibidos bajo la exposición a MNPs. Las MNPs inhibieron la formación del biofilm y aceleraron el desensamblaje de los biofilms pre-formados. Además, se observó una disminución en las actividades de *lacZ* y *gfp* después de la exposición a MNPs en condiciones de formación de biofilm. Los ensayos cinéticos se realizaron durante 7 días, y para ambos patógenos, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, mostraron una alta frecuencia de bacterias resistentes a los antibióticos pero no a las MNP. Las MNPs podrían ser una alternativa segura para combatir a las bacterias PMR.

COMUNICACIONES ORALES 6

Microorganismos involucrados en la degradación de
contaminantes

ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES ENTRE MIEMBROS DE UN CONSORCIO PRODUCTOR DE BIOGÁS

Mateo Gallia (1)*, Tatiana Spatola Rossi (1), Leonardo Erijman (1), Eva Figuerola (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI), CABA, Argentina.

La digestión anaeróbica de sólidos es un proceso que combina la ventaja de la generación de energía renovable con la utilización de residuos orgánicos. El proceso consta de una serie de pasos metabólicos relacionados llevados a cabo por un consorcio microbiano. Las interacciones que rigen entre los microorganismos (MO) son clave para la estabilidad de los servicios ecosistémicos. El objetivo del trabajo es profundizar en el estudio de las interacciones entre los MO responsables de la digestión anaeróbica mediante la reconstrucción de los genomas de las especies dominantes para el planteo de interacciones hipotéticas a nivel metabólico entre ellas. Dichas interacciones se corroborarán mediante el crecimiento en co-cultivo. A largo plazo se plantea la creación de consorcios sintéticos para el estudio de la relación entre estructura y función de las comunidades. A lo largo de dos años se tomaron catorce muestras de dos reactores anaeróbicos de diferente configuración sitios en una fábrica cervecera en la zona de Luján. A partir de los datos de secuenciación de amplicones del 16S (Bacteria) y el gen *mcrA* (arqueas metanogénicas) se identificaron las OTUs mayoritarias y se construyó una red de correlaciones que permite inferir interacciones entre las especies a partir de las conexiones entre los nodos. Aunque el tipo de efluente a tratar suele tomarse como parámetro determinístico de la comunidad (CO), la red construida muestra una clara agrupación de los MO de acuerdo al reactor de procedencia, proponiendo a los parámetros operacionales como factores determinantes de la estructura de la CO. Los genomas de los miembros dominantes de la comunidad han sido ensamblados a partir de la secuenciación metagenómica de dos muestras de cada reactor. La anotación de los genomas permitirá mediante el uso de modelos predictivos construir la red de interconexión metabólica a nivel CO. Paralelamente, se han realizado sucesivas rondas de enriquecimiento, seguidas por técnicas de *fingerprinting*, para *Methanobacterium formicicum* y *Anaerolineaceae*, miembros dominantes de los reactores. Con el fin de aislar dichas especies, se cultivaron diluciones seriadas de cada enriquecimiento. Diferentes bacterias filamentosas fueron identificadas por microscopía como miembros tentativos de Chloroflexi en los cultivos de *Anaerolineaceae*. Colonias fluorescentes bajo estimulación UV (propiedad de arqueas metanogénicas) fueron observadas en los cultivos de *M. formicicum*.

RECONSTRUCCIÓN AUTOMÁTICA DE UNA RED METABÓLICA ESPECÍFICA GUIADA POR DATOS GENÓMICOS Y FILOGENÉTICOS EN UN CONSORCIO BACTERIANO DEGRADADOR DE PAH

Marianela Macchi (1)*, José Matías Irazoqui (2,3), Esteban Nieto (1), Ariel Amadio (2,3), Bibiana Coppotelli (1)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina. (2) Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Santa Fe, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Los consorcios microbianos son causales de los ciclos geoquímicos, la salud humana y procesos biotecnológicos. Los métodos computacionales son esenciales para obtener ideas claras de cómo estos consorcios funcionan. Este trabajo tiene como objetivo la reconstrucción automática de redes de biodegradación utilizando como entrada datos de secuenciación de ADN y datos filogenéticos. Nos enfocamos en la degradación de fenantreno por el consorcio CS-4, conformado por las cepas *Sphingobium* sp. (AM), *Enterobacter* sp. (B), *Pseudomonas* sp. (T y Bc-h), *Inquilinus limosus* (I) y *Burkholderia* sp. (Bk) aisladas a partir de un consorcio natural. La secuencia de cada genoma fue ensamblada a partir de lecturas provenientes de un secuenciador Illumina HiSeq 1500 (INDEAR), con una cobertura de 500X. Partiendo de la ruta de degradación del fenantreno (KEGG), se seleccionaron todas las reacciones y enzimas que participaban en cada etapa (23). Se descargaron las secuencias de aminoácidos correspondientes a cada enzima utilizando bases de datos específicas (RHObase) o con alto nivel de anotación (UniProt, Interpro, Pfam, OrthoDB). Estas secuencias fueron comparadas contra los genes predichos en los genomas del consorcio utilizando BLAST (Identidad >70%, Cobertura >70%). Se reconstruyó la vía metabólica indicando la presencia de la enzima y el organismo al que pertenece, mediante una herramienta diseñada especialmente para esto y los resultados se visualizaron en Cytoscape. Sobre las cepas del CS-4 se realizaron estudios funcionales para estudiar la degradación de fenantreno, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido salicílico, catecol y 2,3-dihidroxibifenilo. La red obtenida indica que existiría una actividad protagonista de las cepas Bk y AM en el ataque al fenantreno, que es consistente con las capacidades metabólicas observadas en estudios fisiológicos. Las enzimas de la vía alta de degradación (codificadas en AM y Bk) serían complementadas con las enzimas codificadas en las cepas I, T y Bc-h que intervienen y en la vía baja atacando compuestos monocíclicos. Encontramos enzimas codificadas por más de una cepa, compatible con la redundancia funcional observada en estudios fisiológicos y de la dinámica del consorcio. El análisis computacional nos permitió inferir un conjunto activo de reacciones mediadas por los miembros del consorcio y la construcción de una red metabólica de degradación de fenantreno en el CS-4 que se correlaciona significativamente con los experimentos fisiológicos.

ESTUDIOS GENÓMICOS EN BACTERIAS TOLERANTES Y DEGRADADORAS DE GLIFOSATO PARA SU UTILIZACIÓN EN ESTRATEGIAS DE RIZORREMEDIACIÓN

Francisco Massot (1,2)*, Sofie Thijs (2), Panagiotis Gkorezis (2), Ana María Giulietti (1), Jaco Vangronsveld (2), Luciano José Merini (3)

(1) Instituto Nanobiotec (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. (2) Centre for Environmental Science (UHasselt), Diepenbeek, Bélgica. (3) Laboratorio de Malezas y Herbicidas (INTA), Anguil, Argentina.

La Pampa Húmeda es la principal región de producción agrícola en Argentina, abarcando alrededor de 52 millones de hectáreas. Como parte de las prácticas agrícolas habituales en esta región, son aplicados más de 300.000 toneladas de plaguicidas cada año, de los cuales el 65% de las formulaciones corresponden al herbicida glifosato (N-fosfonometilglicina). Idealmente, se deben encontrar alternativas tecnológicas para minimizar los problemas de contaminación por agroquímicos, haciendo de la explotación agronómica una actividad ambientalmente sostenible. Nuestro objetivo es desarrollar un sistema de rizadorremediación, que es el uso de un sistema planta-microorganismo para la degradación de xenobióticos, con la intención de mitigar el impacto ambiental que provoca el glifosato en el contexto agrícola productivo. Se realizó el aislamiento de microorganismos tolerantes y degradadores de glifosato a partir de suelos y raíces ubicadas en sectores crónicamente expuestos al mismo. Para ello, se hicieron enriquecimientos en medio líquido utilizando a glifosato como única fuente de fósforo. Una vez obtenidos cultivos puros bacterianos, se identificaron las cepas, y luego se evaluó individualmente la tolerancia a glifosato y diferentes capacidades de promoción de crecimiento vegetal (PGPA). Se llevó a cabo la secuenciación de dos de las cepas. Se aislaron un total de 16 cepas tolerantes y capaces de utilizar glifosato como única fuente de fósforo, que presentaron distintos niveles de tolerancia y capacidades de promoción de crecimiento vegetal. Entre ellas, destacaron *Rhizobium* sp. P44RR-XXIV y *Ochrobactrum* sp. P6BS-III. Ambas crecieron en la mayor dosis de glifosato evaluada (10.000 mg/kg), y fueron capaces de producir sideróforos, ácidos orgánicos, ácido indolacético y mineralizar fitatos. Además, P44RR-XXIV posee actividad ACC-desaminasa y produce acetoina, mientras que P6BS-III también es capaz de solubilizar fosfatos inorgánicos. Ambas cepas se secuenciaron utilizando la plataforma ION TORRENT. Se describieron los operones *phn*, probablemente involucrado en la degradación de glifosato, el gen de *aroA*, y distintos genes de interés. A su vez, se realizaron estudios de pangenoma del género *Ochrobactrum*. A partir de los resultados obtenidos se pretende continuar con distintos ensayos de interacción planta-microorganismo y de degradación en microcosmos, para evaluar la capacidad de los distintos sistemas propuestos para degradar glifosato en suelos agronómicos.

EFFECTO DEL CO-CULTIVO DE DOS BASIDIOMICETES EN LA SECRECIÓN DE ENZIMAS INVOLUCRADAS EN LA REMOCIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCBS)

Marcela Alejandra Sadañoski (1)*, Ana Silvia Tatarin (1), Mónica Lucrecia Barchuk (1), Pedro Darío Zapata (1), Laura Noemí Levin (2), Laura Lidia Villalba (1)

(1) Lab. de Biotecnología Molecular, Inst. de Biotecnología Misiones, FCEQyN, UNaM, Posadas, Argentina.

(2) Lab. de Micología Experimental, Dpto. de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEN, UBA, INMIBO (CONICET), CABA, Argentina.

Los hongos de pudrición blanca secretan enzimas oxidativas e hidrolíticas que podrían estar implicadas, directa o indirectamente, en la remoción de PCBs. El objetivo del siguiente trabajo fue determinar el perfil proteico y la actividad enzimática lacasa (Lac), manganeso peroxidasa (MnP), endoglucanasa (EG) y endoxilanasas (EX) en suelo tratado con bioestimulación y bioaumentación de co-cultivo de *Pycnoporus sanguineus* LBM 023 y *Pleurotus sajor caju* LBM 105. Para el tratamiento de bioaumentación se mezcló suelo no estéril con 60% de humedad con *P. sanguineus* LBM 023, *P. sajor-caju* LBM 105 o el co-cultivo inmovilizados en bagazo de caña de azúcar (3:1). La mezcla de suelo con sustrato lignocelulósico no inoculado fue utilizada para el tratamiento de bioestimulación (3:1 p/p). Los controles consistieron en suelo con y sin PCBs. Las mezclas se incubaron en condiciones no estériles, a 24°C por 60 días a humedad constante. Se tomaron muestras destructivas los días 14, 42 y 60 de incubación de cada tratamiento por triplicado de las cuales se extrajo las enzimas con buffer fosfato de sodio pH 7. Del sobrenadante se determinaron las actividades enzimáticas Lac, MnP, EX y EG, y los perfiles enzimáticos y proteicos con ND-PAGE y SDS-PAGE respectivamente. Como resultado, se pudo observar el incremento significativo ($p < 0,05$) de la actividad Lac y EX en el co-cultivo al día 60 con respecto al suelo tratado con los monocultivos. El máximo nivel de la actividad MnP se registró al día 14 para los tratamientos de bioaumentación con los monocultivos y al día 60 para el co-cultivo. La actividad EG fue significativamente mayor para el monocultivo de *P. sanguineus* LBM 023 al día 14 con respecto a los otros tratamientos evaluados. Mediante el tratamiento de bioestimulación no se detectó ninguna de las enzimas estudiadas. Referido al perfil de secreción enzimática Lac, se puede observar que tanto el tratamiento con *P. sanguineus* LBM 023 como el co-cultivo presentaron dos bandas de actividad enzimática de distinto peso molecular todos los tiempos. En cambio, *P. sajor caju* LBM 105 presentó una banda única de actividad los días 42 y 60. En el SDS-PAGE se observó un perfil proteico marcado por mayor cantidad e intensidad de bandas en el co-cultivo. Se concluye que el tratamiento de bioaumentación con co-cultivo presenta los valores más elevados de Lac, MnP y Xy. Tanto el perfil proteico como el de secreción de Lac se vió modificado en el co-cultivo en suelo contaminado con PCBs.

COMUNICACIONES ORALES 7

Microbiología aplicada

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE *Listeria monocytogenes* A DIFERENTES TEMPERATURAS: MOVILIDAD, PRODUCCIÓN DE EPS, SUPERVIVENCIA EN JUGO DE MANZANA E INTERACCIONES CON LEVADURAS RESIDENTES DE LA INDUSTRIA

María del Rosario Agustín (1)*, Lorena I. Brugnoli (1,2)

(1) Depto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), Bahía Blanca, Argentina.

La ubicuidad de los biofilms se debe en parte a la complejidad de la dinámica de formación de los mismos y a las interacciones entre especies microbianas que se producen en su matriz. Teniendo en cuenta el número de industrias alimentarias afectadas negativamente por el desarrollo de biofilms, es imprescindible un análisis integral de factores que intervienen en su formación. *Listeria monocytogenes* es capaz de sobrevivir en los ambientes de producción de alimentos y formar biofilms en asociación a microorganismos residentes presentes en las superficies de la industria alimentaria. A fin de dilucidar cómo la superficie celular, las características de la matriz alimentaria y las condiciones de cultivo afectan la supervivencia de *L. monocytogenes* (ATCC 7644, serotipo 1/2c) en jugo de manzana y modulan las interacciones con levaduras aisladas de equipos de producción de industrias jugueras, se realizaron los siguientes ensayos fenotípicos: a) hidrofobicidad de la superficie celular con n-hexadecano; b) auto-agregación, co-agregación entre *L. monocytogenes* y cuatro cepas de levaduras *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida kefyr*, a temperatura ambiente por 5, 10, 15, 30, 60, 90 y 120 min; c) movilidad (*swimming*, *swarming* y *twitching*); d) producción de exopolisacáridos en Agar Luria Bertani, con rojo Congo, se evaluó a 12, 25 y 37°C; e) supervivencia en jugo de manzana de 12 °Brix (pH 4,3) a 25 y 37°C por 2, 4, 8, 24 y 48 h. A 25 y 37°C, *L. monocytogenes* resultó ser altamente hidrofóbica (73.0 ± 0.8 y 80.8 ± 7.5 , respectivamente) e hidrofílica a 12 °C. En cuanto a la movilidad expresó *swimming* a 12, 25 y 37°C y *twitching* a 25 y 37°C, no observándose *swarming*. En todas las condiciones se observó producción de EPS. En cuanto a la supervivencia, encontramos que la población viable de *L. monocytogenes* decae 1.94 log UFC/ml, en comparación al inóculo inicial cuando es incubada a 25°C por 24 h. La co-agregación con las células de levaduras se produjo desde los 5 min con valores que superan el 50%. En todos los tiempos las diferencias de auto-agregación y co-agregación son significativas, por lo que inferimos una importante interacción bacteria-levadura, confirmada por microscopía electrónica. Estos resultados aportan al conocimiento del comportamiento de *L. monocytogenes* en alimentos de alta acidez y permiten una mejor comprensión de cómo prolifera, se establece, forma biofilms y, por lo tanto, sobrevive en el entorno de procesamiento.

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES DE CERVEZA ARTESANAL DE LA PATAGONIA ANDINA

Mailén Latorre (1)*, Diego Libkind (1)

(1) Laboratorio de Microbiología Aplicada, Biotecnología y Bioinformática de levaduras (MABBlev), Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales (IPATEC), CONICET - Universidad Nacional del Comahue. Bariloche, Argentina.

En la actualidad la producción de cerveza artesanal es uno de los sectores productivos más dinámicos del país. Sin embargo, el desarrollo de microorganismos que deterioran la cerveza es la problemática que afecta la permanencia de los emprendedores en el mercado. Estos microorganismos impactan de manera negativa la calidad de la cerveza. Las bacterias ácido lácticas lideran los incidentes de contaminación, seguido por bacterias anaerobias estrictas, y por enterobacterias y bacterias ácido acéticas. En cuanto a levaduras contaminantes, pueden ser sacaromycéticas o pertenecer a otros géneros. Dado que en Argentina no se han reportado estudios en esta temática, el objetivo de este trabajo fue estudiar la incidencia de contaminaciones microbianas en cervezas artesanales embotelladas de la Patagonia Andina y determinar cuáles son los principales contaminantes que afectan a las cervezas patagónicas. Para cumplir con este objetivo, 75 cervezas provenientes de distintas localidades andinopatagónicas fueron inoculadas en medios de cultivo específicos para la detección de microorganismos contaminantes de cerveza, en los que se realizaron recuentos de UFC/ml de cerveza. Los microorganismos aislados fueron identificados molecularmente mediante secuenciación del ADN ribosomal (región ITS para levaduras y 16S para bacterias). En el 69% de las cervezas estudiadas se registró el crecimiento de microorganismos contaminantes. El recuento promedio de bacterias fue de 10^5 UFC/ml, mientras que para las levaduras el recuento promedio fue 10^2 UFC/ml, superando ampliamente en ambos casos, los valores recomendados para cerveza terminada (<10 UFC/ml). En cuanto a la caracterización molecular, hasta el momento se identificaron 20 bacterias: 6 *Lactobacillus brevis*, 8 bacterias acéticas (*Acetobacter cerevisiae*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter sicerae*, *Acetobacter indonesiensis*, *Asaia* sp. y 3 *Acetobacter malorum*), 4 enterobacterias (*Rahnella ornithinolytica* y 3 *Klebsiella oxytoca*), y otras bacterias como *Pseudomonas* sp. y *Staphylococcus epidermis*. En cuanto a levaduras contaminantes, se identificaron 26 levaduras: 14 del género *Saccharomyces* y 12 levaduras de otras especies como *Wickerhamomyces anomalus*, *Candida parapsilopsis* y *C. pararrugosa*, *Clavispora lusitaniae*, *Pichia membranaefaciens* y *Trichosporon insectorum*. Esta información sienta las bases para desarrollar estrategias de control dirigidas específicamente a los contaminantes más problemáticos del sector cervecero artesanal.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA MICROBIOTA DE CIEGOS DE POLLOS DE ENGORDE PARA LA CARACTERIZACIÓN DE VARIABLES QUE CONTRIBUYAN A MEJORAS EN LA PRODUCTIVIDAD

Natalia Pin Viso (1)*, Juan Díaz Carrasco (2), Enzo Redondo (2), Mariano Fernandez Miyakawa (2), Marisa Farber (1)

(1) Instituto de Biotecnología, CiCVyA, INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Patobiología, CiCVyA, INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

El tracto gastrointestinal (TGI) de aves de producción alberga una gran diversidad de microorganismos, los cuales son de suma importancia tanto para la nutrición como para el desarrollo fisiológico de las aves. El objetivo del presente trabajo fue demostrar la influencia del origen geográfico en la composición de la microbiota de pollos de engorde, entendiendo esta variable como reflejo de una combinación particular de factores característicos de la región de origen. Para ello, sets de datos de secuenciación masiva de amplicones del gen RNAr 16S provenientes de diferentes países y disponibles en bases de datos públicas, fueron utilizados para comparar la composición de sus comunidades microbianas. Se evaluó qué proporción de la variabilidad observada entre comunidades era explicada por diferentes factores, incluyendo aquellos de conocido efecto modulador (porción intestinal, edad, genética de las aves), así como el origen geográfico de los datos. Si bien todos los factores evaluados mostraron modular de forma estadísticamente significativa la microbiota, al realizar un análisis de coordenadas principales fue el origen geográfico quien mejor explicó el agrupamiento de los datos ($R^2=0.7235$, $p=0.001$). Esta variable impactó particularmente en las abundancias relativas de las familias *Bacteroidaceae*, *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* y *Clostridiaceae*. A continuación, se describió la microbiota característica de Argentina, revelando un agrupamiento diferencial de los datos que provenían de granjas comerciales (GC) comparados con los de ensayos experimentales (EE). A pesar de sus diferencias, 15 Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs) con abundancias relativas mayores al 1% fueron compartidas por estos dos grupos. Las OTUs más abundantes correspondieron a miembros típicos del TGI de aves de producción (g_Bacteroides, f_Rikenellaceae, o_Clostridiales, f_Ruminococcaceae). En conclusión, el presente trabajo sugiere que el origen geográfico puede modular la composición de la comunidad microbiana del TGI de pollos. Adicionalmente, se aporta la primera descripción de la microbiota argentina para pollos de GC y de EE. Si bien futuros estudios son requeridos para relacionar condiciones ambientales con parámetros productivos, este trabajo contribuye al mejor entendimiento de los factores que afectan la composición de la microbiota del TGI y que podrían servir de base para mejorar la producción aviar.

SELECCIÓN Y MEJORAMIENTO DE UN MEDIO DE CULTIVO PARA OBTENER UNA MAYOR BIOMASA ACTIVA DE LA CEPA NATIVA *Bacillus thuringiensis* INTA Mo4-4

Melisa P. Pérez (1,2)*, Diego H. Sauka (1,2), María I. Onco (1,2), Graciela B. Benintende (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (Argentina). (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Bacillus thuringiensis se caracteriza por producir cristales proteicos durante la esporulación, responsables de la toxicidad para larvas de insectos. Tanto sus cristales como esporas se formulan juntos para constituir bioinsecticidas bacterianos. Recientemente, la cepa nativa INTA Mo4-4 fue seleccionada por su alta virulencia como candidata para la elaboración de un bioinsecticida destinado al manejo de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Por ello, se requiere de un medio de cultivo apropiado para su producción, en el que se produzcan grandes cantidades de cristales que sean capaces de generar valores de toxicidad del nivel requerido. Se planteó en este trabajo la selección y mejoramiento de un medio de cultivo líquido para la producción de INTA Mo4-4, con el objetivo de lograr mayor biomasa activa, tomando como parámetro de selección la mayor concentración de proteínas producidas. Se evaluaron cuatro medios de esporulación distintos, de los cuales se seleccionó el caldo BM como medio propicio para la producción. En él se logró una esporulación superior al 99% y una mayor producción de proteínas totales cuantificadas por Bradford (242,8 µg/ml), luego de 96 h de incubación a 28°C en agitación. Posteriormente, se empleó el diseño de Plackett-Burman para determinar cuáles de los componentes del caldo BM afectaban significativamente la producción de proteínas de la biomasa activa. El análisis estadístico reveló que el extracto de levadura era el único componente con un efecto positivo y significativo sobre la producción de proteínas ($E=7,19$; $p = 0,006$). La glucosa y el almidón demostraron un efecto negativo y positivo respectivamente, aunque no significativo. Sabiendo que las proporciones de C:N en los medios de cultivo son importantes para el crecimiento normal de *B. thuringiensis* y la producción de proteínas insecticidas, y considerando que el análisis de Plackett-Burman sólo detecta efectos principales, resultó de interés avanzar en el estudio de la interacción entre el extracto de levadura y el almidón soluble. Los dos componentes seleccionados fueron optimizados utilizando un diseño central compuesto rotatorio, mediante el cual se determinó los valores óptimos de extracto de levadura y almidón soluble en 6,0 y 2,8 g/l respectivamente. De esta manera se logró duplicar la producción de proteínas con respecto al medio basal, lo que a su vez se tradujo en un aumento significativo de la toxicidad frente a *A. diaperinus*.

SESION DE POSTERS

SESION DE POSTERS A

ÁREA TEMÁTICA

Microorganismos promotores del crecimiento vegetal

LA PROMOCIÓN DEL DESARROLLO TEMPRANO EN PLANTAS DE TRIGO Y TOMATE POR CEPAS NATIVAS DE *Pseudomonas* SE CORRELACIONA CON SU COLONIZACIÓN RADICAL EN PRESENCIA DE LA MICROFLORA NATURAL DEL SUSTRATO

Betina Agaras (1,2)*, Luis Wall (1,2), Claudio Valverde (1,2)

(1) Laboratorio de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas en el Suelo, DCyT, Universidad Nacional de Quilmes, Bs. As., Argentina. (2) Conicet, Argentina

Uno de los aspectos esenciales para desarrollar una agricultura sustentable es reducir el uso de agroquímicos, suplementando con bioinsumos. Esto es aún más favorable si los organismos provienen del mismo ecosistema donde se busca aplicarlos. Dado que hemos visto en ensayos a campo que algunos aislamientos de *Pseudomonas* nativas pueden mejorar el rendimiento en cultivo de trigo, nos propusimos evaluar si la capacidad de colonización radical de estas *Pseudomonas* probióticas estaba vinculada a los efectos sobre el desarrollo temprano en trigo, y también en tomate, en condiciones no estériles de invernadero. Para ello, las versiones marcadas con un *cassette* Tn7 de 3 aislamientos nativos de *Pseudomonas* de diferentes especies, que mostraron efecto positivo en el rendimiento de trigo a campo, fueron inoculadas en semillas de trigo y tomate con suspensiones bacterianas de DO = 1,0 (solución salina como testigo) junto con el coadyuvante Premax® (Rizobacter, 1ml mezcla/100g semilla). Las semillas se sembraron en potes de 1l rellenos con sustrato de invernadero (n = 5 potes, 5 y 2 semillas de trigo y tomate, respectivamente, por pote). El riego se realizó por infiltración con agua destilada. Al mes, se cosecharon las plantas, y se obtuvieron los valores de altura y peso seco de parte aérea, y se cuantificó la colonización rizosférica en medio selectivo Gould S1 suplementado con el antibiótico correspondiente. Se analizaron los resultados mediante MLGM (LSD Fisher, $p < 0,05$) y análisis de correlación con Infostat v.2016. Los recuentos mostraron que los 3 aislamientos fueron capaces de colonizar la superficie radicular de ambas plantas (2,09, 3,00 y 5,52 en tomate y 2,33, 4,26 y 4,61 en trigo, $\log(\text{UFC/g} + 50)$). Esta diferencia luego se vio reflejada en los parámetros del trigo: la especie que alcanzó la mayor colonización aumentó significativamente la altura de las plantas ($p < 0,05$), y ésto correlacionó positiva y significativamente con la colonización radical ($r^2 = 0,77$). En tomate se vio la misma tendencia, pero sin diferencias significativas. Aquellas que mejor colonizaron y favorecieron el desarrollo de las plantas fueron los que aumentaron significativamente el rendimiento a campo en nuestros estudios previos (campañas 2015 y 2016). Por lo tanto, demostramos que la capacidad de estos microorganismos probióticos para ejercer su efecto estaría directamente vinculada a su habilidad para colonizar la rizósfera y mantenerse en competencia con microflora nativa.

ROL DEL SISTEMA SMC02366 / SMC02367 EN LA INTERACCIÓN SIMBIÓTICA ENTRE *Ensifer meliloti* Y *Medicago sativa* (ALFALFA)

Francisco Albicoro (1), Walter Draghi (1), Juliet Nilsson (1), María Eugenia Salas (1), José Luis López (1), Karsten Niehaus (2), Antonio Lagares (1), María Florencia Del Papa (1)*

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, IBBM-UNLP-CONICET, La Plata, Argentina. (2) Center for Biotechnology, CeBiTec, Bielefeld, Alemania.

Ensifer meliloti es una α -proteobacteria que posee la capacidad de asociarse en simbiosis con raíces de plantas leguminosas de los géneros *Medicago*, *Melilotus* y *Trigonella*, y de formar nódulos radiculares donde el N₂ atmosférico es convertido en amonio. En su vida libre, los rizobios deben enfrentar situaciones adversas que impactan en la asociación simbiótica. Los rizobios tienen la capacidad de adaptarse a las fluctuaciones del ambiente por diversos mecanismos, entre ellos los llamados sistemas de dos componentes. El objetivo de este trabajo fue avanzar en el estudio del sistema de dos componentes SMC02366 / SMC02367 del rizobio modelo *E. meliloti*. En particular, construimos bacterias isogénicas mutantes en los componentes de este sistema y analizamos las consecuencias de tales mutaciones en las diversas etapas de la interacción planta-bacteria. Utilizamos herramientas microbiológicas clásicas, genéticas, y microscopía para analizar los nódulos generados por las cepas mutantes. Si bien no encontramos diferencias significativas en etapas tempranas de la vida asociativa del rizobio (colonización, competición y cinética de nodulación), el análisis microscópico de secciones semifinas mostró menos células infectadas en la zona III y vacuolas más grandes presentes en los simbiosomas de los mutantes. Esto sugiere que SMC02366 y SMC02367 serían necesarias durante el proceso de diferenciación que sufren las bacterias a bacteroides. Curiosamente, el análisis por microscopía electrónica de transmisión reveló que la zona III de los nódulos infectados por las cepas mutantes posee simbiosomas con espacios peribacteroidales más amplios, membranas del simbiosoma disgregadas y menor densidad de bacteroides en comparación con los observados en los nódulos infectados por la cepa salvaje. Además, observamos que la quinasa SMC02367 es necesaria para una eficiente FBN. Estos datos en conjunto sugieren que SMC02366 y SMC02367 podrían controlar la síntesis de una molécula que participe en el diálogo simbiótico y su ausencia podría provocar una respuesta de defensa de la planta o simplemente evitar el avance del programa simbiótico. Considerando el alto grado de conservación de genes homólogos en otros rizobios a futuro podrá indagarse el rol de este sistema en otras simbiosis (nódulos determinados) donde el proceso dinámico de formación del nódulo es diferente al que ocurre entre *M. sativa* y *E. meliloti*.

EVALUACIÓN DE NUEVOS AISLAMIENTOS COMO PROMOTORES DEL CRECIMIENTO PARA EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR

Micaela Alderete (1)*, Lucrecia Ludueña (1), Maria de los Angeles Nuñez (1), Lucía Vera (1), Atina Criado (1), Eduardo R. Romero (1), Maria L. Tortora (1)

(1) Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEOC), Las Talitas, Argentina.

Los biofertilizantes constituidos por bacterias promotoras del crecimiento, son una alternativa ambiental, económica y sustentable para el manejo agronómico de la caña de azúcar. El objetivo de este trabajo fue aislar, seleccionar e identificar cepas rizosféricas y endofíticas, homólogas al cultivo de la caña de azúcar, y evaluar su capacidad para estimular el crecimiento del cultivo. Utilizando medios de cultivos selectivos se aislaron cepas de los géneros *Herbaspirillum* spp., *Gluconacetobacter* spp. y *Azospirillum* spp. que se seleccionaron por amplificación del gen *nifD* y producción de ácido indol acético. Con las cepas seleccionadas *Azospirillum* sp. Az-FRI3, *Herbaspirillum* sp. Hb-FRE y *Gluconacetobacter* sp. GI-MTS se realizó una caracterización bioquímica y molecular por amplificación del ADNr 16S y posterior digestión con diferentes enzimas de restricción, comparando los perfiles obtenidos con los de cepas de referencia. Con cada cepa seleccionada y con la combinación de las mismas AHG (Az-FRI3 + Hb-FRE + GI-MTS) se realizaron bioensayos en invernáculo, en los que se inocularon yemas saneadas de la variedad TUC 95-10, por inmersión en cada suspensión bacteriana (10^6 UFC/ml) durante 15 min. Luego, se plantaron en bandejas de 25 pocillos con una mezcla de sustrato, arena y Perlome (3:2:1) y se regaron periódicamente con agua corriente. Como testigo se plantaron yemas tratadas con agua destilada estéril. El diseño experimental fue aleatorizado con 3 repeticiones de 25 plántulas. A los 30 días posteriores a la inoculación (DPI), se determinó altura y número de hojas verdes y a los 60 DPI se evaluó peso fresco y peso seco. Los datos fueron analizados con el test LSD-Fisher, $p \leq 0.10$. En los resultados se observó que la inoculación con Az-FRI3 fue la única que aumentó significativamente la altura y el número de hojas de las plántulas respecto al testigo. En el resto de los tratamientos, también hubo un incremento respecto al testigo, pero no fue estadísticamente significativo. Con respecto al sistema aéreo, se observó un aumento del peso seco en las plántulas inoculadas con Az-FRI3, GI-MTS y AHG con respecto al testigo y a Hb-FRE. La inoculación con Az-FRI3 también mejoró significativamente el desarrollo del sistema radicular, aumentado tanto el peso fresco como el peso seco, en comparación con el resto de los tratamientos evaluados. En conclusión, la cepa Az-FRI3 se podría utilizar como un potencial biofertilizante para el cultivo de caña de azúcar.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA HEMOGLOBINA TRUNCADA DE *Azospirillum brasilense*

Melina Amenta (1)*, Guillermo Maroniche (1,2), Lorenzo Lamattina (2,3), Cecilia Creus (1)

(1) FCA, UNMdP, Balcarce, Argentina. (2) CONICET, Argentina. (3) IIB, UNMdP, Mar del Plata, Argentina.

Azospirillum brasilense es una rizobacteria de vida libre capaz de promover el crecimiento de una amplia variedad de especies vegetales. Las hemoglobinas truncadas (trHb) son pequeñas proteínas que pueden ser clasificadas en tres grupos filogenéticos (I, II y III) y que han sido implicadas en el sensado, almacenamiento y/o transferencia de O₂, y en la protección frente a estrés oxidativo y nitrosativo. Previamente hemos identificado en el genoma de *A. brasilense* Sp245 un gen que codifica para una potencial hemoglobina truncada (AztrHb) cuya expresión responde a estrés salino. Los objetivos de este trabajo fueron: (i) clasificar filogenéticamente AztrHb, (ii) determinar si la respuesta en la expresión de *aztrHb* al estrés salino está conservada en otros representantes de la especie y (iii) analizar el contexto genómico de *aztrHb* en *A. brasilense*. Para contrastar los objetivos propuestos (i) se construyó un árbol filogenético de máxima verosimilitud con 56 secuencias de aminoácidos correspondientes a trHbs; (ii) se cuantificaron, mediante RT-PCR semicuantitativa, la abundancia de transcritos de *aztrHb* en cultivos de *A. brasilense* Sp245, Sp7 y Az39 tratados o no con NaCl 350 mM; y (iii) se realizó un análisis comparativo *in silico* de las regiones regulatorias del gen en las tres cepas estudiadas. Las secuencias analizadas se distribuyeron en tres ramas bien definidas que representan los tres grupos de trHbs señalados previamente. AztrHb se agrupó con el linaje de las TrHbIII. Asimismo, se identificaron ortólogos de AztrHb en todos los genomas secuenciados del género *Azospirillum*, entre ellas, las cepas Sp7 y Az39 de *A. brasilense*. Por otra parte, los niveles de transcritos de *aztrHb* se incrementaron por tratamiento con NaCl en las tres cepas de *A. brasilense*. Sin embargo, en Sp7 y Az39 la magnitud de la inducción fue mucho menor (aproximadamente 3 veces) que la registrada en Sp245 (aproximadamente 10 veces). En este sentido, se identificó la presencia de un elemento de ADN móvil en el genoma de Sp245 proveniente de un bacteriófago, que al insertarse en el extremo 5' del gen globina habría modificado el codón de iniciación y las secuencias regulatorias del mismo. Los resultados obtenidos sugieren que el gen trHbIII fue adquirido por *Azospirillum* previo a la diversificación en especies. Asimismo, se ha demostrado que, si bien las secuencias regulatorias difieren entre las cepas de *A. brasilense* estudiadas, existe al menos un mecanismo de control de la expresión común entre ellas.

EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN INDUCIBLE POR ESTRÉS SIGMA B JUEGA UN ROL CLAVE EN LA REGULACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTI-FÚNGICA DE *Bacillus subtilis*.

Marco Bartolini (1)*, Marcos Francisco (1), Sebastián Cogliati (1), Victoria Boselli (1), Celina Lobais (1), Victoria Clementi (1), Roberto Grau (1)

(1) Laboratorio de Microbiología- Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Rosario, Argentina.

Bacillus subtilis es una bacteria promotora del crecimiento de plantas (PGPR) capaz de sintetizar diferentes polipéptidos con actividad antifúngica. En la rizósfera, *B. subtilis* se encuentra expuesto a una gran variedad de condiciones estresantes y la respuesta más notable de esta bacteria PGPR frente a estas es la inducción de alrededor de 200 genes requeridos para la adaptación general estrés, todos ellos dependientes, directa o indirectamente, de Sigma B. La actividad de Sigma B se encuentra altamente regulada por una compleja cascada de señalización a través de al menos tres vías principales que responden a tres clases de estrés diferentes: ambiental, energético y térmico. La pérdida de Sigma B lleva a un aumento notable de la sensibilidad a tales tipos de estrés. Una comprensión integral de esta respuesta al estrés es esencial tanto para la fisiología bacteriana y para la microbiología aplicada. En este trabajo se utilizaron las cepas salvaje y domesticada de *B. subtilis*, NCIB3610 y JH642, respectivamente y sus derivados isogénicos y el patógeno de maíz y trigo *Fusarium verticillioides*. Se determinó el efecto inhibitorio de las cepas de *B. subtilis* sobre el crecimiento lineal en placas de papa-dextrosa-agar (PDA) y del crecimiento en cultivos duales líquidos de *F. verticillioides*. Se midió la actividad génica como las Unidades Miller de la actividad de la β -galactosidasa para determinar la vía de señalización involucrada en la activación de Sigma B. Se realizaron ensayos de germinación *In vitro* de semillas de trigo. La cepa NCIB3610 inhibió significativamente el crecimiento de *F. verticillioides* tanto en placa como en co-cultivos en medio líquido. Las cepas de *B. subtilis* Sigma B-deficientes presentaron una marcada disminución de la actividad antifúngica. Utilizando fusiones transcripcionales reporteras (*lacZ*-) observamos que *sig B* se expresa en presencia del hongo. Midiendo la actividad β -galactosidasa de fusiones transcripcionales reporteras al promotor *ctc* (*ctc-lacZ;rsbU* o *ctc-lacZ;rsbP*) encontramos que la presencia del hongo es fundamental para la inducción de Sigma B a través de la ruta sensora del estrés energético. En los ensayos de germinación, las semillas de trigo infectadas con *F. verticillioides* fue más eficiente cuando fueron tratadas con las cepas Sigma B-competentes que las semillas tratadas con *B. subtilis* Sigma B-deficientes. En conclusión, el factor de transcripción Sigma B es crucial para la actividad antifúngica de *B. subtilis*.

CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma* spp. PROMUEVEN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE POROTO EN CONDICIONES DE DÉFICIT HÍDRICO

Marina E Battaglia (1), Veronica F. Consolo (1)*, Fernanda Covacevich (1,2)

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC-CONICET) y Fundación para la Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata, Argentina. (2) Unidad Integrada Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce, Argentina.

La producción del cultivo de poroto (*Phaseolus vulgaris*) representa una actividad tradicional de gran importancia económica que tiene como epicentro el Noroeste Argentino (NOA). El cultivo se realiza en forma extensiva y su principal destino final es la exportación; sin embargo, los efectos climáticos como la sequía son un factor limitante en su producción. Actualmente, se está considerando la utilización de inoculantes microbianos como una alternativa promisorio, no solo para promover el crecimiento vegetal, sino también que constituyan un factor relevante frente a estreses abióticos como el causado por la sequía. Los hongos filamentosos del género *Trichoderma* influyen positivamente en el desarrollo de diversas plantas y, a nivel mundial, distintas especies de este género se formulan y comercializan como agrobioquímicos. En nuestro país, el estudio y formulación de estos productos se encuentra en sus inicios y son escasos los antecedentes acerca de sus efectos sobre el crecimiento de plantas de poroto en condiciones de estrés por sequía. Con el fin de seleccionar cepas promisorias para la elaboración de bioproductos que puedan ser recomendados en la agricultura local, el *objetivo* de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en plantas de poroto, sometidas a condiciones de sequía. Se testearon tres cepas provenientes del SE de la Prov. de Buenos Aires en ensayos en cámara de crecimiento y se determinó que las cepas mostraron un efecto diferencial en el desarrollo de las plantas en condiciones de riego óptimo y de sequía. Todas las cepas mostraron un efecto positivo en la promoción del crecimiento de las plantas, observando principalmente una modificación importante en la arquitectura de la raíz tanto en longitud como en su tamaño, en condiciones óptimas de riego así como de estrés. Las tres cepas incrementaron entre 40-50% la materia seca de la parte aérea en riego, y entre 27 y 50% en sequía. Particularmente una de las cepas evidenció un incremento del 130% en el peso seco de la raíz bajo condiciones de sequía. Si bien éstos constituyen resultados preliminares en condiciones controladas, se ha puesto en evidencia la potencialidad de la asociación *Trichoderma*-poroto, por lo que deberían evaluarse estrategias de incorporación de este bioproducto como herramienta para sostener la producción del cultivo aún en condiciones de estrés hídrico.

**EVALUACIÓN DE LA INOCULACIÓN A LA SIEMBRA CON DIFERENTES HONGOS
PROMOTORES DEL CRECIMIENTO COMO BIOINSUMOS EN PLANTAS DE PIMIENTO
(*Capsicum annuum* L.)**

Valeria Bernardo (1), Sebastián Garita (2), Juan Ripodas (2), Matías Gonzalez (2),
Cecilia Arango (2), Mario Saparrat (2,3), Marcela Ruscitti (2,4)*

(1) Comisión de Investigaciones Científicas CICBA, La Plata, Argentina. (2) Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE-CONICET) FCAyF, UNLP, La Plata, Argentina. (3) Instituto Spegazzini, FCNyM, UNLP, La Plata, Argentina. (4) ECANA – UNNOBA, Junín, Argentina.

Los cultivos hortícolas, a campo y bajo cubierta, son afectados por diversos estreses, enfermedades y plagas que con frecuencia son controlados por los productores utilizando fertilizantes y fitosanitarios. Esta práctica genera un riesgo para la población que consume estos productos alimenticios. Actualmente existe una preocupación de los consumidores, sobre los residuos de agroquímicos que están presentes en las hortalizas que se comercializan y consumen. Como resultado de esto se han comenzado a desarrollar productos biológicos destinados a promover el crecimiento de las plantas y a controlar enfermedades y /o plagas. Estos bioinsumos contribuyen a una producción sustentable permitiendo lograr alimentos inocuos para el hombre y el medio ambiente, otorgando además valor agregado, aunque poco se sabe sobre la formulación y el uso práctico de los productos biológicos en los cultivos hortícolas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación con diferentes hongos benéficos en la promoción del crecimiento inicial de plántulas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Las semillas se colocaron en *speedling* de 72 celdas con sustrato constituido por tierra y turba. A la siembra se incorporaron independientemente diferentes hongos a través de la aplicación de una enmienda orgánica (EO) previamente colonizada con *Paecilomyces lilacinus* o *Pleurotus ostreatus* o suplementada con propágulos de *Rizophagus intraradices* (20% vol/vol), incluyendo un control constituido con EO estéril. A los 50 días de la siembra se determinó: altura, número de hojas, área foliar, longitud de raíz, peso seco aéreo y de raíz, contenido de clorofila total, carotenos y proteínas solubles. Se observó que la inoculación con todos los hongos estudiados incrementó significativamente ($p < 0,05$) el área foliar, el peso seco aéreo y de raíz y el contenido de proteínas solubles, respecto al control. En el resto de los parámetros evaluados, si bien se observó la misma tendencia, las diferencias no fueron significativas. De los hongos empleados, *P. lilacinus* ejerció el mejor efecto, seguido por *P. ostreatus* y *R. intraradices*. La inoculación con hongos promotores del crecimiento a la siembra puede ser una estrategia práctica para que el productor de hortalizas maximice el crecimiento de los plantines sin el agregado de agroquímicos, conduciendo a un sistema de producción sustentable que genere alimentos de calidad.

EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE *Pseudomonas* sp. FRENTE A PATÓGENOS FÚNGICOS POR COMPUESTOS DIFUSIBLES Y VOLÁTILES

María P. Borrajo (1,2)*, Guillermo Maroniche (1), Erika Wolski (3), Cecilia Creus (2)

(1) CONICET, Mar del Plata, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias UNMdP, Balcarce, Argentina. (3) Facultad de Ingeniería UNMdP, Mar del Plata, Argentina.

Pseudomonas spp. resulta de interés para ser estudiada como agente de biocontrol de enfermedades ya que son bacterias ubicuas en suelos agrícolas que producen una amplia variedad de metabolitos bioactivos. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Pseudomonas* sp. frente al crecimiento de los patógenos *Fusarium* sp. (Fs), *Botrytis cinerea* (Bc) y *Rhizoctonia solani* AGG (Rs). Las cepas sujetas a estudio fueron *Pseudomonas putida* LSR1, *P. fluorescens* MME1, *P. fluorescens* MME3, *P. putida* MTR4, *P. fluorescens* TAE4, *P. fluorescens* TAR5 y *P. fluorescens* ZME4. Como control positivo se utilizó la cepa de referencia en biocontrol *P. protegens* CHA0, y como control negativo solución salina estéril. Las bacterias se crecieron en caldo nutritivo a 30°C hasta fase estacionaria tardía y se ajustó la concentración de las suspensiones a 10⁹ UFC/ml con solución salina estéril. La evaluación de metabolitos difusibles se realizó por confrontación de cultivos en agar papa glucosado (APG), colocando en el centro de la placa un disco de patógeno en activo crecimiento (Ø 6 mm) y hacia los cuatro extremos 10 µl de suspensión bacteriana sujeta a estudio. La producción de sustancias antimicrobianas volátiles se evaluó enfrentando y sellando con Parafilm dos bases de caja de Petri, conteniendo una de ellas la cepa de *Pseudomonas* (50 µl) y la otra el patógeno. En todos los casos se incubó a 25°C, el crecimiento micelial de Rs y Bc se registró a los 3 días mientras que para Fs se requirió un día más. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de crecimiento del patógeno. Al evaluar los metabolitos difusibles, TAE4 registró el mayor valor de inhibición para Rs (28%), mientras que para Bc alcanzó valores similares a los de CHA0 y MME3 (entre 43 y 36%). El crecimiento de Fs fue menor en los enfrentamientos con CHA0 (17,6%), ZME4 (15,9%) y MME3 (14,4%). La producción de volátiles de TAE4, CHA0, MME1 y MME3 inhibió marcadamente el crecimiento de Rs y de Bc, alcanzando valores superiores al 80%. En general la inhibición fue menor para Fs, registrándose valores máximos de 48 y 46% para TAE4 y MME1 respectivamente. Los resultados *in vitro* sugieren que *P. fluorescens* TAE4 presenta buena aptitud para ser aplicada como agente de control biológico tanto por su producción de metabolitos difusibles como volátiles.

EVALUACIÓN A CAMPO DE UNA BACTERIA SOLUBILIZADORA DE FOSFATO COMO POTENCIAL INOCULANTE PARA SOJA

Marina Caballero (1)*, Analía Sannazzaro (1), Gustavo Ferraris (3), Mariano Cicchino (2), Matías Bailleres (2), Edgardo Jofré (4), Fernando Pieckenstain (1), Nazareno Castagno (1), Daniela Medeot (4), Silvia Ledesma (5), Rodolfo Mazzoni (5), María Julia Estrella (1,6)

(1) Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH), Chascomús, Argentina. (2) Estación Experimental Integrada Chascomús (INTA-MAIBA), Chascomús, Argentina. (3) Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino, Pergamino, Argentina. (4) Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina. (5) Fragaría SRL, Villa Cañas, Argentina. (6) CIC, Buenos Aires, Argentina.

El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son nutrientes esenciales que se encuentran en cantidades subóptimas en el suelo y limitan el crecimiento de las plantas. En el cultivo de soja, la demanda de N se satisface principalmente con la aplicación de biofertilizantes basados en microorganismos fijadores de N del género *Bradyrhizobium*. Recientemente se han comenzado a desarrollar biofertilizantes basados en bacterias solubilizadoras de fosfato, pero los mismos se basan en un rango muy acotado de cepas. Esto puede resultar en deficiencias en la supervivencia y en la eficacia de estos biofertilizantes dependiendo de la región donde se apliquen. Para superar este problema, hemos avanzado en el estudio de diversas bacterias solubilizadoras de fosfato provenientes de distintos suelos sojeros. En estudios previos hemos seleccionado cepas candidatas para la producción de biofertilizantes. En este trabajo se evalúa a campo la respuesta del cultivo de soja a la inoculación con *Pseudomonas rhodesiae* (Pr670), una bacteria solubilizadora de P aislada de suelos sojeros de Santa Fe, bajo dos niveles de fertilización fosforada. Se realizaron evaluaciones en suelos con bajos niveles de P en Pergamino, Chascomús y Wheelwright. El ensayo se realizó en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones y siete tratamientos: 2 dosis del aislamiento Pr670, un control de referencia (cepa comercial) y un control negativo (sin inocular). A su vez, cada tratamiento se evaluó en presencia y ausencia de fertilizante químico fosforado. Todos los tratamientos fueron inoculados con *B. japonicum* E109. Se evaluó porcentaje de emergencia, porcentaje de nodulación y rendimiento. En las tres regiones evaluadas se obtuvieron rendimientos diferentes, destacándose en general, los obtenidos con los tratamientos doble dosis de Pr670, respecto de los otros tratamientos. Sin embargo solamente en Wheelwright se observaron diferencias significativas entre el tratamiento doble dosis de Pr670 que duplicó el efecto del fertilizante químico. Los tratamientos con Pr670 tuvieron un efecto positivo sobre el rendimiento de soja independientemente de la presencia de fertilización fosforada. Es de destacar que en dichos tratamientos se observó un incremento en el número de nódulos, lo cual sugiere que la inoculación con Pr670 tiene un impacto positivo sobre la nodulación.

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO POR *Trichoderma* spp. Y SU EFECTO PROMOTOR DE CRECIMIENTO EN CITRANGE TROYER [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliata* (Raf.)]

Franca Carrasco (1)*, Bustos Eduardo (2), Francisco Villalobos (3), Sebastián Fracchia (4), César Matías (1)

(1) Estación Experimental Agropecuaria Catamarca (EEA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Valle Viejo-Catamarca. (2) Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Catamarca (UNCA), Catamarca, Argentina. (3) Innovaciones Tecnológicas Agropecuarias S.A. (INTeA), Argentina. (4) Centro Regional de Investigaciones Científicas y Transferencia Tecnológica La Rioja (CRILAR), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), La Rioja, Argentina.

El uso de plantas Citrange Troyer como portainjerto está ampliamente difundido. Las diferentes especies injertadas sobre citrangeres producen plantas vigorosas, de tamaño intermedio, productivas y con alta calidad de fruta. Las plantas producidas en condiciones de almácigo deben ser aptas para asegurar la pérdida de la menor cantidad de individuos en el momento del trasplante y posterior injerto. Algunas especies de *Trichoderma* son capaces de establecer relaciones beneficiosas con las plantas como la promoción de crecimiento a través de la producción de ácido indol-3-acético (AIA). La síntesis de este compuesto puede modificar la arquitectura normal de la raíz, generar mayor masa radicular y favorecer la captación de nutrientes y agua. Este beneficio resulta de interés cuando se trata de producir portainjertos vigorosos. Los objetivos de este trabajo fueron identificar cepas de *Trichoderma* con capacidad de producir AIA y cuantificar su efecto en el crecimiento del portainjerto Citrange Troyer. Se trabajó con 40 cepas de *Trichoderma* provenientes de diferente origen. La producción de indoles de cada cepa se evaluó por reacción colorimétrica y lectura del AIA producido en espectrofotómetro a 530 nm. Las cepas con mayor valor de AIA se multiplicaron en medio de cultivo e inocularon en las semillas de Citrange Troyer mediante riego de suspensión de esporas de 1×10^7 conidios/ml. Se determinó porcentaje de materia seca total (MST), aérea (MSA) y radicular (MSR), a una altura de 20 cm aproximadamente, coincidente con la medida adecuada para trasplante. Los datos de producción de indoles, MST, MSA y MSR, se sometieron a un ANOVA y posterior comparación de medias por Test de Tukey ($p \leq 0,05$). De las 40 cepas evaluadas, 14 produjeron AIA mostrando diferencias significativas en su contenido siendo las cepas 5, 6, 17 y 35 las que presentaron concentraciones mayores a 18 $\mu\text{g/ml}$. Las cepas 5 y 6 evidenciaron un incremento significativo de MST igual a 76.67 y 78.25% respectivamente en comparación al testigo cuyo valor medio fue de 64.05%. Las cepas 5 y 6 mostraron valores similares de MSR (38.24 y 39.30%, respectivamente) representando al 50% del total de MS. En relación a las cepas 17 y 35 no se evidenció diferencias significativas con respecto al testigo. La producción de AIA por cepas de *Trichoderma* es variable tanto en presencia como en concentración. Asimismo, no todas las cepas que producen AIA son capaces de promover el crecimiento de las plantas.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS ANTIFÚNGICAS DE *Bacillus* spp. DE SUELO NO RIZOSFÉRICO Y RIZOSFÉRICO ASOCIADO A PLANTAS DE INTERÉS AGRONÓMICO

Alejo Casal (1,2), María D. Pizarro (3,4), Pamela B. Barengo (3), Mariano Torres Manno (1), Silvia Toresani (5), Christian Magni (1,2), Lucas D. Daurelio (3,4), Martín Espariz (1,2)*

(1) Laboratorio Fisiología y Genética de Bacterias Lácticas, FCByF, UNR, Rosario, Argentina. (2) IBR-CONICET, Rosario, Argentina. (3) LIFIBVe, Cátedra de Fisiología Vegetal, FCA, UNL. Esperanza, Argentina. (4) CONICET, Argentina. (5) Facultad de Cs. Agrarias, UNR. Zavalla, Argentina.

Las rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) colonizan las raíces de las plantas, promoviendo su crecimiento y actuando como antagonistas de patógenos. En Argentina el trigo es un cultivo de gran importancia económica siendo sus derivados fundamentales para la canasta básica alimentaria. El objetivo del presente trabajo fue comprender la diversidad de las cepas de *Bacillus* antagonistas de patógenos que interactúan con las plantas de trigo y generar un reservorio de las mismas. Para ello se realizaron aislamientos de dos cultivos de trigo sembrados en parcelas de la Estación Experimental de la FCA de la UNR (Zavalla), en agosto del año 2017, sembrados uno sin y el otro con aplicación de fungicidas y fertilizantes nitrogenados (Trigo no-FN y Trigo FN, respectivamente). La muestra para cada lote consistió en un pool de 4 sub-muestras provenientes de 4 sectores deferentes del lote. Sobre las mismas se procedió al separado del suelo rizosférico del no rizosférico y posteriormente se hizo recuento de bacterias totales y esporas. El efecto rizosférico determinado fue de 10 ± 7 y 4 ± 2 % para Trigo FN y no-FN, respectivamente (media \pm ds, n=3). El porcentaje de esporas sobre el total de microorganismos para suelo rizosférico y no rizosférico del cultivo Trigo FN fue 50 % mientras que para los suelos no-FN fue de 70% y 90%, respectivamente, indicativo de que el agregado de agroquímicos modificó las proporciones poblacionales de microorganismos. Además determinamos que de 850 cepas gram-positivas y formadoras de esporas analizadas un 35% mostraron capacidad antagónica contra el fitopatógeno *Fusarium graminearum*. Dentro de estas se han seleccionado 100 muestras rizosféricas y 26 de suelo no rizosférico para realizar los ensayos de RAPD. En base a los perfiles estudiados, su morfología y su actividad antifúngica se seleccionaron 12 cepas a la que se determinó la secuencia del gen 16S ribosomal determinándose que pertenece al género *Bacillus* y a la especie *B. cereus*, *B. megaterium* o *B. aryabhatai*. Estas dos últimas especies comparten más de 99% de identidad por lo que se definió un marcador molecular de mayor resolución utilizando la información de 105 genomas de cepas de especies relacionadas. Este trabajo permite comprender en mayor profundidad como afecta el tratamiento de los cultivos en la composición de las especies de *Bacillus* asociadas en los cultivos de Trigo en pos de mejorar el diseño y uso de las mismas como curasemillas biológicas.

INCREMENTO DE ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS EN PLANTAS DE MAÍZ INOCULADO CON *Azospirillum brasilense* Y SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO

Elda Mabel Casanovas (1)*, Lorenzo Lamattina (2), Carlos Barassi (1)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), Balcarce, Argentina.

(2) Instituto de Investigaciones Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas (UNMdP), Mar del Plata, Argentina.

Los efectos primarios de la salinidad generan desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (EAO) y su neutralización por mecanismos antioxidantes, dando lugar a estrés oxidativo secundario. El sistema antioxidante vegetal incluye componentes enzimáticos y no enzimáticos. Resultados preliminares indican que la inoculación de maíz con la bacteria *A. brasilense* Sp 245 mitiga los efectos deletéreos del estrés salino, con menor daño oxidativo y mayor capacidad antioxidante (AA). Con el objetivo de estudiar si esta mayor AA descrita en plantas inoculadas con *A. brasilense* en condiciones de salinidad, se asocia a incrementos de contenidos de compuestos antioxidantes, se inocularon semillas de maíz dulce (*Zea mays*, var. *Saccharata* híbrido Sentinel) con 10⁹ células de *A. brasilense* Sp245/semilla (I) o buffer fosfato (C). Se sembraron en contenedores de 330 cm³ y se colocaron en cámara de crecimiento (25°C, 12 horas de fotoperíodo). Se irrigó por capilaridad con soluciones 0, 50 ó 100 mMol/m³ de NaCl. Quince días después de la siembra, se determinaron los contenidos de clorofila (Chl), carotenoides (Car), flavonoides (Fv) en parte aérea (PA) y ascorbato (Asc), en PA y raíces. La inoculación incrementó el contenido total de Chl en las plantas I en todos los niveles de salinidad estudiados. El contenido de Car, fue superior en las plantas I con respecto a las C, en salinidad. La salinidad no afectó el contenido de Car en las plantas C y en las I lo disminuyó. Los Car contrarrestan el daño foto-oxidativo al secuestrar el oxígeno singlete e interrumpir la cadena de auto-oxidación lipídica. El contenido de Fv fue superior en las plantas I dentro de cada nivel de salinidad. Se ha reportado que los Fv constituyen un sistema secundario de captación de EAO en plantas expuestas a condiciones de estrés. El contenido de Asc disminuyó marcadamente en las plantas estresadas. Dentro de cada nivel de salinidad, las plantas I presentaron contenidos de Asc significativamente superiores que las plantas C, en PA y raíces. El Asc interviene en el sistema antioxidante celular pudiendo eliminar directamente superóxido, radicales hidroxilos, oxígeno singlete y H₂O₂. Los resultados benéficos de la interacción con *A. brasilense*, referidos a menor daño oxidativo y a incrementos en el crecimiento y en la AA en plantas de maíz I en condiciones de salinidad, se asociarían a mayores concentraciones de compuestos con AA en las plantas I reportados en el presente trabajo.

LA INOCULACIÓN CON *Azospirillum brasilense* MEJORA LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO Y ACTIVA EL SISTEMA ANTIOXIDANTE EN MAÍZ

Elda Mabel Casanovas (1)*, Lorenzo Lamattina (2), Carlos Barassi (1)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), Balcarce, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas (UNMdP), Mar del Plata, Argentina.

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 condiciones desfavorables, como la salinidad. El estrés salino genera desequilibrios en el estado iónico y nutricional, sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (EAO) y pérdida de productividad. La activación del sistema antioxidante vegetal permite captar el exceso de EAO, disminuyendo la peroxidación lipídica y el daño oxidativo. Se ha demostrado que *Azospirillum* spp., la rizobacteria promotora del crecimiento vegetal más estudiada, es capaz de aliviar algunos de los efectos negativos de diferentes tipos de estrés abiótico en una amplia gama de especies vegetales. El objetivo de este trabajo fue estudiar si la mejor respuesta a la salinidad en plantas de maíz provenientes de semillas inoculadas con *A. brasilense*, se asocia a efectos sobre el sistema antioxidante del vegetal. Las semillas de maíz dulce (*Zea mays*, var. *Saccharata* híbrido Sentinel) se esterilizaron superficialmente y se inocularon con 10⁹ células de *A. brasilense* Sp245/semilla (I) o buffer fosfato. Las semillas se sembraron en contenedores de 330 cm³, los cuales se colocaron en cámara de crecimiento (25°C, 12 horas de fotoperíodo). Se irrigó por capilaridad con soluciones 0, 50 ó 100 mMol/m³ de NaCl. Quince días después de la siembra, se determinaron: peso seco (PS), actividad antioxidante (AA) - actividad secuestrante del DPPH- y daño oxidativo - niveles de acumulación de malondialdehído (MDA)-, en parte aérea (PA) y raíces. La salinidad disminuyó el PS en PA y raíces, y la inoculación revirtió este efecto. La capacidad secuestrante del radical DPPH, se incrementó por el factor inóculo en todos los niveles de salinidad. El contenido de MDA, indicador de peroxidación lipídica, se incrementó con el estrés salino y este incremento fue significativamente menor en las plantas I. La mayor capacidad antioxidante, tanto en condiciones sin estrés como en ambos niveles de estrés salino, serían concordantes con el menor daño oxidativo detectado en las plantas I. En base a estos resultados la inoculación de maíz con la bacteria *A. brasilense* Sp 245 mitigó los efectos del estrés salino, observándose un mayor crecimiento de la PA y de las raíces en las plantas I sometidas a salinidad, asociado a un menor daño oxidativo y a una mayor AA indicada por incrementos en la capacidad secuestrante del radical DPPH en las plantas I.

CAPACIDAD PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES Y *Trichoderma* sp. NATIVOS DE SISTEMAS ALTERNATIVOS AL MONOCULTIVO DE SOJA

Jacqueline G. Commatteo (1,2), Pablo A. Barbieri (2), V. Fabiana Consolo (3),
Fernanda Covacevich (2,3)*

(1) ANPCyT-INTA, Balcarce, Argentina. (2) INTA Balcarce, Argentina. (3) INBIOTEC (CONICET)– FIBA Mar del Plata, Argentina.

La implementación generalizada del monocultivo soja en la región Pampeana argentina de la última década ocasionó deterioro de propiedades edáficas relacionadas con la salud del suelo, tales como disminución de los contenidos de materia orgánica (MO). En este sentido, se está evaluando la incorporación de cultivos de cobertura (CC) y rotaciones de cultivos como alternativas al monocultivo, tendientes a mejorar la calidad de los suelos agrícolas. Se desconoce si estos manejos alternativos pueden modificar la microbiota edáfica, particularmente a favor de microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PCV) tales como los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) o los del género *Trichoderma* spp. Nuestro objetivo fue evaluar la capacidad PCV por la inoculación individual o conjunta de HMA y *Trichoderma* sp. nativos de sistemas alternativos al monocultivo de soja. Para ello, se seleccionaron aislamientos de consorcios de HMA y conidios de *Trichoderma* sp. provenientes de sistemas de rotación (Soja/CC-Maíz-Trigo) presentando trigo (T) en el año de estudio e inclusión de CC al cultivo de soja pertenecientes a un ensayo de larga duración instalado en la EEA-INTA Balcarce, que evidenciaron la capacidad de crecer en co-cultivo *in vitro*. Plantas de tomate fueron crecidas durante 45 días (12:12 hs L/O, 25°C) luego de lo cual se evaluó el crecimiento, la colonización micorrícica y la abundancia de *Trichoderma* sp. ante diferentes tratamientos (4 repeticiones): Sin inoculación (NI); inoculación individual o dual con consorcios provenientes de los sistemas CC y T según se detalla: HMA/T, *Trichoderma*/T, HMA+*Trichoderma*/T; HMA/CC, *Trichoderma*/CC, HMA+*Trichoderma*/CC. La inoculación individual con HMA y con *Trichoderma* sp. incrementó el crecimiento aéreo y radical de las plantas. Las plantas inoculadas con HMA presentaron niveles de colonización radical superiores en un 40-50% respecto a las plantas NI. La abundancia de colonias de *Trichoderma* sp. fue superior en un rango del 241-266%, 766-882% y 491-516% en el suelo de las macetas inoculadas con HMA, *Trichoderma* sp. y ambos inóculos, respectivamente; en relación a la cuantificada en los sustratos de los tratamientos NI. No se evidenció sinergismo en la promoción de crecimiento ni en la colonización micorrícica por la inoculación dual, por lo que se sugiere profundizar estos estudios para determinar si dicho efecto sinérgico podría cumplir un rol importante en la protección vegetal frente a patógenos.

EFFECTO DE *Azospirillum brasilense* EN LA PRODUCCIÓN DE PLANTINES DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.) EN DOS SISTEMAS HIDROPÓNICOS DE CULTIVO

Gabriela Di Barbaro (1)*, Melisa Giselle Rizo (1), Luís Edgardo Manenti (1), Romina Flavia Sasovsky (1), Eliana Ruth Espeche Acosta (1), Norma Karina Morales (1)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Catamarca, San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina.

Azospirillum brasilense es un bacteria PGPR (*Plant Growing Promoting Rhizobacteria*) estudiada por su capacidad de promover el crecimiento de las plantas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación con *A. brasilense* sobre la producción de dos variedades de pimiento con dos sistemas hidropónicos de cultivo, en almácigos flotantes y cultivo en bolsa. Se realizaron los ensayos con un diseño completamente aleatorizado con dos tratamientos: 1. testigo (sin inocular) y 2. inoculado con *Azospirillum brasilense*. Se trabajó con dos variedades, Pimiento de Padrón y Pimiento pimentonero variedad Trompa de Elefante. Para los almácigos flotantes se utilizaron bandejas multicelda de telgopor con sustrato Multi Pro Tierra Fértil que se colocaron dentro de cubetas plásticas con solución para hidroponía, por alveolo se sembró una semilla y se colocaron en cámara de cultivo. Para el cultivo en bolsa se llenaron mangas de polietileno negro (usados en fabricación de bolsas para vivero) de 2 m de longitud y 0,15 m de diámetro, con perlita estéril y con sacabocados se realizaron las aberturas para el trasplante de los plantines procedentes de los almácigos flotantes. En el tratamiento 2 se inoculó con el aislamiento Pi8 de *A. brasilense*, obtenido a partir de la endorizófera de *Capsicum annuum* (Pimiento pimentonero var. Trompa de elefante) con un título de 1.52×10^7 azosp/ml. Se realizó el trasplante de los plantines en las bolsas de cultivo conservando la procedencia de cada tratamiento, se llevaron a invernáculo las bolsas y se regó con solución para hidroponía. Se evaluó emergencia periódicamente, sobrevivencia y respuesta al trasplante. A los 15 días de la siembra en almácigo flotante se inició la emergencia de plántulas, registrándose diferencias significativas a favor del tratamiento inoculado en pimiento pimentonero y diferencias altamente significativas a favor del tratamiento inoculado con incrementos del 55% en pimiento de Padrón. Se obtuvieron altos niveles de sobrevivencia y se observaron plantines de mejor calidad en los tratamientos inoculados para ambas variedades. No hubo pérdidas de individuos luego del trasplante en las bolsas de cultivo para ambas variedades de las plantas inoculadas. Se concluye que la cepa Pi8 de *A. brasilense* ejerce un efecto positivo en la producción de pimiento, por lo cual la inoculación de semillas de las variedades ensayadas puede considerarse una herramienta conveniente para incrementar la producción de plantines.

COLONIZACIÓN *in vitro* DE DIFERENTES GENOTIPOS DE TRIGO POR DOS CEPAS DE *Azospirillum brasilense*

Luciana P. Di Salvo (1,2)*, Sofía Chevallier Boutell (2), Gabriela E. Tranquilli (3),
Inés E. García de Salamone (2)

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Departamento de Biología Aplicada y Alimentos, Cátedra de Microbiología Agrícola, CABA, Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Centro de Investigación de Recursos Naturales, Instituto de Recursos Biológicos, Hurlingham, Argentina.

La inoculación con bacterias PGPR es una opción económica y ecológica para aumentar la producción de alimentos. Se observaron respuestas positivas a la inoculación con *A. brasilense* en la producción de biomasa e incrementos del rendimiento de diferentes cultivos de cereales. Dado que la respuesta a la inoculación está condicionada por la interacción entre el genotipo de la bacteria y el de la planta, se plantea la importancia de comprender la base genética que controla esta interacción para diseñar estrategias de mejoramiento genético eficientes para mejorar esa respuesta. Por ello, se propuso analizar el comportamiento fenotípico de 6 genotipos de trigo inoculados con 2 cepas diferentes respecto al carácter colonización. Se realizaron 3 ensayos independientes entre sí, todos con los genotipos Catbird, Milán, Klein Proteo, Klein Chajá, UC1110 y PI610750. Las semillas fueron desinfectadas superficialmente. En el primer ensayo no se realizó ningún tratamiento de inoculación. En los otros dos, la semilla se inoculó con la cepa correspondiente, en una dosis de 20 ml/kg semilla. Los inoculantes utilizados fueron formulaciones líquidas experimentales, con $4,2 \times 10^7$ y $1,9 \times 10^7$ UFC/ml para las cepas Az39 y 42M, respectivamente. En los 3 ensayos, cada genotipo se consideró por triplicado y 10 semillas fueron incluidas en cada réplica. Las semillas se mantuvieron en cajas de Petri, en condiciones controladas, durante 7 días. Se evaluó la colonización de las raíces de 5 plántulas mediante recuento de bacterias fijadoras microaerófilas de N₂ (BFMN) en medio NFb semisólido. En el ensayo sin inoculación, el único genotipo que presentó crecimiento bacteriano en este medio de cultivo fue PI610750, demostrando que este genotipo posee BFMN endófitas. Los 6 genotipos de trigo fueron colonizados en forma similar por la cepa Az39, con un valor promedio de 8,13 log NMP/g de raíz. La cepa 42M colonizó diferencialmente un genotipo. De los 6 evaluados, 5 presentaron un recuento similar, con un valor promedio de 6,11 log NMP/g raíz, mientras que el genotipo Milán presentó un recuento menor, casi nulo, en este medio de cultivo. Estos resultados demuestran que la colonización de *A. brasilense* depende de la interacción entre genotipos bacteriano y vegetal. Este trabajo constituye el punto de partida para la identificación de los factores genéticos responsables de la colonización de las raíces, prevista en trabajos futuros.

PROSPECCIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO BAJO CONDICIONES SALINO-ALCALINAS PARA MITIGAR EL DÉFICIT NUTRICIONAL DE GRAMÍNEAS FORRAJERAS ADAPTADAS A SUELOS DE LA PAMPA DEPRIMIDA DEL SALADO

Diana Dip (1)*, Analía Sannazzaro (1), José Otondo (2), María Julia Estrella (1,3)

(1) IIB-INTECH; CONICET - UNSAM, Chascomús, Argentina. (2) INTA-Manantiales, Chascomús, Argentina.
(3) CIC, Buenos Aires Argentina.

La región de la Pampa Deprimida del Río Salado es predominantemente ganadera, siendo dependiente del recurso forrajero provisto por los pastizales nativos y pasturas implantadas. Los suelos presentan una severa deficiencia de P que limita el crecimiento vegetal. La introducción de especies como *Panicum coloratum* en estos ambientes mejora la producción de materia seca obtenida con pasturas nativas, pero con una calidad nutricional baja. La incorporación de fósforo a través de la fertilización química representa una alternativa poco eficiente dado que la mayor parte se fija al suelo y queda inaccesible. El uso de microorganismos con actividad biofertilizante resulta más eficaz que el uso de fertilizantes químicos, dado que se establece una interacción entre la planta de interés y dichos microorganismos resultando en una incorporación más selectiva del nutriente. El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias que solubilicen fosfato (BSF) bajo condiciones de estrés salino-alcalino de la rizosfera de *Sporobolus indicus* y *P. coloratum* y comparar la diversidad asociada a dichas especies. Los medios utilizados para este trabajo fueron TY y NBRIP (sujeto a modificaciones de pH y contenido de sal). La técnica de BOX-PCR fue utilizada para analizar la diversidad genética de los aislamientos. A partir de la rizosfera de plantas de *Sporobolus indicus* (nativa) y *P. coloratum* (introducida) colectadas en 3 sitios de la región en estudio con características fisicoquímicas similares, se aislaron cerca de 10^6 UFC/ml totales cultivables y se determinó que una baja proporción (5%) presentaban capacidad solubilizadora de P. Para posteriores análisis se seleccionó un total de 300 aislamientos de BSF. Del análisis de los perfiles BOX se determinó que existe gran diversidad genética entre los aislamientos de BSF. La capacidad solubilizadora de P fue evaluada en condiciones controladas y bajo estrés salino-alcalino. Se obtuvieron BSF en condiciones de estrés de pH=9 y 200mM Na, observándose que la mayor proporción de las mismas provienen de la rizosfera de la especie nativa *S. indicus*. El estudio de los microorganismos rizosféricos que se desarrollan en los suelos restrictivos, como los bajos alcalinos salinos, y que solubilizan nutrientes esenciales como P constituyen un factor clave en la investigación tecnológica destinada a la búsqueda de herramientas sustentables y eficientes para mejorar la producción forrajera en la región.

AISLAMIENTO DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DE *Helianthus petiolaris* TOLERANTES A METALES PESADOS Y PGPR UNA NUEVA PROPUESTA DE INNOVACIÓN BIOTECNOLÓGICA

Lucía Fernández (1)*, Anabel Sarán (1), Luciano Merini (1)

(1) EEA INTA Anguil, Santa Rosa, Argentina.

La explotación minera constituye una de las actividades básicas para el desarrollo económico y tecnológico de los países, pero sus externalidades negativas más relevantes aún se vinculan al deterioro, de la calidad de aguas y suelos. En este contexto, y bajo el paradigma actual de sostenibilidad que rige a esta actividad, proponemos desarrollar alternativas biotecnológicas de fitorremediación. En trabajos previos se seleccionó la especie *Helianthus petiolaris* (Girasolito de campo) en base a su tolerancia a la presencia de metales pesados y potencialidad de transferencia tecnológica a través de sus aceites esenciales, capaces de ser empleados en el control de plagas de granos almacenados. Los objetivos de este trabajo consistieron en aislar e identificar bacterias rizosféricas de *H. petiolaris* tolerantes a cadmio y plomo, y evaluar sus capacidades de promoción del crecimiento de las plantas (PGPR). El aislamiento de bacterias se realizó lavando las raíces con solución salina y solución salina/Tween 80, inoculadas en medios GY estériles suplementados con 10 mg/l Cd^{+2} o 100 mg/l Pb^{+2} . Después de varias rondas de cultivo de enriquecimiento en el medio GY con metal y posterior purificación mediante cultivo en placa, se aislaron nueve morfotipos diferentes que se identificaron taxonómicamente a partir del análisis bioquímico y la secuenciación del ARNr 16S. *Bacillus subtilis* (resistente a Pb^{2+}) y *Kosakonia radicincitans* (resistente a Cd^{2+}) fueron los microorganismos seleccionados para la determinación de las capacidades PGP, tales como la solubilización de fosfato, producción de fitohormonas (AIA), fijación de nitrógeno, producción de sideróforos y formación de biofilm en presencia y ausencia de metales. Ambos microorganismos mostraron múltiples capacidades de PGP, que influyen directamente en la dinámica de los metales pesados en el suelo (solubilización de fosfato) e indirectamente promueven el estado nutricional y el desarrollo de la raíz (fijación de N_2 y producción de AIA respectivamente). A su vez, la capacidad de formar biofilm que poseen las cepas aumenta las posibilidades de colonización de la raíz y, al mismo tiempo, ofrece una matriz “target” para el secuestro de metales. Sumando éstos resultados al potencial biotecnológico y remediador de *H. petiolaris* es posible generar proyectos de fitorremediación, destinados a resolver problemáticas socio-ambientales, haciendo uso sinérgico de esta especie vegetal y de su microflora rizosférica.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DE AMBIENTES EDÁFICOS SALINOS Y ALCALINOS SÓDICOS PARA SU POTENCIAL USO COMO INOCULANTES ADAPTADOS

Macarena Fernández (1,2), Guillermo Maroniche (1,2), Alejandra Pereyra (1), Cecilia Creus (1)*

(1) Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce, Argentina. (2) CONICET, Argentina.

La salinización de los suelos es uno de los problemas más graves a los que se enfrenta la agricultura mundial. En la Argentina hay 85 millones de hectáreas afectadas por exceso de sales y sodio. Entre las alternativas consideradas para mejorar la receptividad de estos ambientes se encuentra el agregado de enmiendas químicas y la utilización de especies forrajeras adaptadas. Aunque estas prácticas controlan en alguna medida el problema, no se ha podido realizar una recuperación efectiva de estos suelos. El objetivo del trabajo fue aislar bacterias fijadoras de nitrógeno de suelos salinos-sódicos, tipificar y caracterizar los aislamientos en su capacidad de promoción de crecimiento vegetal, con el fin posterior de reincorporarlas al suelo en forma de biofertilizantes que mejoren la implantación de especies forrajeras adaptadas. Se muestrearon suelos de zonas caracterizadas por su escasa aptitud para el desarrollo de cultivos extensivos, en tres localidades de la Provincia de Buenos Aires: Balcarce, Benito Juárez y General Villegas. Las cepas aisladas fueron identificadas molecularmente y caracterizadas *in vitro* en su crecimiento y capacidad de producir auxinas por Salkowski, sideróforos en agar-CAS, solubilizar fósforo en PKV y NBRIP, y fijar nitrógeno en NFb semisólido. La capacidad de promoción de crecimiento vegetal se ensayó inoculando semillas de sorgo (*Sorghum* spp.; 10^8 UFC/semilla) y cultivándolas en cámara a 25°C, en 80 mM NaCl o agua, 15 días. Se lograron aislar tres cepas, las cuales se denominaron 3-R, 4-R, 1-S y se identificaron como *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas oleovorans* y *Achromobacter* sp., respectivamente. Ninguna de las cepas presentó capacidad de fijación biológica de nitrógeno ni de solubilización de fósforo. La cepa 1-S presentó capacidad de producir sideróforos. Los tres aislamientos fueron capaces de producir auxinas, siendo la cepa 3-R la de mayor producción. Asimismo, la inoculación de semillas de sorgo con esta cepa promovió significativamente el crecimiento de la parte aérea y de la radical de las plántulas. No obstante, se considera de importancia esta cepa no sólo por estos resultados, sino por haber sido aislada de un suelo con $\text{pH} = 8,13 \pm 0,47$, lo cual la señala como una cepa promisoría para su uso como inoculante de plantas forrajeras en zonas bajas alcalinas, donde es necesario mejorar la sustentabilidad.

ENSAYO DE BIOCONTROL DE *Fusarium graminearum* POR *Azospirillum brasilense*

Liliana R. Galian (1)*, Diana M. Tagliatella (1), Adriana M. Salvarezza (1), Nora G. Trejo (1), Nicolás C. Marchessi (1), Gladys N. Corbalán (1), Angela P. Pezuk (1)

(1) Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Agrarias UNLZ, Lomas de Zamora, Argentina.

En la actualidad con el desarrollo de una agricultura sustentable se propone sumar para el manejo fitosanitario de los cultivos el uso de microorganismos antagonistas de los patógenos. Las bacterias del género *Azospirillum* conocidas por su capacidad de promover el crecimiento vegetal muestran algunas evidencias de ser biocontroladora de *Fusarium* sp., fitopatógeno que ataca a los cultivos de interés económico. Se propuso: (i) Evaluar in vitro el efecto de *Azospirillum brasilense* (Azo) sobre la inhibición en la colonización del fitopatógeno *Fusarium graminearum* (Fg) en los tejidos del nudo de trigo. (ii) Estudiar la interacción sinérgica y antagónica de Azo en combinación con 2 cepas de Fg aisladas a partir de semillas infectadas pertenecientes a las localidades de Tres Arroyos (Bs. As.) y Nogoyá (Entre Ríos). Para el ensayo se utilizó el cultivar Esmeralda de trigo del cual se sembraron 5 semillas desinfectadas por caja de Petri con APG por quintuplicado, en el centro se colocó un disco de 0,7 mm de diámetro de cada cepa de Fg. Se ensayaron los siguientes tratamientos: T1: Trigo sin tratar, T2: Trigo +*Azospirillum*, T3: Trigo + *Fusarium* Cepa Tres Arroyos, T4: Trigo + *Fusarium* Cepa Nogoya, T7: Trigo + *Fusarium* Cepa Tres Arroyos+*Azospirillum*, T8: Trigo + *Fusarium* Cepa Nogoya+*Azospirillum*. Se utilizó inoculante comercial de Azo. La evaluación del efecto antagónico /sinérgico de los microorganismos sobre el trigo se realizó sobre la germinación, la biomasa aérea y radicular expresados en gramos. Para la determinación de la inhibición de Azo se evaluó la colonización de Fg en los tejidos de la plantas de trigo para lo cual se colocaron segmentos desinfectados de la región del nudo sobre placas de Petri que contenían el medio APG. Los resultados fueron analizados por un ANOVA empleando el test LSD con un $p < 0.05$, para determinar la diferencias entre medias. Se demostró que hubo diferencias altamente significativas en la comparación de medias la presencia de Fg en los nudos entre los tratamientos de la misma cepa del hongo inoculado y sin inocular con Azo. En los análisis de los datos obtenidos en los parámetros de germinación y peso fresco de parte aérea no hubo diferencias significativas entre tratamientos. El tratamiento de semillas de trigo con Azo y la posterior colonización de la rizosfera y en los espacios intercelulares del tejido del nudo impidió la entrada y el crecimiento del micelio del hongo Fg.

EFFECTO DEL AGENTE DE BIOCONTROL *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 SOBRE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO ANALIZADAS MEDIANTE SECUENCIACIÓN COMPLETA DEL METAGENOMA

Mauricio Ganuza (1,2), Nicolás Pastor (1,2)*, Jessica Erazo (1,2), Claudio Oddino (3), María Marta Reynoso (1,2), Marisa Rovera (1), Adriana Torres (1,2)

(1) Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (2) CONICET. (3) Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC.

El conocimiento de los efectos de cepas fúngicas o bacterianas inoculadas en campos agrícolas sobre las comunidades microbianas nativas es de interés, con respecto a la seguridad de la introducción de microorganismos en el ambiente. En estudios previos realizados en campos experimentales con historial de carbón de maní, se evaluó el efecto protector de un bioformulado conteniendo la cepa ITEM 3636 de *Trichoderma harzianum*. La inoculación causó reducciones significativas en la incidencia y severidad del carbón. Debido a que la inoculación consiste en la aplicación de densidades de microorganismos viables y eficientes para lograr una rápida colonización de las raíces y/o la rizósfera de la planta, la misma podría inducir una perturbación del equilibrio de las comunidades microbianas del suelo, con potenciales efectos indeseables. En el presente estudio se evaluó el impacto de la inoculación con ITEM 3636 sobre las comunidades microbianas de suelos agrícolas, en ensayos a campo realizados en General Cabrera, Córdoba. Las muestras de ADN se obtuvieron a partir de suelo (pre-siembra y pos-cosecha) utilizando Powersoil DNA isolation Kit. El estudio metagenómico fue realizado en CD Genomics (USA) utilizando los cebadores 338F/806R e ITS1f/ITS2 para el análisis de diversidad de bacterias y hongos. La secuenciación se realizó con el equipo HiSeq2500 (Illumina). Se utilizó UCLUST en QIIME para agrupar las etiquetas con un 97% de similitud y generar las Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs). La cantidad de OTUs obtenidas fue similar entre todas las muestras analizadas. Los resultados de alfa y beta diversidad muestran que no hay variación entre las comunidades de bacterias y hongos. La aplicación de ITEM 3636 no alteró de manera significativa la estructura de las poblaciones de hongos y bacterias, hallazgo que refuerza la potencialidad de la cepa como agente de biocontrol, ya que no sólo disminuye la incidencia y severidad de enfermedades de interés agronómico, sino que incrementa el rendimiento del cultivo sin provocar cambios en los grupos taxonómicos de suelos agrícolas.

INOCULACIÓN DE MAÍZ CON *Azospirillum brasilense*. UN BENEFICIO FRENTE A LA SEQUÍA

Julia García (1)*, Mónica Ruiz (2), Guillermo Maroniche (3), Cecilia Creus (3), Daniela Groppa (4)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), IMYZA, Castelar, Argentina. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA San Juan, San Juan, Argentina. (3) UIB: FCA, UNMdP-EEA Balcarce INTA, Balcarce, Argentina. (4) FFyB, UBA, CABA, Argentina.

El estrés hídrico constituye una severa limitación de la productividad agrícola y el uso de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) es una tecnología alternativa para favorecer el crecimiento de los cultivos en condiciones adversas. El objetivo del trabajo fue estudiar si la inoculación de plantas de maíz con cepas de *Azospirillum brasilense* favorece su tolerancia al estrés hídrico en invernáculo y a campo. El ensayo de invernáculo se realizó con un híbrido comercial en macetas de 10 l. Los tratamientos resultaron de la combinación de dos factores; A) Inoculación: no inoculado, inoculado con Az19 e inoculado con Az39 y B) Estrés: sin estrés, estrés en V2 y estrés en V2 y en floración. Las plantas no estresadas se regaron a demanda con agua de red. El estrés en V2 se realizó suspendiendo el riego por 10 días y el de floración, durante 20 días. Se determinaron el largo, peso fresco y peso seco de la parte aérea en estadio vegetativo (V3) y el rendimiento en grano y porcentaje de plantas fértiles en madurez fisiológica. El ensayo a campo se llevó a cabo en la EEA San Juan. De acuerdo a los resultados obtenidos en invernáculo, solo se evaluó la cepa Az19. Se usaron dos líneas de maíz provenientes del programa de mejoramiento del INTA, con base en la EEA Pergamino, una sensible al estrés hídrico y otra tolerante. Se impusieron dos momentos de estrés hídrico por medio de la suspensión del riego (en floración y en llenado de granos). A cosecha se evaluaron altura de planta, número de mazorcas y rendimiento. Se realizó ANOVA y comparaciones de medias (Duncan, $p < 0,10$). Tanto en invernáculo como a campo se observó que la inoculación con Az19 disminuyó el efecto del estrés en algunos de los parámetros evaluados. En invernáculo, las plantas no inoculadas sometidas a estrés no presentaron espigas, mientras que las inoculadas con Az19 presentaron un porcentaje de plantas fértiles similar a las regadas. La Az39 presentó mejor comportamiento en condiciones normales de humedad. A campo, en el genotipo sensible, el estrés en floración redujo el rendimiento en grano en un 73% en las plantas no inoculadas mientras que en las inoculadas el rendimiento sólo disminuyó un 35% respecto al control regado. En conclusión, la inoculación con Az19 mitigó, al menos parcialmente, los efectos negativos del estrés hídrico. Este tipo de tecnología muestra gran potencial para aliviar el estrés de algunos cultivos agrícolas en zonas áridas.

EVALUACIÓN DEL EFECTO PROMOTOR DE *Burkholderia tropica* EN CEBADA EN ETAPAS TEMPRANAS DE CRECIMIENTO

Sabrina Soledad García (1), Julia García (2)*, Pamela Bernabeu (1), Santiago Vio (1), Mariana Puente (2), Maria Flavia Luna (1)

(1) Laboratorio de Microorganismos de Aplicación en Agricultura, Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CONICET-UNLP, La Plata, Argentina. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), IMYZA, Castelar, Argentina.

Para lograr una respuesta positiva a la inoculación con promotores del crecimiento vegetal, se debe lograr una eficiente colonización radicular del microorganismo. El objetivo del trabajo fue determinar la concentración óptima de inóculo de *Burkholderia tropica* MTo-293 necesaria para lograr una colonización eficiente y un efecto de promoción del crecimiento en plantas de cebada (variedad *Scarlett*) en etapas tempranas. Para ello, se realizaron dos ensayos que se condujeron en cámaras de crecimiento a 20°C y fotoperiodo de 12:12 horas de luz:oscuridad. Los tratamientos fueron 5: Testigo sin inocular y tratamientos Inoculados con 10^6 , 10^4 , 10^2 o <10 UFC/semilla. Para evaluar la colonización, las semillas se dispusieron en frascos con solución de Fåhraeus agarizada. A los 3, 10 y 15 días pos-inoculación (PI) se cuantificó la población del rizoplasma y endofítica en raíces por recuento en placa. Para determinar los efectos de promoción sobre los parámetros de crecimiento, se realizó la siembra en vasos plásticos con mezcla de arena, tierra, vermiculita y perlita estériles (3:3:3:1). A los 12 días PI las plantas se cosecharon y se midió el peso fresco de la parte aérea de las plantas (PFPA) y el peso seco de parte aérea (PSPA) y de la raíz (PSR). A los 3 días PI *B. tropica* colonizó el rizoplasma y los tejidos internos de las raíces para todas las concentraciones de inóculo excepto cuando el número fue menor a 10^2 UFC/semilla donde la colonización fue solo superficial. A los 10 y 15 días PI la colonización superficial y endofítica fue eficiente para todas las concentraciones de inóculo. Por otro lado, se observó que con la aplicación de 10^6 UFC/semilla se encontraron los mayores valores de PFPA y PSPA con diferencias significativas (ANOVA, Tukey $p \leq 0.05$) respecto al testigo sin inocular (incremento del 12 y 13%, respectivamente). No se observó respuesta en el PSR. Se concluye que la concentración de inóculo aplicada afectó la colonización endofítica de las raíces a los 3 días PI, pero a tiempos mayores *B. tropica* fue capaz de ingresar y colonizar los tejidos internos con cualquier concentración. No obstante, para obtener efectos sobre los parámetros de crecimientos fue necesario aplicar una concentración de 10^6 UFC/semilla. Esto puede deberse a que en el ensayo de promoción la colonización haya sido menor por el sustrato utilizado, o porque un número basal de microorganismos no es el único requisito para poder ejercer un efecto promotor del crecimiento.

AISLAMIENTOS DE CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma* sp. EN LA PROVINCIA DE CATAMARCA (R.A.)

González Basso, M. V. (1)* Di Barbaro, G. (1), Rearte, N. (1); Bellone, C.(2)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Catamarca. San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina. (2) Laboratorio San Pablo. San Pablo, Tucumán, Argentina.

Los hongos del género *Trichoderma* son de gran importancia debido a sus diferentes acciones, tanto de interés agrícola como industrial, entre otros. Poseen capacidad como agentes de control biológico, frente a diferentes fitopatógenos. Presentan cualidades como estimulantes del crecimiento de las plantas y mejoran la capacidad de asimilación de micronutrientes, lo que los hace muy beneficiosos para la agricultura. Se destaca también la resistencia que presentan frente a fungicidas órganoclorados. *Trichoderma* es polífaga, lo que la lleva a tener una amplia distribución, ya que posee gran capacidad de colonización y adaptabilidad, encontrándose en diferentes ecosistemas, tanto en montes naturales como cultivados, y en diferentes sustratos, en especial, materia orgánica. Además tiene capacidad de desarrollarse en hábitats con diferentes rangos de temperatura, dependiendo, cada una de estas características, de la cepa de *Trichoderma* y las condiciones en las que se desarrolla. El objetivo del trabajo fue aislar hongos del género *Trichoderma*, nativos de la provincia de Catamarca, para ser empleados como potenciales agentes de biocontrol de fitopatógenos en diferentes cultivos. Se realizaron extracciones de muestras de suelo de los primeros centímetros del perfil. En laboratorio se hidrató y esterilizó orujo de vid, para ser utilizado como sustrato para la siembra de las diferentes muestras de suelo. Las siembras fueron incubadas en condiciones controladas de luz y temperatura 28°C. Alrededor de los 10 a 15 días de la siembra se observó macroscópicamente crecimiento típico de colonias de *Trichoderma* y se confirmó la presencia de conidios y micelio característicos de este género mediante la observación con microscopio óptico. Se procedió al aislamiento de las cepas en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa estéril y luego, las colonias puras fueron repicadas para estudiar sus características y evaluar su crecimiento. Las cepas aisladas fueron identificadas morfológicamente como pertenecientes al género *Trichoderma* y se confirmó su identificación con análisis genético a nivel molecular mediante la técnica de PCR. Se aislaron e identificaron tres cepas del género *Trichoderma*, en el Dpto. Capayán, provincia de Catamarca; dos de ellas fueron aisladas de un cultivo de alfalfa, ubicado en la localidad de Coneta y la otra fue aislada de intersección entre ecosistema natural y cultivado con nogal, en la localidad de Colonia del Valle.

CONTROL BIOLÓGICO *in vitro* DE *Verticillium dahliae* Kleb. CON UNA CEPA NATIVA DE *Trichoderma* sp. AISLADA EN LA PROVINCIA DE CATAMARCA (R.A.)

Valeria González Basso (1)*

(1) Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. San Fernando del Valle de Catamarca, Argentina.

El "Control Biológico" (C.B.) es una herramienta importante como alternativa de control, orientada al manejo de agentes biológicos antagonistas, eficientes y compatibles con el ambiente, ya que no sólo contribuye con el incremento de la producción agrícola, sino que también evita la manipulación de productos químicos, nocivos tanto para seres vivos como para el medio ambiente. La importancia de éste es que modifica la manera tradicional de controlar las enfermedades, por ejemplo limitando el uso de agroquímicos, que por su composición no sólo eliminan fitopatógenos, sino también la microbiota benéfica. Esto se potenció en el último tiempo y fue relevante la concientización social sobre el deterioro del medio ambiente que conlleva beneficios por contar con alternativas de control que dan buen resultado. Es de interés estudiar el antagonismo entre diversos microorganismos, ya que la eficiencia entre microorganismos antagonistas y fitopatógenos es específica y puede ser modificada por las condiciones en las que se desarrollen. Los agentes de biocontrol poseen la capacidad de generar un efecto antagonista y competitivo, como la capacidad para segregar compuestos antifúngicos y antibióticos o también promover el crecimiento en plantas. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia antagonista de la cepa nativa de *Trichoderma* sp. frente al fitopatógeno *Verticillium dahliae*, en condiciones *in vitro*. Se realizó un ensayo con dos tratamientos, con fotoperiodos de incubación de: 16 y 8 h de luz, T1 y T2 respectivamente y temperatura controlada 28 °C, con los aislamientos de ambas cepas. Se evaluó la acción antagonista mediante: 1) la escala de Bell *et al.*, (1982), 2) crecimiento radial y 3) porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC). Los datos fueron analizados estadísticamente. Los resultados obtenidos marcaron mayor eficiencia en control biológico con el fotoperiodo de 8 h. Por lo que se concluye que las 8 h de luz actúan como factor estimulante de la actividad antagonista de *Trichoderma* sp. sobre *V. dahliae*, siendo esta una característica deseable y de interés para la agricultura sustentable. Se destaca la importancia de los aislamientos nativos, por la capacidad de adaptación a las condiciones agroecológicas preponderantes.

EL AISLAMIENTO 2A PROMUEVE EL CRECIMIENTO DE *Arabidopsis thaliana* EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO Y EJERCE UNA FUNCIÓN BIOCONTROLADORA SOBRE *Phytophthora infestans in vitro*

Cecilia E. M. Grossi (1)*, Elisa Fantino (1), Rita M. Ulloa (1,2)

(1) Instituto de Investigaciones en Biología Molecular e Ingeniería Genética “Dr. Héctor N. Torres” INGEBI-CONICET, CABA, Argentina. (2) FCEyN-DQB-UBA, CABA, Argentina.

La salinidad es uno de los factores ambientales que limitan la productividad de los cultivos. La contaminación ambiental por el uso excesivo de fungicidas para el control de enfermedades y la aparición de patógenos resistentes a sus sustancias activas ha estimulado la búsqueda de alternativas de bajo impacto ecológico. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) podrían desempeñar un papel importante tanto en la respuesta a la salinidad como en el biocontrol de patógenos. En este trabajo nos propusimos estudiar la ecología y filogenia del aislamiento 2A purificado a partir de raíces de plántulas de papa, las cuales presentaban una coloración rosada en su superficie. A partir de la extracción de ADN genómico se amplificaron por PCR las secuencias parciales de los genes *housekeeping* ADNr 16S, *recA* y *gyrB*. Las mismas fueron secuenciadas y mediante alineamientos locales en bases de datos se logró asociar al género *Methylobacterium*. Con el fin de comprobar su filogenia se realizó un análisis utilizando el software MEGA 7 donde se tomaron las secuencias correspondientes a distintas especies del género. Por otra parte, se analizó la capacidad biocontroladora mediante pruebas de confrontación *in vitro* con diferentes fitopatógenos (*Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans* y *Fusarium* sp.) observándose la reducción del crecimiento de aquellos que ingresan a la planta por tejidos del vástago. Para determinar la capacidad PGPB se efectuaron distintas pruebas *in vitro* en plántulas de *Arabidopsis thaliana* desarrollándose tanto en condiciones control (MS 0,5X) como en medio salino (suplementado con 75 mM NaCl). En todos los casos se inocularon 2 µl por plántula en el estadio de cotiledones expandidos con una suspensión bacteriana (DO₆₀₀ 0,05) y se evaluó la densidad de raíces laterales, diámetro y número de hojas de la roseta. Pudimos observar diferencias significativas de crecimiento en aquellas plántulas que fueron inoculadas con este aislamiento, tanto en el diámetro de la roseta como en la densidad de las raíces laterales (27% y 200% respectivamente a los 7 dpi). Además, frente a condiciones de estrés salino la inoculación con este aislamiento logró mitigar la caída esperada con respecto a densidad de raíces laterales. A partir de estos resultados concluimos que el aislamiento 2A es un microorganismo que combina la capacidad PGPB con la biocontroladora y que juega un rol importante en la tolerancia al estrés salino.

BACTERIAS DEL SUELO SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO, DEGRADADORAS DEL HERBICIDA GLIFOSATO Y PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Keren Hernández Guijarro (1)*, Fernanda Covacevich (1,2), Virginia C. Aparicio (1),
Eduardo de Gerónimo (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Unidad Integrada Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. Balcarce, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología-Fundación para las Investigaciones Biológicas Aplicadas. Mar del Plata, Argentina.

El uso de los microorganismos y sus funciones beneficiosas en la interacción con las plantas y el ecosistema en general, son estrategias promisorias y ambientalmente seguras como alternativas para lograr una agricultura sustentable. El presente trabajo tuvo como objetivo aislar y caracterizar bacterias del suelo con capacidad para solubilizar fósforo y tolerantes/degradadoras del herbicida glifosato, dado la alta frecuencia de detección de este compuesto en suelos agrícolas. Al mismo tiempo se evaluó la respuesta a la inoculación de las cepas promisorias para promover el crecimiento de plantas de maíz (híbrido DEKALB ®) en condiciones controladas. Se aislaron un total de 9 cepas bacterianas que solubilizaron P en un rango de 249 - 973µg/ml en medio con fosfato tricálcico. De ellas, tres cepas (P1, A2 y P12) crecieron en presencia de glifosato y lo degradaron al ser cultivadas en un medio conteniendo el herbicida como única fuente de P; la cepa P12 disminuyó la concentración inicial de glifosato en un 30% en un período de 72 horas. Las cepas fueron identificadas como Enterobacterias por secuenciación de una región del gen ADN_r 16S (géneros *Pantoea* y *Enterobacter*). Cuando estas cepas fueron inoculadas en 2 suelos de la provincia de Buenos Aires: Arroyo Corto y Líbano, P12 y A2 mostraron las mejores respuestas a la inoculación y produjeron un aumento significativo del contenido de materia aérea seca en las plantas de maíz. Estas cepas resultan promisorias como bioinoculantes y serán necesarios posteriores estudios para potenciar sus funciones en inoculaciones a campo. Este trabajo constituye el primer reporte de Enterobacterias degradadoras de glifosato aisladas de suelos argentinos.

CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *Pseudomonas* FLUORESCENTES QUE EXPRESAN EL GEN ÓXIDO NÍTRICO SINTASA (NOS) DE LA CIANOBACTERIA *Synechococcus* sp.

M Mercedes Labarthe (2)*, Guillermo A. Maroniche (1,2), Natalia Correa-Aragunde (1,3) Noelia Foresi (1,3), Lorenzo Lamattina (1,3), Cecilia M. Creus (1)

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP), Balcarce, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina.

En plantas, el óxido nítrico (NO) participa en múltiples vías de señalización tanto en las cascadas fitohormonales como en la respuesta a patógenos. Algunas rizobacterias como *Azospirillum brasilense* producen cantidades significativas de NO que impacta positivamente en el desarrollo del sistema radical de las plantas. En cambio, las *Pseudomonas* fluorescentes, que se destacan por su capacidad de biocontrolar fitopatógenos, no suelen producir este regulador. El objetivo de este trabajo fue obtener cepas recombinantes de *Pseudomonas* sobreproductoras de NO y analizar su fenotipo y efecto sobre raíces de *Arabidopsis thaliana*. Para ello, se insertó el gen que codifica para la NO sintasa (NOS) de la cianobacteria *Synechococcus* sp. PCC7335 (SyNOS) como copia única en el genoma de 5 cepas de *Pseudomonas* (*P. protegens* Pf-5 y *P. fluorescens* A506, *P. brassicacearum* Q8R1, y los aislamientos *P. fluorescens* MME3 y TAE4). Se confirmó la presencia del transgén en el genoma de las cepas recombinantes (Pf5N, A506N, Q8R1N, MME3N y TAE4N). Utilizando la sonda fluorescente DAF-2DA, específica para NO, se detectó incremento en la producción de NO en A506N y TAE4N. Todas las cepas recombinantes mostraron cambios fenotípicos respecto de la cepa salvaje. Se observó un aumento en la producción de sideróforos, determinados en agar-CAS, cambios en la movilidad del tipo “swimming” y “swarming” en agar blando, disminución en la producción de surfactantes medido por el método de colapso de gota y de exoproteasas en milk skim agar, menor capacidad de biocontrol *in vitro* sobre *Rhizoctonia solani* y cambios en los requerimientos de oxígeno para crecer en medio semisólido. Estas alteraciones fenotípicas sugieren un posible efecto regulador del NO sobre el factor de transcripción fur que controla la producción de sideróforos, y en la actividad del sistema Gac/Rsm que regula la expresión de genes de supervivencia y biocontrol. Por otro lado, ensayos preliminares con el objetivo de analizar el efecto de las cepas recombinantes sobre plántulas de *A. thaliana* Col-0 crecidas en condiciones axénicas, mostraron que las plantas inoculadas con TAE4N y A506N tienden a desarrollar raíces más largas y mayor número de raíces laterales comparado a las inoculadas con cepas salvajes. En conclusión, las cepas de *Pseudomonas* que expresan SyNOS presentan un fenotipo diferente al de las cepas salvajes, y la mayor producción de NO se corresponde con un aumento del desarrollo de las raíces de plantas inoculadas.

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN SIMPLE Y MIXTA DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL SOBRE EL CRECIMIENTO Y CONTENIDO DE FÓSFORO DE PLANTAS DE MANÍ Y MAÍZ

María Victoria Larrosa (1)*, María Soledad Anzuay (1), Liliana Mercedes Ludueña (1), Jorge Guillermo Angelini (1), Tania Taurian (1)

(1) Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina.

Argentina se encuentra entre los principales productores de maní (*Arachis hypogaea* L.) siendo el primer exportador mundial. El 95% de la producción nacional se concentra en la provincia de Córdoba, área en la cual esta leguminosa se siembra en rotaciones con el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). En los últimos años, los suelos agrícolas de esta región han sufrido deterioro y presentan déficit de nutrientes; entre los que se encuentra el fósforo. El empleo de microorganismos benéficos para mejorar la disponibilidad de nutrientes es una estrategia económica y medioambientalmente "amigable". El objetivo del presente trabajo es analizar el efecto de inoculaciones bacterianas (simples y mixtas) sobre el crecimiento y contenido de P de plantas de maní y maíz. Se realizaron ensayos de inoculación bacteriana en plantas de maní y maíz en macetas que contenían suelo del área agrícola de Córdoba. Se utilizaron inoculantes bacterianos comerciales y elaborados en el laboratorio con bacterias nativas de maní solubilizadoras de fosfato. En plantas de maní los tratamientos fueron: inoculaciones simples con las cepas: *Serratia* sp. S119 (1), *Enterobacter* sp. J49 (2), *Bradyrhizobium* sp. SEMIA 6144 (3), inoculaciones mixtas con las cepas *Serratia* sp. S119 + *Bradyrhizobium* sp. SEMIA 6144 (4), *Enterobacter* sp. J49 + *Bradyrhizobium* sp. SEMIA 6144 (5) y plantas sin inocular (6). En plantas de maíz los tratamientos fueron: inoculaciones simples con: *Serratia* sp. S119 (1), *Enterobacter* sp. J49 (2), *Azospirillum brasilense* az39 (3), *Pseudomonas fluorescens* PMT1 (4), inoculaciones mixtas con las cepas *Serratia* sp. S119 + *A. brasilense* az39 (5), *Enterobacter* sp. J49 + *A. brasilense* az39 (6), *P. fluorescens* PMT1 + *A. brasilense* az39 (7) y plantas sin inocular (8). Las plantas de maní y maíz fueron crecidas en cámara de cultivo 45 y 21 días, respectivamente y se determinó al finalizar el ensayo: longitud aérea y radical, peso seco aéreo y radical y contenido de P de la parte aérea y radical. Las plantas de maní inoculadas de manera individual con la cepa nativa *Enterobacter* sp. J49 mostraron incrementos significativos en el 80% de los parámetros analizados respecto a las plantas control. Las inoculaciones mixtas en maní no indicaron tener un efecto sinérgico sobre el crecimiento vegetal. Por su parte en los ensayos de inoculación bacteriana en maíz, el tratamiento individual con la cepa *Serratia* sp. S119 indicó un aumento significativo en todos los parámetros analizados respecto al control. Las inoculaciones mixtas de las cepas nativas *Serratia* sp. S119 y *Enterobacter* sp. J49 con *A. brasilense* az39, produjeron incrementos en el 75% de los parámetros de crecimiento vegetal analizados. A partir de los resultados obtenidos es posible concluir que las cepas nativas de maní son potenciales bio-fertilizantes para aplicar en cultivos de importancia agrícola en el área de Córdoba.

SWARMING, SWIMMING Y TWITCHING EN BACTERIAS ENDÓFITAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO

Cinthia T. Lucero (1), Graciela S. Lorda (1)*, Tania Taurian (2)

(1) FCEyN – UNLPam, Santa Rosa, Argentina. (2) FCEFQyN – UNRC, Río Cuarto, Argentina.

El efecto benéfico de bacterias promotoras del crecimiento vegetal a menudo no se evidencia cuando son inoculadas a campo, lo cual puede deberse a una colonización deficiente en la planta huésped. Las bacterias del suelo asociadas a las plantas primero colonizan la rizósfera, luego se adhieren a la superficie radical y, en el caso particular de las endófitas, finalmente infectan los tejidos internos de las plantas. La capacidad de colonización endofítica de las bacterias benéficas resulta de gran interés por las ventajas adaptativas y de supervivencia que eso conlleva, siendo la movilidad bacteriana una de las características determinantes para que la misma sea exitosa. El objetivo de este trabajo fue analizar *in vitro* los tipos de movilidad que presentan las bacterias *Serratia* sp. S119 y *Enterobacter* sp. J49, ambas solubilizadoras de fosfato y endófitas de maní. Se realizó inicialmente un análisis por microscopía electrónica a los efectos de identificar estructuras celulares involucradas en la movilidad bacteriana. Para analizar los tipos de movilidad las bacterias fueron sembradas en placas de Petri conteniendo medio TY con agar al 0.3% y 0.5% para *swimming* y *swarming* respectivamente, analizando el crecimiento en las mismas a las 72 hs. Para evaluar la movilidad *twitching* se utilizaron placas conteniendo TY con 1% de agar y tinción con Cristal Violeta luego de 96 h de crecimiento. El análisis microscópico indicó que ambas cepas poseen flagelos, estructuras relacionadas con la movilidad *swarming* y *swimming*. A partir de los ensayos en placas, fue posible observar que ambas cepas poseen los tres tipos de movilidad analizadas. Se confirmó *swimming* por el crecimiento de halos concéntricos, *swarming* se comprobó mediante un crecimiento de tipo dendrítico, mientras que *twitching* se evidenció mediante la tinción con Violeta Cristal del crecimiento bacteriano que se produjo en la interface entre el medio agarizado y la placa de Petri. El hallazgo de flagelos y las movilidades asociadas a ellos en las bacterias analizadas, así como la movilidad *twitching*, permiten inferir que las cepas colonizarían el interior de plantas por uno o más de los tipos de movilidad que presentan las mismas.

MICROORGANISMOS TOLERANTES A GLIFOSATO AISLADOS DE LA RIZÓSFERA DE SOJA (*Glycine max*) Y SUS PROPIEDADES PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL

Luis Malsenido (1,2)*, Norma Moraga (2,3), Verónica Rajal (2,3), Neli Romano-Armada (2,3)

(1) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina. (2) INIQUI, UNSa - CONICET, Salta, Argentina.
(3) Facultad de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina.

El glifosato es un herbicida usado mundialmente en la producción de alimentos. Aunque es degradado por acción microbiana, las aplicaciones reiteradas reducen el potencial degradativo de la microbiota autóctona, acumulándose así en el suelo y favoreciendo el incremento de microorganismos fitopatógenos. Por esto es de interés encontrar microorganismos que además de tolerar y degradar al herbicida en el suelo, puedan ejercer un efecto positivo en las plantas mediante propiedades promotoras de crecimiento vegetal (PGP). El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias tolerantes al glifosato, de la rizósfera de plantas transgénicas, y evaluar sus propiedades PGP en presencia y ausencia del herbicida. Se aislaron microorganismos del suelo (S) y raíces (R) de plantas de soja (*Glycine max*) tolerantes a glifosato en medio agar Recuento en Placa (PCA) con glifosato comercial (Glifoglex® e.a. 35,6% p/v) a 10 mM. Las cepas se activaron en Caldo Nutritivo (24 h a 30°C y 200 rpm) y se sembraron 3 µl de cada una por triplicado en distintos medios sólidos para determinar: viabilidad (PCA), fijación de N₂ (agar Ashby libre de N), solubilización de P inorgánico (agar Muromtsev y NBRIP), y producción de sideróforos (agar Cromo Azurol S (CAS)). Los medios se prepararon sin glifosato (SG) y con glifosato 10 mM (G10) (excepto en CAS). Los cultivos se incubaron 48 h a 30°C y se registraron las actividades como positivas o negativas. Se aislaron 118 (63 de R y 55 de S) bacterias tolerantes a G10 en PCA. Todas las cepas de R y 41 de S fijaron N₂ en medio SG, pero sólo 24 (38%) de R y 16 (29%) de S crecieron en G10. En agar Muromtsev y NBRIP SG, 51 vs. 36 cepas de R y 26 vs. 27 de S solubilizaron P, respectivamente. Sin embargo en G10, 14 cepas de cada muestra (22% de R y 25% de S) solubilizaron P en agar Muromtsev, y en agar NBRIP sólo 1 cepa (2%) de R y 5 (9%) de S mantuvieron esta propiedad en G10. En SG, 29 cepas de R y 18 de S solubilizaron P indistintamente en ambos medios (Muromtsev y NBRIP), reduciéndose a 1 de R y 4 de S en G10. En CAS SG, 62 cepas de R y 37 de S produjeron sideróforos. De las 118 cepas, sólo 1 de R y 2 de S presentaron todas las actividades PGP ensayadas sin y con glifosato. Los resultados reflejan el potencial de las cepas aisladas como promotoras de crecimiento vegetal. Sus propiedades PGP en presencia de glifosato, las tornan interesantes candidatas para futuros estudios de degradación, interacción planta-microorganismo y biorremediación de suelos.

DISECTANDO LA INTERACCIÓN ENTRE *Azospirillum brasilense* Y *Pseudomonas* fluorescentes

Guillermo A Maroniche (1,2)*, Claudio F. Valverde (1,3), Cecilia M. Creus (2)

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP, Balcarce, Argentina. (3) Departamento de Ciencia y Tecnología, UNQ, Quilmes, Argentina.

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal de los géneros *Azospirillum* y *Pseudomonas* son utilizadas comercialmente en inoculantes agrícolas por sus propiedades para mejorar la sanidad y el rendimiento de los cultivos. Sin embargo, su combinación no siempre produce resultados superiores sino que depende de la compatibilidad de las cepas utilizadas. Muchas *Pseudomonas spp.* secretan metabolitos con efecto antimicrobiano contra fitopatógenos pero que también pueden afectar a las bacterias benéficas presentes en la rizósfera o co-inoculadas. El objetivo del presente trabajo fue identificar determinantes que regulan la compatibilidad *Azospirillum - Pseudomonas in vitro*. Se analizó el desarrollo de colonias de *A. brasilense* Sp245 y Az39 en contacto o en proximidad de biofilms de 12 cepas de *Pseudomonas*, creciendo en medio sólido. En contacto directo, se observó un efecto inhibitorio general de las *Pseudomonas* sobre *A. brasilense*. La intensidad del efecto fue variable, dependiendo de la cepa de *Pseudomonas* utilizada y siendo *A. brasilense* Az39 más sensible que Sp245 en todos los casos. Las cepas Pf0-1, Q8r1-96, MME3 y MTR4 de *Pseudomonas* provocaron, además, una disminución del número de colonias de *A. brasilense*. Por otro lado, al interactuar a distancia se observaron efectos tanto inhibitorios como estimulatorios. La intensidad de los efectos fue dependiente de la distancia y cepa de *Pseudomonas* utilizada, siendo Pf0-1 y A506 la más inhibitoria y la más estimulatoria, respectivamente. Se observaron efectos inhibitorios más intensos en medio King's B, el cual potencia la producción de sideróforos por las pseudomonas. La participación de éstas moléculas en la inhibición sobre *A. brasilense* fue confirmada utilizando mutantes de *P. protegens* Pf-5 deficientes en la producción de pioverdina y pioquelina. En conclusión, *A. brasilense* exhibe respuestas diferenciales a la presencia de diferentes cepas de *Pseudomonas*. Se determinó la existencia de un efecto letal dependiente de contacto, ejercido sólo por ciertas cepas de *Pseudomonas*, que apunta a la participación de un sistema de secreción tipo VI. Por otro lado, se encontró que los sideróforos producidos por *Pseudomonas* son moléculas fuertemente inhibitorias para *A. brasilense*. Nuestros resultados permiten establecer posibles criterios de selección de cepas de *Pseudomonas* para mejorar el desarrollo de inoculantes mixtos con *A. brasilense*.

**EVALUACIÓN DE LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO EN PLANTAS DE TOMATE
(*Lycopersicon esculentum*) INOCULADAS CON AISLAMIENTOS SELECCIONADOS DE
Cladorrhinum spp.**

Mara Martin (1)*, Santiago Guidobono (1,2), Julia García (3), Daniela Vallejo (3),
Mariana Puente (3), Laura Gasoni (3), Mario Saparrat (1,4), Viviana Barrera (3).

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires (UBA). Laboratorio de Ecología de Poblaciones, Instituto de Ecología, Genética y Evolución, CABA, Argentina. (3) Instituto Nacional Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Castelar, Argentina. (4) Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), La Plata, Argentina.

La Agencia de Protección del Ambiente (EPA) considera prioritario la aplicación de fertilizantes de menor impacto ambiental a fin de disminuir el uso de agroquímicos. Existen datos que avalan la capacidad de diferentes microorganismos fúngicos de promover el crecimiento vegetal involucrando diferentes mecanismos. Estos hongos son conocidos con la sigla PGPF derivada del acrónimo en inglés: *Plant Growth-Promoting Fungi*. El género *Cladorrhinum* (*Lasiosphaeriaceae*, *Sordariales*, *Ascomycota*) incluye numerosas especies asociadas al suelo con el registro de un aislamiento de *C. foecundissimum* como un PGPF en remolacha y de dos de *C. samala* en algodón. El objetivo de este trabajo fue identificar aislamientos nativos de *Cladorrhinum* que promueven el crecimiento en plantas de tomate, un cultivo de importancia regional. Para ello se analizó el efecto fitopromotor de los aislamientos de referencia *C. samala* CBS 302.9 y *C. foecundissimum* CBS 180.66 y de tres cepas nativas de *C. samala* (1, 5 y 32) obtenidas de suelos de distintas regiones de Argentina pertenecientes a la colección del IMyZA. Semillas de tomate (var. platense) desinfectadas superficialmente, se colocaron individualmente en tubos conteniendo agar agua al 1,2% y se incubaron en cámara a 25°C sometidas a un fotoperíodo de 16 h hasta su germinación. En cada tubo y a una distancia de 1cm de la plántula desarrollada se colocó un disco de APG previamente colonizado con los hongos bajo estudio, realizando 10 réplicas (semillas/plántulas) por cepa y se incluyó un control sin hongo (disco no inoculado). Luego de 3 días, se realizó el trasplante a macetas con sustrato estéril de tierra, arena, perlita y vermiculita (3:3:3:1). Se realizó el ensayo como fue descrito anteriormente en condiciones de riego constante y la misma cantidad de réplicas bajo estrés hídrico (ausencia de riego). Al cabo de 30 días se midió la longitud, el peso fresco y seco del tallo, longitud de las raíces y su peso seco. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó GLS (Generalized Least Squares “Mínimos Cuadrados Generalizados”). Se observaron diferencias significativas en el peso seco de raíz de las plantas asociadas a las cepas *C. samala* 1 y *C. foecundissimum* CBS 180.66 comparado al resto de los tratamientos analizados. De acuerdo con los resultados experimentales se propone el aislamiento nativo de *C. samala* 1 como un PGPF en tomate, ya que tiene un efecto sobre la estimulación en la producción de raíces.

APLICACIÓN DE LEVADURAS NATIVAS DE PATAGONIA EN LA PRODUCCIÓN ACELGA EN INVERNADERO

M. Cecilia Mestre (1)*, Nicolas Robredo (1), Sonia Fontenla (1)

(1) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Biotecnología, UNComahue e IPATEC (CONICET – UNCo), San Carlos de Bariloche, Argentina.

La aplicación de microorganismos en sistemas de producción agrícola es común en nuestro país y existe un continuo esfuerzo de prospección de microorganismos con nuevas ventajas. En los últimos años se ha descrito características fisiológicas *in-vitro* de levaduras que pueden asociarse a la promoción del crecimiento vegetal. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación con levaduras nativas de Patagonia sobre el crecimiento de plantas de acelga arcoíris (*Beta vulgaris* var. rainbow) cultivadas en invernadero. El ensayo se llevó a cabo con 5 levaduras nativas patagónicas seleccionadas previamente por sus capacidad para producir compuestos tipo auxinas, sideróforos y solubilizar fosfato. Se utilizaron semillas comerciales de acelga comúnmente usadas en la región de Bariloche. Las semilla germinaron en vivero con sustrato mezcla turba:perlita:arena:suelo de estepa. Las plántulas se inocularon por riego con una suspensión de levaduras al momento de la aparición de las primeras hojas verdaderas y luego de 40 días se trasplantaron a suelo dentro del invernadero. Las plantas producidas se evaluaron al final del ciclo de crecimiento (3 meses). Al final del ensayo se observó un 100% de supervivencia de las plantas trasplantadas. Se observó un crecimiento variable propio de la variabilidad de las semillas. Si bien no se observaron diferencias significativas respecto del control sin inocular, existieron variaciones entre los tratamientos. Se observó un aumento de la biomasa total en las plántulas inoculadas con una levadura ascomicética capaz de producir compuestos tipo auxinas. Esta misma levadura mostró un mayor desarrollo de la parte aérea (mayor peso fresco, longitud y número de hojas), al final del ciclo de producción. La Patagonia presenta características climáticas (como por ejemplo la temperatura o las horas de luz) propias y diferentes a las áreas de producción hortícola habitual en el país. Los resultados obtenidos son alentadores respecto de la aplicación de microorganismos en la producción especies hortícolas en la región, con microorganismos adaptadas a las condiciones ambientales del lugar.

EVALUACIÓN DE LA GERMINACIÓN Y PARÁMETROS DE CRECIMIENTO EN YERBA MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) INOCULADA CON MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Sandra Molina (1)*, Ana López (2), Juan Quezada (3), Mariana Puente (4), Julia García (4), Leticia Quintana (3), Ramón Mayol (1), Patricia Schmid (5)

(1) INTA – EEA Cerro Azul, Argentina. (2) Fundación APF, Eldorado, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Forestales UNaM. Eldorado, Argentina. (4) IMyZA, INTA Castelar. Argentina. (5) INTA – EEA Montecarlo, Argentina.

La producción de plantas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) a partir de semillas presenta algunos inconvenientes como el bajo porcentaje de germinación y prolongado período para la emergencia de plántulas (3 a 12 meses). Esto provoca una germinación desuniforme, que implica contar con largos períodos de tiempo para la producción de plantas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal y su efecto sobre la germinación y posterior crecimiento en plantas de yerba mate, crecidas en invernáculo. Para este ensayo se utilizaron semillas de dos orígenes (Cerro Azul e Iguazú) y se evaluaron los siguientes microorganismos: *Azospirillum brasilense* (Cepas AZ39 y AZ72), *Pseudomonas fluorescens* (Cepa ZME4), *P. putida* (Cepa LSR1), *Trichoderma harzianum* y el consorcio *T. harzianum*+ZME4. Desde el inicio de la germinación (170 días después de la siembra) fueron evaluadas las siguientes variables: porcentaje de germinación (semanalmente), y mensualmente la longitud de la parte aérea (cm), número de hojas y diámetro a altura de cuello (mm). Al finalizar el ensayo (9 meses desde la germinación) se evaluó además longitud radicular (cm) y materia seca aérea y radicular (g/pl). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial, con 4 repeticiones. Los datos fueron sometidos a un análisis de variancia (ANOVA) y comparación de medias usando el test de Tukey. La germinación de la semilla de origen Iguazú fue muy baja, posiblemente a problemas con la conservación de la semilla. Los valores de germinación mostraron diferencias a favor de los tratamientos con ambas especies de *Pseudomonas* y una de las cepas de *Azospirillum* sp. (Az39), los cuales alcanzaron en promedio un 14% de plantas germinadas, contra un 10% en el testigo sin inocular. En todos los parámetros de crecimiento analizados, la cepa Az39 de la especie *A. brasilense*, presentó la mejor performance, aunque sin diferencias significativas con el resto de los tratamientos, e incluso el testigo. Este ensayo permitió observar una tendencia al incremento en las variables evaluadas, al inocular las plantas con bacterias del género *Pseudomonas* sp. y con *A. brasilense* Az39.

BACTERIAS ANTAGONISTAS DE *Fusarium*, PRODUCTOR DE MARCHITAMIENTO EN CRISANTEMO

Pablo A. Ojeda (1)*, Victoria N. Argüello (1), Stella Akiyama (1), Marina M. Yabar (1), Beatriz A. González (1), Betina Agaras (2), Claudio Valverde (2)

(1) Universidad Nacional de Luján, Luján, Argentina. (2) Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina.

Los marchitamientos vasculares son un problema grave en los cultivos de crisantemo de corte en el NE de Buenos Aires. Se buscó identificar al organismo causal y establecer la actividad antagónica sobre el mismo de bacterias habitantes del suelo. Se tomaron muestras de ejemplares enfermos y de raíces de plantas sanas, ubicadas en las proximidades de aquellos. El aislamiento del patógeno se realizó en agar papa dextrosado (APD), se lo identificó por morfología en medio agar-clavel y se realizaron pruebas de patogenicidad mediante inoculación de raíces del hospedante. Las bacterias con posible actividad antagónica se extrajeron mediante suspensión, dilución de suelo rizosférico en solución fisiológica estéril y posterior siembra en placas con agar nutritivo (AN) y agar suelo (AS). Este último fue elaborado con el mismo suelo de donde provenían las plantas sanas. Se repicaron 16 colonias con características fenotípicas diferenciales. La actividad antagónica se evaluó en placas con APD. Para cada cepa se sembraron 10 µl de cultivo en caldo nutritivo (CN) y a una distancia de 5 cm, 3mm de APD con micelio del patógeno. En los controles se utilizó solo CN. Se evaluaron las áreas de las colonias del hongo, las que se cuantificaron mediante el programa ImageJ. Las cepas que produjeron antagonismo fueron identificadas mediante la secuenciación del producto de PCR del gen ADN_r 16S. El patógeno fue identificado como *Fusarium oxysporum* y produjo marchitamiento en las plantas inoculadas. La inhibición fluctuó entre 31,6 y 2,6%. Entre las cepas se identificaron representantes filogenéticamente próximos a las especies *Pseudomonas taiwanensis* (O6), *P. plecoglossicida* (O8), *P. brassicacearum* (O7A), *P. flavescens* (O2), *Stenotrophomonas chelatiphaga* (O4) y *Acinetobacter oryzae* (O1). Los aislamientos que produjeron mejores resultados fueron O6 (31,6%) y O7A (28,5%). Se concluye que en suelos de cultivos comerciales existen bacterias con capacidad antagónica *in vitro* frente a *F. oxysporum*, productor de marchitamiento en crisantemo.

COMPORTAMIENTO DE AISLAMIENTOS NATIVOS RIZOSFÉRICOS DE *Azospirillum* spp. EN AGROPIRO ALARGADO (*Thinopyrum ponticum*) BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO-ALCALINO

Gabriela Portela (1,2), Nerina Villalba (1,2)*, Facundo Oliva (1,2), Eugenia García (1),
Lina Lett (1,2)

(1) Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Azul, Argentina. (2) Laboratorio Integrado de Microbiología Agrícola, Ambiente y Alimentos (LIMAyA), Azul, Argentina.

Los suelos con alta salinidad y presencia de sodio influyen negativamente en el crecimiento de los cultivos y constituyen un problema para la agricultura. En estas condiciones las especies de uso agrícola son limitadas, siendo el agropiro alargado una de las especies más tolerantes frente a estas condiciones. El suelo es el hábitat de una gran variedad de microorganismos, con importantes poblaciones beneficiosas asociadas, entre otras, se incluyen las Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR) como *Azospirillum* spp. El estudio consistió en analizar siete aislamientos rizosféricos provenientes de *T. ponticum* implantado en un suelo Natracuol típico. Para ello, se evaluaron los comportamientos frente a condiciones de estrés salino y alcalino y los potenciales usos como PGPR. Los aislamientos se catalogaron como Az 26, 27, 28, 29, 31, 32 y 33, y se confirmaron como pertenecientes a *Azospirillum* spp. con cebadores específicos. El “*fingerprinting*” mostró cinco perfiles diferentes entre sí y con respecto a los controles, por un lado, agrupó Az 26, 27 y 28 como idénticos y discriminó Az 29, 31, 32 y 33. La tolerancia a la salinidad se midió mediante recuentos en RC provenientes de cultivos en NFb modificado con diferentes concentraciones de ClNa (17 mM hasta 51 mM). El crecimiento bajo condiciones de alcalinidad se verificó con presencia de película en NFb semisólido en distintos rangos de pH (7,5 hasta 9,0). La producción de ácido indol-3-acético (AIA) se midió con el método de Salkowski en medio Burk's. Los datos de salinidad y concentración de AIA se analizaron con ANOVA y MDS con $\alpha=0,05$ para la separación de medias (InfoStat). Todos los aislamientos desarrollaron en las concentraciones de ClNa ensayadas; sin embargo, Az 29, 33 y 31 mantuvieron la máxima tasa de crecimiento hasta 51 mM con recuentos significativamente superiores. Az 31 y 33 exhibieron formación de película hasta pH 9, al igual que los controles empleados. Para la producción de AIA, los controles Sp 245 y Az 39 mostraron las máximas y significativas concentraciones, mientras que Az 33 superó a los aislamientos nativos restantes. En resumen, Az 31 y 33 resultaron superiores para el desarrollo bajo condiciones salinas y alcalinas entre los aislamientos nativos; entre estos Az 33 mostró la mayor producción de AIA. Finalmente, la cepa Az 33 exhibiría potencialidad PGPR para mejorar la implantación de cultivos de *T. ponticum* en suelos alcalino-salino-sódicos.

ESTUDIO DEL EFECTO ANTAGÓNICO DE *Gluconoacetobacter diazotrophicus* SOBRE *Ralstonia solanacearum* (AISLAMIENTO ARGENTINO) *IN VITRO* Y EN PLANTAS DE *Arabidopsis thaliana*

María V. Rodríguez (1)*, Nazarena Ansaldi (1), Analía Carrau (2), Josefina Tano (2), María L. Martínez (1), María N. Campagna (1), Matías D. Ferretti (1), Adriana Cortadi (1), Elena G. Orellano (2)

(1) Farmacobotánica, Área Biología Vegetal-CONICET, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. (2) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario-CONICET- Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. Área Biología Molecular, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.

En la actualidad existe demanda de nuevos agroquímicos que tengan bajo impacto medioambiental. *Gluconoacetobacter diazotrophicus* Pal5 (Gb) pertenece a las llamadas PGPBEs (*Plant-Growth-Promoting Bacterial Endophytes*). La asociación planta- PGPBEs ofrece beneficios a la planta hospedadora, entre los cuales se encuentra la protección contra patógenos. *Ralstonia solanacearum* (Rso) es una bacteria fitopatógena de gran importancia debido a las pérdidas económicas que origina, atacando a una gran variedad de cultivos. El objetivo del presente trabajo fue el estudio de la acción de Gb en presencia de Rso, se realizaron ensayos de competencia *in vitro* y en plantas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. durante el estrés biótico producido por la bacteria fitopatógena. Para los estudios de competencia *in vitro* placas con medio MS 1,5% (p/v) fueron sembradas con 10^4 UFC/ml de: Gb (medio LGI-p, 30°C), Rso (medio BG, 28°C) y la mezcla de ambas bacterias; se incubaron a 28°C, 72 h. El crecimiento bacteriano se analizó por recuento de UFC/ml en medio selectivo. Para los estudios *in vivo* se crecieron semillas de *A. thaliana* 14 días en medio MS 0,5X, 1,5% (p/v) sacarosa; 0,8% (p/v) agar a 22°C; 16h luz/8h oscuridad, luego se inocularon las plántulas con 10^6 UFC/ml de Gb y se aclimataron en tierra 3 semanas. Las plantas control y las plantas con el endófito se inocularon posteriormente en raíz con 10^6 UFC/ml de Rso. Se tomaron muestras 3, 6 y 9 días post inoculación (dpi) con Rso, se fijaron en FAA (50% etanol, 5% ácido acético glacial, 30% formaldehído, 15% agua), se cortaron tallos a 12 μ m de espesor y se tiñeron con safranina-fast green. Los ensayos de competencia *in vitro* a las 72 h mostraron una leve disminución del crecimiento de Rso en presencia de Gb, mientras que el crecimiento de Gb no disminuyó en presencia de Rso. A los 9 dpi las plántulas de *A. thaliana* inoculadas sólo con Rso estaban cloróticas y menos desarrolladas que aquellas inoculadas previamente con Gb. En los cortes transversales de tallo de las plantas que presentaban Gb se observó un aumento de xilema, mayor lignificación del mismo y mayor cantidad de tejido esclerosado entre los haces vasculares. A los 9 dpi con la bacteria Rso, se observó una estructura más conservada en las plantas inoculadas previamente con el endófito. Los cambios anatómicos inducidos por Gb en las plantas de *A. thaliana*, como por ejemplo mayor deposición de lignina, forman parte de la respuesta de defensa frente al estrés biótico.

REDUCCIÓN DE DOSIS DE FERTILIZANTE MINERAL FOSFATADO MEDIANTE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EN *Gossypium hirsutum*

Felipe Romero-Perdomo (1)*, Ruth Bonilla (1)

(1) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Centro de Investigación Tibaitatá – Km 14 Vía Mosquera - Bogotá, Cundinamarca, Colombia.

La excesiva aplicación de fertilizantes minerales fosfatados para la producción del algodón es una de las problemáticas que afronta el sector agropecuario en Colombia. Para responder ante esta situación, el presente estudio tuvo como objetivo estudiar si el uso de bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) reduce las dosis de fosfato diamónico para la producción de algodón. Se emplearon siete cepas (C32, C50, C103, G58A, SP20, J06 y B02) por su capacidad para solubilizar varias fuentes insolubles de fósforo (roca fosfórica, fosfato de hierro y fosfato de aluminio). Para seleccionar dos de estos siete microorganismos, se llevó a cabo una evaluación *in vitro* de su potencial para promover el crecimiento vegetal (PCV) durante 12 días. Luego, se caracterizaron mecanismos reportados en PCV y se llevó a cabo la identificación molecular mediante el análisis de la secuencia del gen 16S rRNA de las cepas seleccionadas. Finalmente, se realizó una prueba de campo para evaluar la influencia de las BSF con dosis reducidas de fosfato diamónico sobre el rendimiento de fibra (kg/ha) y calidad de mota (micro naire, longitud, uniformidad, resistencia, elongación) de la planta indicadora. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza con una prueba de HSD Tukey con significancia de 0,05. Los resultados mostraron que el efecto PCV sobre la germinación de la semilla y el crecimiento del algodón dependen de cada cepa, donde SP20 y B02 presentaron la promoción más significativa. Estas dos cepas exhibieron diversas actividades de PCV y ambas fueron identificadas como *Rhizobium* spp. En el experimento en campo, se observó que la aplicación de BSF incrementó el rendimiento ($p < 0,05$) y no afectó la calidad del algodón. Se encontró que la co-inoculación de SP20 y B02 no mejoró significativamente el rendimiento de algodón en comparación con la inoculación individual. Se evidenció que el uso de B02 combinado con 50% de DAP generó un aumento de 622 y 291 kg por ha de rendimiento de algodón en comparación con 50% y 75% de DAP como controles. Adicionalmente, B02 con 50% de DAP generó 3321 Kg ha⁻¹ en comparación con 100% (3446 kg/ha) de fosfato diamónico sin diferencias significativas. Las características promedio de la calidad de mota fueron nivel medio tanto en finura como madurez en micronaire, longitud de fibra extralarga, uniformidad regular, resistencia y elongación débil. En conclusión, la inoculación de *Rhizobium* sp. B02 permite disminuir 50% de fosfato diamónico.

AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO EN LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO DE MAÍZ

Marcela Rörig (1)*, Analía Rodríguez (1), Ileana Frasier (2), Amanda Vizgarra (3), Daniel Grasso (1)

(1) Instituto de Suelos, INTA, Castelar, Argentina. (2) INTA EEA Anguil, La Pampa, Argentina. (3) INTA EEA Este, Santiago del Estero, Argentina.

Las bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) tienen la capacidad de solubilizar P insoluble a formas asimilables, incrementando de esta manera la disponibilidad de fósforo para las plantas. En este trabajo se aislaron bacterias BSF a partir de la rizósfera de cultivos de interés agronómico con el objetivo de evaluar su capacidad de promover el crecimiento en plántulas de maíz bajo condiciones controladas. Las BSF se aislaron mediante la técnica de dilución en placa en medio agar NBRIP. Los aislamientos más eficientes fueron analizados molecularmente mediante Rep-PCR utilizando los oligonucleótidos BOX y ERIC. Las imágenes obtenidas fueron analizadas con el programa informático BioNumerics®. Los aislamientos representativos de cada patrón se analizaron mediante secuenciación del 16S rDNA amplificado por PCR. Se seleccionaron dos aislamientos, *Pseudomonas koreensis* y *Paenibacillus pabuli* para cuantificar el P soluble y la actividad fosfatasa ácida *in vitro* y su efecto promotor de crecimiento en maíz. Asimismo, se verificó la presencia del gen *pqqE* en ambos aislamientos. Los dos aislamientos ensayados y el tratamiento co-inoculado mostraron actividad solubilizadora de P *in vitro* superiores a los 300 µgP/ml. La solubilización de P en *P. koreensis* estuvo explicada por la mineralización de P orgánico a través de la actividad de la enzima fosfatasa y por la liberación de ácido glucónico que se corroboró con la presencia del gen *pqqE* en el aislamiento, que provocó la rápida acidificación del medio de cultivo. Sin embargo, en *P. pabuli* no se lograron identificar los mecanismos de solubilización de P. La inoculación de maíz con la combinación de aislamientos incrementó significativamente todos los parámetros evaluados de crecimiento vegetal y la cantidad de P foliar, sugiriendo que el uso de inoculaciones mixtas constituye una estrategia para aumentar la eficiencia de uso del P en maíz complementando los mecanismos de acción de las cepas individuales a través de la promoción del crecimiento de raíces y los procesos de solubilización de fósforo en el suelo.

INTERACCIÓN ENTRE AUXINAS Y ÓXIDO NÍTRICO DURANTE LA FORMACIÓN DE BIOFILM *IN VITRO* EN *Azospirillum brasilense*

Florencia Salcedo (2), Lorenzo Lamattina (2), Cecilia Creus (1)*

(1) Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones Biológicas, Mar del Plata, Argentina.

Azospirillum brasilense pertenece al grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal. Para la efectiva colonización de la raíz es necesaria la formación de un biofilm estable sobre la misma. Los mecanismos que regulan la formación de biofilm en *Azospirillum* no se conocen completamente. Sin embargo, se sabe que en sistemas *in vitro*, el óxido nítrico (NO) regula la formación de biofilm en *A. brasilense*. Recientemente se ha reportado una interacción en el metabolismo de auxinas (AIA) y NO en *A. brasilense* cepa SM. El objetivo del trabajo fue estudiar la interacción entre AIA y NO en la regulación de la formación de biofilm de *A. brasilense*. Se utilizó *A. brasilense* Sp245 y sus mutantes isogénicas Faj164 (mutante *napA*, nitrato reductasa periplasmica nula) deficiente en la producción de NO, Faj009 (mutante en *ipdC*, piruvato decarboxilasa) deficiente en la síntesis de AIA, y *A. brasilense* Sp245-Rif (pOT1e-*ppdC-egfp*) que contiene un plásmido con el promotor del gen *ipdC* fusionado al reportero *egfp*. Las cepas se crecieron estáticamente en placas de 96 wells en medio NFb-NO₃⁻ con triptófano 100 μM, 2 días. Se determinó el crecimiento total espectrofotométricamente y la formación de *biofilm* con cristal violeta. La producción de AIA se estimó por el método Salkowsky, la concentración de nitritos (NO₂⁻) se analizó usando un microelectrodo y la producción de NO fluorométricamente mediante la sonda específica DAF-2DA. Los resultados mostraron que Faj009 y Faj164 formaron menos *biofilm* que Sp245 a los 2 días. A este tiempo, el *biofilm* de Faj164 mostró menor contenido de AIA, mientras que el de Faj009 produjo menos NO₂⁻ y NO respecto de Sp245. El agregado exógeno de 1mM AIA disminuyó los *biofilms* de Sp245 y Faj009 y redujo la producción de NO₂⁻ y NO en los mismos. Por otro lado, el agregado del dador de NO (SNP) restituyó el *biofilm* en Faj164, no modificó el de Sp245 y Faj009, pero provocó una disminución de los niveles de AIA en el *biofilm* de Sp245. Por último, la actividad del promotor *ppdC* disminuyó frente al agregado de SNP mientras que el secuestrante específico de NO (cPTIO) la incrementó. Los resultados indican que el NO es necesario para la formación de *biofilm* mientras que el AIA la disminuye. El AIA exógeno reduce la formación de *biofilm* afectando los niveles de NO. Asimismo, el NO modifica los niveles de AIA. Los resultados sugieren una interacción entre el AIA y el NO en la formación de *biofilm* de *A. brasilense*.

MICROORGANISMOS PSICRÓFILOS Y PSICROTOLERANTES COMO BIOINOCULANTES PARA EL DESARROLLO DE CULTIVOS DE IMPORTANCIA REGIONAL EN EL NOA

Anabella D. Sarli (1)*, Carlos M. Bustos (1), Leandro A. Sánchez (1), Osvaldo D. Delgado (2)

(1) PROIMI-CONICET. S. M. de Tucumán, Argentina. (2) CITCA-CONICET, Fac. de Cs. Exactas y Nat. UNCA. Catamarca, Argentina.

El aislamiento, selección y caracterización de especies de microorganismos con determinadas características, son etapas importantes en ensayos que tienen como objetivo estimular la producción agrícola y promover la sustentabilidad de estos sistemas. Los microorganismos psicrófilos y psicrotolerantes demostraron ser una fuente potencial de compuestos antimicrobianos para estas prácticas. Las bacterias psicrotolerantes identificadas como *Burkholderia gladioli* RSZ y *Serratia proteamaculans* 136, fueron seleccionadas y caracterizadas como bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV). Las BPCV pertenecen a un grupo de microorganismos heterogéneos benéficos que pueden ser encontrados en la filósfera, rizósfera, en la superficie de las raíces o asociados a ellas, y son capaces de mejorar el crecimiento de las plantas. *S. proteamaculans* 136 y *B. gladioli* RSZ fueron estudiadas para evidenciar su capacidad promotora de crecimiento y/o para controlar microorganismos fitopatógenos en semillas y plántulas de soja. Estudios previos demostraron que *S. proteamaculans* 136 es capaz de producir sideróforos, ácido indól acético (AIA) y solubilizar fosfato, pudiendo ser catalogada como BPCV, mientras que *B. gladioli* RSZ es capaz de solubilizar fosfatos además de producir compuestos con actividad antifúngica. Para el ensayo en soja se evaluó, de acuerdo a sus potenciales propiedades benéficas (producción de AIA, solubilización de fosfato, síntesis de sideróforos), a la cepa *S. proteamaculans* 136 sobre el poder germinativo (PG) y promoción de crecimiento de la planta. Además, se evaluó la capacidad inhibitoria del compuesto antifúngico producido por *B. gladioli* RSZ en semillas de soja (*Glycine Max*) y posteriormente en plántulas, en un patosistema de *Macrophomina phaseolina* (agente causal de la pudrición carbonosa del tallo en soja) - Soja (variedad A800), donde demostró un efecto protector contra la enfermedad causada por el fitopatógeno. Considerando los resultados, se seleccionaron a *S. proteamaculans* 136, por tener potencial para mejorar el crecimiento vegetal y a *B. gladioli* RSZ por la actividad antifúngica frente a *Macrophomina phaseolina*.

EFFECTO DE *Bacillus thuringiensis* SOBRE LA GERMINACIÓN Y LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO TEMPRANO EN TOMATE

Diego Sauka (1,2)*, Carlos Piccinetti (1), Daniela Vallejo (1), Graciela Benintende (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola. Castelar, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Bacillus thuringiensis se caracteriza por producir metabolitos insecticidas que lo facultan como el bioinsecticida más difundido para el manejo de plagas. Durante los últimos años el espectro de sus aplicaciones fue creciendo, evidenciándose por ejemplo, su potencial como promotor del crecimiento vegetal. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de cultivos de distintas cepas de *B. thuringiensis* y de sus diferentes fracciones sobre la germinación y la promoción del crecimiento temprano en tomate. Seis cepas de distintos patovares de *B. thuringiensis* (HD-1, HD-2, HD-125, DSM2803 e IPS82), se cultivaron en caldo BM a 29 °C en agitación hasta autólisis. Las esporas/cristales y sobrenadantes se separaron por centrifugación a partir de una alícuota de cultivo. Se realizaron 4 ensayos en condiciones controladas, pasando una etapa (0 a 72 h) en estufa (28°C), y luego hasta los 7 días en cámara de cultivo (28°C, 16h de luz). Se evaluó la germinación (Nº de semillas germinadas) y la promoción (longitud de raíz (LR) y longitud aérea (LA)). En los ensayos 1 y 2 se evaluó el efecto de la dosis (200 y 20 µl de tratamiento/g de semilla), mientras que en los ensayos 3 y 4 se repitieron los tratamientos con mejor comportamiento general utilizando las distintas fracciones de los cultivos. Las semillas se inocularon con los distintos tratamientos y se colocaron de a 50 sobre papel absorbente humedecido en bandeja plástica. Se utilizó H₂O_d estéril como testigo. Independientemente del cultivo, se observó que a mayor dosis se mantuvo o se mejoró la germinación (48 h). No obstante, un efecto inverso se evidenció sobre LA y LR. HD-1 y DSM2803 evidenciaron el mejor comportamiento a menor dosis, mejorando la germinación (11 y 17%), LA (15 y 20%) y LR (24 y 9%). Al analizar cada fracción de cultivo, se observó que para ambas cepas el sobrenadante era el responsable del mejoramiento de la germinación. No existieron diferencias entre las fracciones sobre LA y LR para HD-1, pero sí entre las de DSM2803, sugiriendo que el efecto promotor principal estaría dado por el sobrenadante. Estos resultados abren la posibilidad de enmendar deficiencias nutricionales que mejorarían la germinación y la promoción del crecimiento temprano del tomate inoculando sus semillas. Paralelamente, la utilización de sobrenadantes de cultivos de *B. thuringiensis* con esa finalidad, le daría valor a un residuo de la fermentación, impactando fuertemente sobre la rentabilidad de la producción de bioinsecticidas.

FOTOSÍNTESIS LÍQUIDA DE PLANTAS DE SOJA INOCULADAS CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOMETIDAS A PERÍODOS DE DEFICIENCIA HÍDRICA

Juliana Silva Rodrigues Cabral (1)*, Germanna Gouveia Tavares (2), Luan Dionísio Silva Santos (2), Letícia Rezende Santana (2), Edson Luiz Souchie (2), Giselle Camargo Mendes (3)

(1) Instituto de Ensino Superior de Rio Verde, Faculdade Objetivo, Rio Verde, Brasil. (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Brasil. (3) Instituto Federal Catarinense, Campus Rio do Sul, Brasil.

La soja (*Glycine max* L. Merrill) es una de las leguminosas más cultivadas en el mundo, siendo Brasil el segundo país que más produce el grano y el Centro-Oeste la principal región productora del país. El déficit hídrico es uno de los factores limitantes de la producción, causando cambios fisiológicos en las plantas. Una de las alternativas para minimizar a los efectos del déficit hídrico es la utilización de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Con esta investigación, se objetivó evaluar la fotosíntesis líquida de las plantas de soja bajo déficit hídrico en asociación con HMA (*Gigaspora* spp.). Las semillas de soja (cultivar ANTA 82) fueron germinadas en macetas y crecidas bajo invernadero. El inoculante micorrízico fue constituido por *Gigaspora gigantea* y *Gigaspora margarita*, siendo las plantas inoculadas con 3 g de inoculante y cultivadas hasta que el tercer trifolio estuviera completamente abierto. Las macetas fueron mantenidas bajo diseño estadístico completamente al azar, con los siguientes tratamientos: 1) plantas irrigadas y ausencia de HMA; 2) plantas bajo déficit hídrico en la ausencia de HMA; 3) Plantas inoculadas con *G. gigantea* bajo déficit hídrico; 4) plantas inoculadas con *G. gigantea* bajo déficit hídrico; 5) plantas inoculadas con *G. margarita* bajo irrigación; 6) plantas inoculadas con *G. margarita* bajo déficit hídrico. Se añadieron 180 ml de agua en las macetas irrigadas y en las plantas bajo déficit hídrico a un 60% de la capacidad de campo. Posteriormente, las macetas fueron sometidas a nueva irrigación por 7 días. El análisis de fotosíntesis se realizó utilizando un sistema de determinación de concentración de gases infrarrojos (IRGA– LI-COR – 6400 XT), con 1000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ de irradiación, en el período de 8 a 11:00h. La fotosíntesis líquida en plantas control bajo déficit hídrico, cuando fueron nuevamente irrigadas, lograron recuperarse, mientras aquellas inoculadas con *G. gigantea*, tanto irrigadas como bajo déficit hídrico, aumentaron su tasa fotosintética. Plantas inoculadas con *G. margarita* bajo déficit hídrico y posteriormente irrigadas por 7 días, alcanzaron valores de fotosíntesis superiores a los demás tratamientos. Los HMA, principalmente *G. margarita*, incrementaron la capacidad fotosintética de las plantas después de períodos bajo déficit hídrico.

INCREMENTO DEL HONGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR *Claroideoglomus clarum* EN EL CRECIMIENTO RADICULAR DE SOJA PARA TOLERAR LOS EFECTOS DEL DÉFICIT HÍDRICO

Juliana Silva Rodrigues Cabral (1)*, Thales Caetano de Oliveira (2), Hyuri Mendes Uehara (2), Caroline Müller (2), Edson Luiz Souchie (2), Giselle Camargo Mendes (3)

(1) Instituto de Ensino Superior de Rio Verde, Faculdade Objetivo, Rio Verde, Brasil. (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Brasil. (3) Instituto Federal Catarinense, Campus Rio do Sul, Brasil.

La soja (*Glycine max* L. Merrill) puede tener su rendimiento afectado negativamente por los efectos del déficit hídrico. Por lo tanto, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se convierten en una alternativa para aumentar su tolerancia a la restricción hídrica. Con este trabajo, se objetivó evaluar el incremento del HMA *Claroideoglomus clarum* en el crecimiento radicular de soja para aumentar la tolerancia a los efectos del déficit hídrico en los estadios vegetativo y reproductivo. Un experimento fue instalado en invernadero, utilizando macetas (4 l) en la presencia y ausencia de *C. clarum*. El déficit hídrico (60% de la capacidad de campo) fue utilizado en los estadios fenológicos V3 y R3, durante 10 días en cada uno. En la fase R3, fueron evaluados: la densidad de esporas de HMA, colonización micorrízica, desarrollo radicular, masa seca de las raíces y dependencia micorrízica. Las medias fueron sometidas al análisis de varianza y comparadas por el test Tukey (5%). La densidad de esporas en plantas inoculadas con *C. clarum* bajo déficit hídrico fue más alta que en plantas no inoculadas. El porcentaje de colonización micorrízica fue similar entre plantas inoculadas bajo déficit hídrico (10,8%) e irrigadas (10,5%) y mayores que en plantas sin *C. clarum* bajo irrigación (6,5%) y déficit hídrico (5,8%). Para el crecimiento radicular de las plantas inoculadas irrigadas y bajo déficit hídrico, se obtuvieron 14,4 y 13,1 mm³ para el volumen radicular, además de 35, 20 y 33,4 mm² para el área de superficie. Estos fueron similares a las plantas sin *C. clarum* bajo irrigación con 12,1 mm³ para el volumen de la raíz y 30,3 mm² para el área de superficie y superiores a las plantas sin *C. clarum* para el volumen de raíz (12,1 mm³) y área de superficie (30,3 mm²). En cuanto al diámetro de la raíz, no fueron detectadas diferencias entre los tratamientos. La masa seca radicular fue similar entre plantas inoculadas con *C. clarum* y bajo déficit hídrico (5,6 y 5,3 g) y sin *C. clarum* irrigadas (5,45g) y superiores que en plantas sin *C. clarum* bajo déficit hídrico (5,12g). La dependencia micorrízica de las plantas bajo déficit hídrico (1,06%) fue superior que en plantas irrigadas (0,08). La inoculación de *C. clarum* en plantas de soja sometidas al déficit hídrico incrementa su tolerancia a los efectos de la restricción hídrica.

SOLUBILIZACIÓN DE SALES DE FOSFATO MEDIANTE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS POR ACTINOBACTERIAS

Mariana Solans (1)*, María Inés Messuti (1), Gabriela Reiner (1), Micaela Boenel (1), Gernot Vobis (1), Luis Gabriel Wall (2), Jose Martin Scervino (1)

(1) INIBIOMA, UNComahue, CONICET, S. C. Bariloche, Argentina. (2) UNQuilmes, CONICET, Bernal, Argentina.

El fósforo es un elemento esencial en todos los sistemas vivos, y su disponibilidad en el suelo es un factor limitante para el rendimiento de la mayoría de las especies de cultivos. En este sentido, los microorganismos juegan un rol importante en el ciclo biogeoquímico del fósforo del suelo, y dentro de este grupo de organismos, se encuentran las actinobacterias. Estas representan un grupo heterogéneo, consideradas colonizadoras eficaces de raíces y buenas productoras de diversos metabolitos secundarios, antibióticos y enzimas. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la capacidad y la eficiencia de las actinobacterias para solubilizar diversas fuentes de fosfato inorgánico, mediante la producción de ácidos orgánicos. Para ello se realizaron ensayos in vitro con cinco aislamientos del género *Streptomyces* (cepas MM136, MM140, MM141, MM145, MM147), provenientes de la rizósfera de *Lotus tenuis* de la Cuenca del Salado. Las mismas fueron cultivadas en medio NBRIP líquido, suplementado con Ca, Al y Fe como fuentes inorgánicas de fosfatos. Luego de 2 semanas de cultivo en agitación y a 28°C, se midieron los siguientes parámetros: pH del cultivo, biomasa bacteriana, solubilización de P, eficiencia y producción de ácidos orgánicos. Los datos obtenidos fueron comparados por análisis de varianza (ANOVA), test de correlación y a posteriori, usando el programa Statistica 7. En general, se observó una disminución del pH de los cultivos (pH=7), que varió entre 2,1 y 5,0. La mayor producción de biomasa bacteriana se observó en el medio con Ca, aproximadamente unas 10 veces más que para las otras fuentes de P. La eficiencia en la solubilización varió según la fuente fosfatada y las cepas estudiadas, y la mayor eficiencia fue observada en el Ca para todas las cepas, seguido por el Al y por último el Fe. Se registró la producción de siete ácidos orgánicos diferentes. Todas las cepas produjeron ácido oxálico y málico, mientras que el glucónico, cítrico, succínico, fórmico y acético presentaron patrones específicos para cada cepa y cada fuente fosfatada. La eficiencia dependió de la caída del pH, la liberación de ácido orgánico al medio, del tipo de ácido y su concentración. Considerando estos resultados, es posible concluir que las actinobacterias poseen capacidad para solubilizar P in vitro, y que sumado a otros rasgos probióticos hallados previamente, hacen de las actinobacterias un potencial candidato como bioinoculantes para una agricultura sustentable.

CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS NATIVOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO DE LA REGIÓN SEMIÁRIDA PAMPEANA

Daiana Soncini (1), Carolina Castaño (1)*, Graciela Lorda (1), Patricia García (1)

(1) Fac.de Cs.Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, Argentina.

El fósforo es uno de los nutrientes considerados esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. En la región pampeana hay zonas que presentan niveles críticos de contenido de fósforo, el que predomina bajo formas insolubles. Los fosfatos inorgánicos aplicados como fertilizantes químicos también son inmovilizados en el suelo. Por lo tanto, la solubilización de rocas fosfatadas y otras fuentes de fósforo inorgánico por microorganismos es una alternativa fundamental para incrementar la disponibilidad de este nutriente. El objetivo de este trabajo fue caracterizar aislamientos nativos seleccionados por su capacidad para solubilizar fósforo, X5-2 y 8W, e identificar mecanismos por los cuales lo solubilizan. Se utilizó además la cepa de referencia *Pseudomonas fluorescens* P3. Los microorganismos estudiados se cultivaron en dos medios de cultivo, YEM y TY, a fin de evaluar la velocidad específica de crecimiento de los mismos. Por otra parte, se midió actividad fosfatasa utilizando la técnica propuesta por Miller y Karn (1980) adaptada. Además se evaluó la presencia del gen *pqqE*, siguiendo la técnica propuesta por Walsh y col. (1991). El producto de este gen se encuentra implicado en el proceso de síntesis de ácidos orgánicos que solubilizan el fósforo inorgánico mediante acidificación. Los resultados obtenidos respecto de la determinación de los parámetros cinéticos de crecimiento de los microorganismos, mostraron una mayor velocidad cuando se las cultivó en medio TY para las tres cepas evaluadas, obteniéndose valores de 0,30; 0,44 y 0,28 h⁻¹ para P3, X5-2 y 8W respectivamente. Las determinaciones de actividad fosfatasa mostraron mayores niveles en los aislamientos que en la cepa de referencia, alcanzando valores de 1,40 (X5-2); 1,28(8W) y 0,083 (P3) mg α-naftol.l⁻¹.h⁻¹. No fue posible confirmar la presencia del gen *pqqE*, probablemente por el tipo de primers utilizados, por lo que se prevé continuar con estos estudios. El hallazgo de cepas nativas, y por ello adaptadas a las condiciones físico-químicas y climáticas de la región, que muestren condiciones cinéticas de crecimiento adecuadas para desarrollarse en medios de cultivo clásicos y además presenten niveles de actividad fosfatasa superiores a las cepas de referencia, constituye una situación promisoriosa para la potencial formulación de biofertilizantes regionales, que aseguren el éxito en el proceso de solubilización de fosfatos y se presenten como una alternativa al uso de fertilizantes químicos.

CARACTERIZACIÓN SIMBIÓTICA DE AISLAMIENTOS LOCALES NODULADORES DE *Desmodium incanum* EN CONDICIONES HIDROPÓNICAS E INVERNADERO

María Antonieta Toniutti (1), Francisco Albicoro (2), Laura Fornasero (1), Walter Draghi (2), Antonio Lagares (2), María Florencia Del Papa (2)*

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, UNL, Santa Fe, Argentina. (2) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, IBBM-UNLP-CONICET, La Plata, Argentina.

Las simbiosis fijadoras de N₂ más importantes desde una perspectiva económica son las que se establecen entre las raíces de leguminosas y bacterias de diferentes géneros denominadas colectivamente rizobios. *Desmodium incanum* se encuentra entre las especies leguminosas que conforman el paisaje natural de Argentina. Es una planta herbácea, perenne y de buena calidad y productividad forrajera, nativa de América que habita el centro-norte de Argentina en ambientes edafoclimáticos variados. Previamente, se estableció una colección de aislados y se evaluaron las características morfológicas, la tolerancia a factores abióticos extremos y su diversidad genotípica. El objetivo del estudio fue caracterizar las propiedades simbióticas de rizobios noduladores de *D. incanum* provenientes de cuatro poblaciones del norte de Argentina. En primer término, estimamos la fijación biológica de nitrógeno de rizobios que fueron previamente seleccionadas por sus características fenotípicas y genotípicas, en soporte inerte y en condiciones de crecimiento controlado. Evaluamos además la compatibilidad simbiótica con otras leguminosas de interés agronómico y además analizamos el comportamiento en suelo no estéril en invernadero de los aislamientos que presentaron mejor respuesta en condiciones controladas. Entre los rizobios analizados, la cepa *B. yuanmingense* P10 130 demostró tener una destacada eficiencia simbiótica y la capacidad de promover el crecimiento vegetal. A partir de estas evidencias será importante evaluar si el comportamiento de estos rizobios a campo refleja los resultados que hemos observado en el laboratorio. La concepción de estrategias de desarrollo sustentable para nuestro país requerirá del diseño y obtención de bioinoculantes que permitan cubrir diversas insuficiencias nutricionales del suelo y que además sean capaces de adaptarse y persistir bajo diferentes esquemas de prácticas agropecuarias. Los resultados de este trabajo indican que existen vastas posibilidades para incrementar significativamente la fijación biológica de nitrógeno en *D. incanum* gracias a la selección de cepas rizobianas adecuadas adaptadas a las condiciones edafoclimáticas del centro y norte de Argentina y eficientes en la fijación biológica de nitrógeno.

EFFECTOS DE LA COINOCULACIÓN EN TOMATE CON CEPAS NATIVAS DE *Bacillus megaterium* Y *Azotobacter salinestrís*

Daniela Vallejo (1), Carlos Piccinetti (1)*, Adrián Consiglio (1), Diego Sauka (1,2), Mariana Puente (1), Graciela Benintende (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Buenos Aires, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

El tomate es una de las hortalizas más difundidas en el mundo. La producción a gran escala requiere de insumos como fertilizantes fosforados y nitrogenados que sin un uso racional pueden tener consecuencias ambientales irreversibles. Una alternativa tecnológica que permite reducir la contaminación por el uso excesivo de agroquímicos es la utilización de bacterias promotoras del crecimiento vegetal que pueden mejorar la disponibilidad de fósforo y/o de nitrógeno. El objetivo del trabajo fue evaluar en condiciones controladas los efectos de la coinoculación en tomate con las cepas nativas BVP 33 de *B. megaterium* y AT 42 de *A. salinestrís* con roca fosfórica como única fuente de P (+RF) y sin el agregado de ella (-RF). La preparación de los inoculantes se llevó a cabo con los cultivos completos de BVP 33 y AT 42 obtenidos en caldos BM y Burk's respectivamente. La inoculación fue realizada previa a la siembra con una dosis de $1 \cdot 10^5$ UFC/semilla. A los tratamientos con +RF se les aplicó 1 g de ella a 1 g de semilla. La siembra se realizó en macetas de 220 ml que contenían una mezcla de arena, perlita y vermiculita (1:1:1). El efecto promotor sobre tomate fue evaluado en condiciones controladas de luz y temperatura (16 h y 20°C). Los tratamientos para +RF y -RF fueron: testigo sin inocular, AT 42, BVP 33, AT 42 + BVP 33. El diseño fue completamente aleatorizado. Las variables medidas a los 30 días después de la siembra fueron: longitud, peso fresco y peso seco aéreo, y longitud y peso seco de la raíz. Los resultados se analizaron por medio de un ANOVA y las medias se compararon con el test DGC ($p \leq 0,05$). Sólo la variable peso fresco de la parte aérea mostró respuesta a la inoculación presentando diferencias significativas. El tratamiento AT 42 +RF generó incrementos del 21,0% respecto a AT 42 -RF; 10,5% en comparación al T +RF y de 13,2% en relación con el T -RF. Similar respuesta se observó con el tratamiento BVP 33 +RF que presentó incrementos del 12,8% respecto a BVP 33 -RF y a T +RF; y del 15,4% en relación al T -RF. Los tratamientos coinoculados no se diferenciaron de los no inoculados. Los resultados muestran que la inoculación por separado de las cepas de *A. salinestrís* y *B. megaterium* +RF produjeron incrementos en el peso fresco aéreo. Se deberán continuar con estudios para ajustar las dosis en distintas etapas del ciclo del tomate.

SESION DE POSTERS A

ÁREA TEMÁTICA

Microbiología de suelos agrícolas y forestales

EFFECTOS DIFERENCIALES DE LA DESECACIÓN QUÍMICA DE *Avena sativa* L. CON GLIFOSATO EN COMUNIDADES MICROBIANAS OXIDANTES DEL AMONÍACO

Marco Allegrini (1)*, María Celina Zabaloy (2), Elena del Valle Gomez (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias Rosario (IICAR-CONICET). Laboratorio de Biodiversidad Vegetal y Microbiana, Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental J. Villarino, Argentina. (2) Centro de Estudios de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET), Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

El glifosato es el herbicida más utilizado en el mundo. Los cultivos de cobertura (CC) constituyen un claro ejemplo de cultivos sensibles a glifosato tratados con el herbicida durante la etapa de finalización. El objetivo de este trabajo fue estudiar el impacto de la desecación de un CC (*Avena sativa* L.) sobre microorganismos oxidantes del amoníaco (MOA) de la rizosfera en relación a un método de finalización sin herbicida (corte). El diseño del experimento consistió en un ensayo factorial con dos factores bajo estudio: “método de finalización” (M) y “fecha de muestreo” (S). Las plantas fueron crecidas en invernáculo en un suelo agrícola de Zavalla (Santa Fe) durante 67 días y luego sometidas a uno de los siguientes métodos de finalización: 1) corte de la planta 2) secado de la planta con el formulado Eskoba Full II (4 l ingrediente activo/ha). A los 4, 10, 17 y 26 días post-tratamiento se realizó el muestreo de suelo rizosférico del cual se extrajo el ADN total para cuantificar bacterias y arqueas oxidantes del amoníaco (BOA y AOA, respectivamente) mediante PCR cuantitativa del gen *amoA*. Asimismo, se cuantificó el gen del ARNr 16 de bacterias totales. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un ANOVA de dos factores ($\alpha=0,05$). En el caso de BOA se observó un efecto principal significativo de M tanto para la abundancia absoluta ($p=0,036$) como para la relación BOA:bacterias totales ($p=0,0005$). La abundancia del gen *amoA* bacteriano resultó 1,68 veces mayor en la rizosfera de plantas cortadas. Para AOA, en cambio, la interacción resultó significativa. Al comparar los dos métodos dentro de cada fecha (prueba t para muestras independientes, $\alpha=0,05$) se observó una diferencia significativa en la abundancia del gen *amoA* de AOA únicamente a los 26 días ($p=0,037$), con un valor 2,66 veces mayor en la rizosfera de plantas cortadas. Los resultados indicaron que las comunidades nitrificantes fueron influenciadas diferencialmente por el método de finalización. La menor abundancia de MOA en la rizosfera de plantas tratadas con glifosato podría implicar una actividad nitrificante reducida y, en consecuencia, una mayor disponibilidad de nitrógeno para el cultivo sucesor debido a una reducción en los niveles de nitratos asociados a procesos de desnitrificación y lixiviación. Estudios futuros basados en mediciones de actividad nitrificante permitirán determinar si el impacto observado a nivel de estructura de las comunidades se manifiesta también a nivel funcional.

EVALUACIÓN *in vitro* DE ACTIVIDAD ANTAGONISTA CONTRA *Burkholderia glumae* Y *Pyricularia oryzae* DE MICROORGANISMOS AISLADOS DE SEMILLAS DE VARIEDADES COMERCIALES DE ARROZ EN PANAMÁ

Alexis Artola (3), Felipe González (1), José Yau (1), Víctor Camargo (1), Marta de Von Chong (2), Rito Herrera (1)*

(1) Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Panamá, Panamá. (2) Universidad de Panamá, Coclé, Panamá. (3) Universidad Latina de Panamá, Panamá, Panamá.

El añublo bacterial del arroz causada por *Burkholderia glumae* se ha incrementado en los últimos años, convirtiéndose en una gran amenaza para la producción de arroz en América Central y el Caribe. El incremento se debe a las altas temperaturas, humedad relativa favorable para el desarrollo de este patógeno y semillas infectadas. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antagonista *in vitro* de 65 cepas bacterianas y 6 hongos aislados de las semillas de siete variedades de arroz, contra *B. glumae* (075-I09-2.Cepa). La evaluación se llevó a cabo a 30 °C, encontrándose actividad antagonista en cinco de las bacterias evaluadas. Estas fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas como: *Bacillus pumillus*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacillus borelensis*, *Bacillus subtilis* y *Aeromonas hidrofila*. En cuanto a los hongos aislados no se observó actividad antagonista, por el contrario *B. glumae* inhibía el crecimiento de las cepas fúngicas. Estos resultados llevaron a evaluar la actividad antagonista de una cepa no patogénica de *B. glumae* (002-IX-02-2. Cepa) contra cuatro cepas de *Pyricularia oryzae*, hongo fitopatógeno de arroz, observándose el mismo efecto de la cepa patogénica de *B. glumae* sobre los hongos aislados. Indicándonos estos resultados la posible presencia de un control biológico contra *P. oryzae*.

INFLUENCIA DEL INSECTICIDA CLORPIRIFÓS SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Aspergillus* SECCIÓN *Flavi* EN MAÍZ

Carla Barberis (1)*, Nicolás Benito (1), Karen Magnoli (1), Melisa Aluffi (1), Cecilia Carranza (1), Carina Magnoli (1)

(1) Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químico y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.

En Argentina, ciertos insecticidas tales como clorpirifós, son de vital importancia durante el desarrollo de cultivos extensivos de maíz, incorporándose en forma continua en el medio ambiente del suelo durante el desarrollo de estos cultivos. El uso de insecticidas, a menudo tiene como consecuencia un impacto negativo sobre los ecosistemas naturales y puede causar efectos antagónicos, aditivos o sinérgicos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de clorpirifós sobre la fase de latencia y la velocidad de crecimiento de cepas de *A.* sección *Flavi* en granos de maíz, bajo diferentes condiciones de actividad de agua (a_w) y a 25° C de temperatura. Una cepa de *A. flavus* (AFS63) y una de *A. parasiticus* (APS 55) fueron usadas en este ensayo. Granos de maíz estériles fueron ajustados a 0.98, 0.95 y 0.93 de a_w mediante el agregado de agua estéril y adicionados con diferentes concentraciones de clorpirifós (20; 50; 200 y 500 mg/ml). Las placas fueron inoculadas centralmente con 2 μ L de una suspensión de conidios e incubadas a 25°C durante 21 días. Se incluyeron los controles correspondientes. La experiencia se realizó por triplicado y todo el ensayo fue repetido 2 veces. Se tomó diariamente el diámetro de cada colonia y se calculó la velocidad de crecimiento radial (mm/día) y la fase de latencia (h) para cada una de las condiciones ensayadas. Con respecto a los tratamientos con clorpirifós, la velocidad de crecimiento se mantuvo constante a medida que aumentó la concentración del insecticida en todas las condiciones ensayadas. Cuando se analizó fase de latencia, se observó que en AP 55 a medida que la concentración del pesticida aumentó, la fase de latencia también lo hizo en las dos a_w menores. En cuanto a AF 63, a medida que la concentración del pesticida aumenta, la fase de latencia se mantiene constante en las tres a_w ensayadas. Esto indicaría la importancia de la aplicación de dosis adecuadas de insecticida en maíz, para evitar la proliferación de *Aspergillus* en estos cultivos.

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE CEPAS FÚNGICAS TOLERANTES A CARBENDAZIM PRESENTES EN SUELOS HORTÍCOLAS EN LA PROVINCIA DE MISIONES, ARGENTINA

Jeannette Baumann (1,2), Marcela Sadañoski (1)*, Ingrid Szylak (1),
Beatriz Argüello (3), Pedro Zapata (1, 4)

(1) Laboratorio de Biotecnología Molecular. Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María Ebe Reca” (InBioMis). Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Misiones, Argentina. (2) Programa de Efluentes Industriales y Urbanos (PEIU). Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Misiones, Argentina. (3) Dpto de Química, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Misiones, Argentina. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

La agricultura representa una parte importante de la economía provincial aportando recursos alimentarios y materias primas necesarias para un desarrollo sustentable. El Carbendazim es un fungicida sistémico ampliamente utilizado por los productores locales para controlar enfermedades fúngicas en los cultivos. El uso intensivo de este fungicida induce efectos tóxicos agudos y retardados en humanos, invertebrados, vida acuática y microorganismos del suelo. Los hongos se encuentran entre los principales agentes de degradación de los productos agroquímicos. El objetivo de este trabajo fue el aislamiento de hongos autóctonos procedentes de suelos hortícolas contaminados con Carbendazim y la selección de las cepas más tolerantes a este fungicida. Las muestras de suelo fueron recogidas en áreas de cultivo de hortalizas con uso intensivo del fungicida Carbendazim, en la localidad de Gobernador Roca, provincia de Misiones. Se eligieron al azar tres canteros (denominados A, B, C) en los cuales se tomaron cinco muestras en puntos equidistantes, de modo de abarcar todo el cantero. Cada muestra se constituyó a su vez por tres submuestras recogidas a una profundidad de 15 cm de forma equidistantes dispuestas triangularmente. Para el aislamiento de cepas fúngicas se utilizó la técnica de diluciones seriadas hasta 10^{-4} , colocadas en placas de Petri conteniendo medio agar papa dextrosa (APD) adicionado con cloranfenicol 10 mg/L y sometidas a incubación a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante siete días. Los ensayos de tolerancia al fungicida se realizaron agregando distintas concentraciones de Carbendazim (1, 10, 100, 1000 y 10,000 ppm) al medio APD en placas de Petri y una placa de control sin el fungicida. Se realizó un inóculo puntual en el centro de la placa con un taco de la colonia fúngica con siete días de crecimiento y se incubó a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Se midió el halo de crecimiento de las colonias a los siete días de incubación. Se aislaron en total 28 cepas fúngicas, de las cuales siete resultaron tolerantes al Carbendazim en la concentración 1 ppm y 2 cepas a 10 ppm. Las demás concentraciones resultaron tóxicas para todas las cepas ensayadas. Las cepas más tolerantes pertenecieron a los géneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. y *Acremonium* spp. Estos resultados representan un avance significativo ya que las cepas fúngicas aisladas de un suelo contaminado y que presentaron tolerancia al Carbendazim podrían ser ensayados para su posterior uso en estrategias de biorremediación del suelo.

ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS MORFO-TINTORIALES Y LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE MICROORGANISMOS ENDÓFITOS RADICALES DE ESPECIES FORESTALES PATAGÓNICAS

Verónica D. Bella (1)*, Sonia Fontenla (1), María Cecilia Mestre (1)

(1) Laboratorio de Microbiología Aplicada y Biotecnología, UNComahue e IPATEC (CONICET – UNCo), San Carlos de Bariloche, Argentina.

Los endófitos radicales representan una población de microorganismos de interés como bioinoculantes en la producción agrícola-forestal. Muchos de ellos son utilizados para promover la salud vegetal, disminuyendo los efectos indeseados de otras prácticas. Conocer las poblaciones de endófitos y su comportamiento frente a los antibióticos es de importancia en el ámbito productivo y permite entender las interacciones ecológicas entre microorganismos, las plantas y su entorno. El objetivo de este trabajo es caracterizar y evaluar la resistencia a antibióticos, de endófitos radicales de árboles de importancia económica en Patagonia. Se estudiaron 71 aislamientos endofíticos radicales obtenidos a partir de barbados de *Populus trichocarpa* (23), *P. nigra* (25) y plantines de *Nothofagus obliqua* (23), producidos en la EEA-INTA Bariloche. Se caracterizaron según su morfología celular, tinción de Gram y resistencia a antibióticos. Para ello se cultivan en medio TSA adicionados con estreptomina (40 µg/ml); cloranfenicol (20 µg/ml); penicilina (0,2 µg/ml) o vancomicina (10 µg/ml). La colección de aislamientos está conformada en su mayoría por bacilos (93%), siendo el 60% de ese grupo Gram negativos. Se observó que el 90% de la colección presenta alguna resistencia a los antibióticos: 10% multiresistente a todos los antibióticos, 34% resistente a tres, 17% a dos y el 39% restante a un solo antibiótico. Se observa una baja resistencia a la estreptomina (16%) y una alta resistencia al cloranfenicol (67%). Se demuestra la dominancia de bacterias endofitas radicales tipo bacilos Gram negativos en *Populus* spp. y *Nothofagus* spp. Datos coincidentes con lo descrito por otros autores en poblaciones endofíticas en diversas plantas; algunos con importancia como promotores del crecimiento vegetal. La presencia de microorganismos multiresistentes en estas especies forestales requiere de mayor estudio ya que puede impactar en la salud humana y veterinaria, o en el medio ambiente. Los resultados obtenidos son relevantes para la selección de microorganismos que serán utilizados en ensayos de inoculación en planta.

***Azospirillum spp.*, ¿UN ALIADO EN EL MANEJO SOSTENIBLE DEL MAÍZ DULCE?**

Luciano Benavides (1), Agata Larrandart (1)*, Carla Sproviero (1), Carlos Ibarra (1), Antonio Solís (1), Mariano Bozzo (1), Marianela García Alba (1), Mariana Malter Terrada (1)

(1) Comisión Nacional de Energía Atómica, Ezeiza, Argentina.

El cultivo de maíz dulce requiere adecuadas concentraciones de nitrógeno (N) y humedad en el suelo, alrededor de la floración (R1), para lograr rendimientos aceptables. En Argentina, los impactos ambientales producidos por la agricultura son cada vez más evidentes. El costo de los fertilizantes y del riego, y la necesidad de implementar sistemas agrícolas sostenibles, han aumentado el interés por el uso de alternativas como inoculantes con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR). *Azospirillum spp.* estimula el crecimiento radical, mejorando el uso de agua y nutrientes por la planta. El objetivo de este trabajo es determinar si existen efectos benéficos de la inoculación con *Azospirillum spp.* en la producción de biomasa en R1. Se realizó un ensayo en invernáculo con macetas, suelo no esterilizado y semillas de maíz *Zea mais var. saccharata bailey*. Cada maceta fue sometida a una combinación de 3 tratamientos: “humedad” con 2 niveles, humedad óptima (HO) con 100% del agua útil y déficit hídrico (DH) con $\frac{1}{3}$ del agua útil, mantenidos con riego diario; “fertilización” con 2 dosis de urea enriquecida en ^{15}N con 2% de át. ex., 75 kg N/ha (F1) y 150 kg N/ha (F2); “inoculación” (I) con la formulación comercial desarrollada por Nitragin, *Azospirillum sp. brasilense*. Las plantas testigo (T) no fueron fertilizadas ni inoculadas. El diseño experimental fue DBCA con 4 repeticiones. La cosecha se realizó en R1. Plantas con HO desarrollaron más su área foliar y biomasa aérea (BA) que en DH. Dentro del nivel HO, las plantas T produjeron menor BA que las I, IF1 e IF2, sin diferencias significativas (d.s) entre los últimos tres tratamientos. Por otro lado, bajo DH, las plantas IF1 obtuvieron menor BA que las I y F2, sin existir d.s. entre estos dos. La eficiencia de recuperación del fertilizante (ERF) no muestra d.s. entre tratamientos ni entre niveles. La eficiencia en el uso del N (EUN) fue mayor en F1HO e IF1HO, y menor en F2DH e IF2DH. Se podría concluir que con HO se obtiene la misma ERF y mayor EUN con dosis baja de fertilizante, 75 kg N/ha, que con dosis mayores. La combinación de I y HO también resultaron en una mayor productividad del maíz en R1. Por ende, el efecto benéfico de *A. brasilense* sólo se evidenciaría con un contenido mínimo de N en el suelo y sin déficit hídrico. El uso de esta cepa permitiría realizar un menor consumo de fertilizantes nitrogenados, disminuyendo así los posibles impactos sobre el ambiente.

CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA Y ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD BACTERIANA DEL SUELO EXPUESTA A LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA A LARGO PLAZO BAJO RESIDUOS AGRÍCOLAS CONTRASTANTES

Mónica Boccolini (1), Nicolás Pastor(2)*

(1) INTA EEA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Marcos Juárez, Córdoba, Argentina. (2) Facultad Cs. Exactas Físico-Químicas y Naturales. UNRC. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Los experimentos de fertilización a campo a largo plazo proporcionan información acerca de cómo las perturbaciones antropogénicas producen cambios en las propiedades físico-químicas del suelo, influyendo sobre la función y estructura de las comunidades microbianas. Los métodos moleculares basados en *PCR* y *fingerprinting* genéticos (*DGGE*) permiten monitorear rápidamente y de manera precisa las fluctuaciones en las estructuras de dichas comunidades. El objetivo de este estudio fue caracterizar la estructura y estimar la diversidad de la comunidad bacteriana del suelo sometida a la aplicación de urea a largo plazo bajo dos tipos de residuos agrícolas. El estudio se realizó en un ensayo establecido desde 1993 en INTA Marcos Juárez sobre un Argiudol típico con características propias de un suelo franco-limoso. El ensayo consta una secuencia Maíz-Trigo/Soja^{2da}-Soja^{1ra} bajo siembra directa. Presenta un diseño en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones y tres tratamientos; A: Sin fertilización; B: 90 kg/ha de N y C: 165 kg/ha de N como urea. Se realizaron dos muestreos entre 2010 y 2011, sobre rastrojo de Soja^{1ra} y sobre rastrojo de Maíz. Las muestras de suelo fueron recolectadas de 0-10 cm de profundidad. La extracción de ADN total se realizó con kit comercial. Para la amplificación del gen ADNr 16S de bacterias se realizó PCR anidada con primers universales F27, F341-GC y R534. Los productos de amplificación se separaron en un gel de poliacrilamida. Los perfiles moleculares fueron analizados mediante un AC. Se estimó el Índice de diversidad Shannon y se analizó con ANAVA. La variación en la composición de las comunidades se visualizó mediante MDS. Las correlaciones lineales entre los datos de MDS y variables de suelo se estimaron con R. Bajo soja, B y C presentaron menores valores de diversidad con respecto al tratamiento A. En maíz sólo C mostró menor diversidad, siendo B el de mayor valor en comparación con A, aunque estas diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$). En el AC, se observó la separación de los tratamientos A y B del C tanto bajo soja como en maíz. El análisis MDS arrojó resultados similares, mostrando que las comunidades bacterianas de suelo variaron en función de la dosis de urea aplicada, donde las comunidades de A y B se ubicaron juntas y separadas de C. Además, se observó que el pH está estadísticamente correlacionado ($p < 0,05$) con la variación en la composición de las comunidades bacterianas en ambos tipos de residuos y el contenido de amonio sólo en presencia de soja. Por lo tanto, si bien la aplicación de urea a largo plazo no afectó a la diversidad bacteriana del suelo, indujo a cambios en la composición de especies y por ende, en la estructura de la comunidad. Dichos cambios parecen estar relacionados con la aplicación de la mayor dosis de urea y estarían determinados por las variaciones en el pH, mientras que por el contenido de N del suelo según el residuo en superficie.

TOLERANCIA *in vitro* AL HERBICIDA GLIFOSATO DE CEPAS DE *Fusarium* spp. AISLADAS DE MAÍZ EN ARGENTINA

Cecilia Carranza (1)*, Carla Barberis (1), Nicolás Benito (1), Karen Magnoli (1), Melisa Aluffi (1), Carina Magnoli (1)

(1) Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químico y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.

El maíz es el segundo cultivo más importante en la Argentina, es insumo clave de una gran variedad de industrias, principalmente aquellas destinadas a la alimentación humana y animal. Así mismo, la exportación es el principal destino del cereal, representando un 75% de la producción. En los cultivos, estas semillas están en contacto directo con comunidades de hongos presentes en el suelo o la vegetación circundante como por ejemplo el género *Fusarium* spp. La agricultura es uno de los pilares fundamentales de la economía argentina, lo que trae aparejado la aplicación de significativas cantidades de glifosato. La aplicación excesiva y repetida de plaguicidas puede dar como resultado un alto nivel de residuos produciendo efectos secundarios sobre los microbios del suelo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de glifosato sobre la fase de latencia y la velocidad de crecimiento de cepas de *Fusarium* spp. aisladas de suelos de campos del sur de la provincia de Córdoba y destinados al cultivo de maíz, bajo diferentes condiciones de actividad de agua (a_w). Seis cepas de *Fusarium* spp. fueron inoculadas por triplicado en placas conteniendo medio agar harina de maíz con 0 (Control), 20, 30, 50, 100, 200 y 300 mM de glifosato y a 0.93, 0.95 y 0.98 de a_w . Las placas fueron inoculadas e incubadas a 25°C durante 21 días. Se calculó la velocidad de crecimiento (mm/día) y la fase de latencia (h) para cada una de las condiciones ensayadas. En los tratamientos controles se pudo observar que a medida que la a_w del medio de cultivo disminuyó, la fase de latencia de todas las cepas también lo hizo, en los tratamientos con glifosato se determinó que a medida que aumentó la dosis del herbicida en el medio de cultivo la fase de latencia de las cepas se extendió significativamente hasta superar, en algunos casos, el periodo total de incubación. Cuando se analizó la velocidad de crecimiento de las cepas en presencia de glifosato se observó que todas las cepas disminuyeron significativamente su crecimiento en presencia de 200 y 300 mM del herbicida en el medio de cultivo. La menor concentración de glifosato ensayada inhibió completamente el crecimiento de las cepas FM2 y FM6 a todas las condiciones ensayadas. Las cepas de *Fusarium* spp. aisladas de suelos destinados al cultivo de maíz resultaron tolerantes a concentraciones de glifosato aplicadas en el manejo agrícola actual, implicando un riesgo fitopatogénico para estos cultivos.

EVALUACIÓN DE TRES TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DE RECUPERACIÓN PARASITARIA EN VEGETALES DE CONSUMO

Andrea Celina Falcone (1)*, Juan Manuel Unzaga (2), María Lorena Zonta (1),
Graciela Teresa Navone (1)

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. (2) Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV-UNLP, La Plata, Argentina.

Entre las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), las parasitosis intestinales representan un grave problema en salud pública. En este marco, determinar el grado de contaminación parasitaria de los vegetales que se consumen crudos, permitirá inferir el grado de riesgo al cual se encuentra expuesta la población. Al respecto y basados en el hecho que existe una diversidad de métodos de detección, se planteó evaluar la recuperación parasitaria de tres de las metodologías más aplicadas en muestras de hortalizas. Además, se utilizó el índice Kappa de Fleiss (IK) para analizar la concordancia entre técnicas. Entre marzo de 2016 y diciembre de 2017, se recolectaron 36 muestras de hortalizas (acelga -*Beta vulgaris* var. *cicla*-, lechuga -*Lactuca sativa*- y radicheta -*Cichorium intybus*-) en diferentes quintas del cinturón hortícola del Partido de La Plata, Buenos Aires, Argentina. Se utilizaron las técnicas de lavado basadas en sedimentación espontánea (SE), sedimentación espontánea y acción mecánica (SEM) y agitación-decantación (AD). El sedimento resultante se examinó por observación directa y por métodos de enriquecimiento, sedimentación y flotación. El 61,1% (22/36) de las muestras resultaron positivas al menos a una de las tres técnicas utilizadas. La recuperación por cada técnica fue: AD 13,8%, SE 11,1% y SEM 5,5%. Las tres técnicas permitieron detectar la presencia de *Blastocystis* sp. y ooquistes compatibles con *Cryptosporidium* spp.; SE y AD recuperaron huevos de Ancylostomídeos; AD demostró la presencia de *Endolimax nana* y *Ascaris lumbricoides* y SE huevos de *Enterobius vermicularis*. El IK según la escala de valoración del Landis y Koch, mostró baja concordancia entre las técnicas para *Blastocystis* sp. (IK: 0,4) y para los ooquistes compatibles con *Cryptosporidium* spp. (IK: 0,3), y moderada para *A. lumbricoides* (IK: 0,5) ($p < 0,05$). Estos resultados preliminares indicaron que dos de las tres técnicas utilizadas tuvieron mayor recuperación de parásitos y a la vez, fueron complementarias. Sin embargo, futuros estudios permitirán avanzar en el diagnóstico parasitológico en pos de alertar sobre los riesgos en la producción y comercialización de alimentos vegetales.

INFLUENCIA DEL SISTEMA DE CULTIVO EN LA DIVERSIDAD DEL GÉNERO *Glomus* EN SUELOS DE ZONAS ÁRIDAS

Gabriela Fernandez-Gnecco (1,2), V. Fabiana Consolo (1)*, Fernanda Covacevich (1,2)

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC-CONICET) y Fundación para la Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata, Argentina. (2) Unidad Integrada Estación Experimental Agropecuaria Balcarce Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce, Argentina

En las zonas áridas la vegetación se distribuye en parches que se encuentran asociados a microorganismos relacionados con el ciclado de nutrientes y producción vegetal. Entre ellos se destacan los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), grupo microbiano simbiote de raíces que ayuda a las plantas a superar condiciones de estrés, principalmente hídrico. El objetivo de este trabajo fue evaluar la diversidad de los HMA en la rizósfera de un sistema perenne asociado a cultivos anuales en el interfilas. Se realizaron muestreos estacionales durante un año en una explotación comercial (Pocito, San Juan, Argentina) con un sistema intensivo de almendros de 5 años de edad, bajo riego artificial, con hortalizas en el interfilas. El suelo bajo estudio corresponde a un Torrifluente Típico, textura franco fina, pH 8 y 2% de materia orgánica. A partir del ADN genómico total extraído de muestras de suelo, se amplificaron fragmentos de la región 28S DNAr utilizando cebadores específicos para *Glomus* spp. (género más abundante de los HMA). Se evaluó la diversidad genética mediante análisis de los patrones de bandas generados en electroforesis no desnaturizantes (estrategia de Polimorfismo Conformacional de Cadena Simple). Mediante el análisis del patrón de bandas obtenido se determinó un mayor índice de diversidad genética de *Glomus* spp. en la rizósfera de los árboles asociados a cultivos anuales y la menor en la línea de árboles sin plantas en el interfilas. El análisis de un dendrograma de similitud generado con agrupamiento UPGMA mostró un patrón de diversidad de especies que se mantuvo entre estaciones, siendo mayor en primavera y otoño, relacionado con los momentos de crecimiento radicular de las plantas leñosas. Sin embargo, el agrupamiento fue por sistema de cultivo, lo que estaría evidenciando que existe una relación entre la diversidad de los HMA y el tipo de cultivo. Esto puede estar ocasionado por una variación espacial en las características del suelo entre el interfilas y la línea de almendros, ya que esta última permanece inalterada. Por tal motivo, se cree que la asociación de cultivos debe ser una práctica recomendada en zonas áridas debido a que estarían favoreciendo una mayor diversidad de HMA. Futuros estudios profundizarán en la identificación de este grupo microbiano, entre otros, como posibles indicadores biológicos de manejos sustentables de producción de cultivos en zonas áridas.

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN CON DOS AISLAMIENTOS DE *Paecilomyces lilacinus* EN EL CRECIMIENTO INICIAL DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Sebastián Garita (1), Valeria Bernardo (2), Jean Carlos da Silva Ribeiro (3), Cecilia Arango (1), Mario Saparrat (1,4), Marcela Ruscitti (1,5)*

(1) Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE-CONICET) FCAyF, UNLP, La Plata, Argentina. (2) Comisión de Investigaciones Científicas CICBA, La Plata, Argentina. (3) Instituto Federal de Rondônia, Rondônia Brasil. (4) Instituto Spegazzini, FCNyM, UNLP, La Plata, Argentina. (5) ECANA – UNNOBA, Junín, Argentina.

El Cinturón Hortícola de La Plata, localizado en la periferia de la ciudad de La Plata, constituye el área productiva más importante del Cinturón Verde Bonaerense. El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) ocupa el segundo lugar de la superficie plantada, cuya producción tiene como destino el consumo en fresco, abasteciendo a más de 13 millones de habitantes. Los nematodos son un factor limitante en la producción de tomate y su incidencia se incrementó en los últimos años en los cultivos bajo cubierta. El control de esta plaga se lleva a cabo utilizando desinfectantes de suelo y nematicidas químicos. Aunque existen diversas investigaciones que avalan el potencial de algunos microorganismos del suelo como biocontroladores de nematodos fitoparásitos, como los hongos nematófagos, es escasa la información sobre su efecto en el crecimiento inicial de las plantas, independientemente de su acción como biocontroladores. El objetivo fue evaluar la respuesta de plantines de tomate a la inoculación con dos aislamientos del hongo *Paecilomyces lilacinus*, LPSC 876 y 952, utilizando dos tipos de formulados, suspensión de conidios (SC) y enmienda orgánica (EO) colonizada con los hongos. Las semillas se colocaron en recipientes de 250 cm³ con un sustrato constituido por tierra y turba. A la siembra se incorporó cada hongo, ya sea como una SC (5×10^7 /ml) o como una EO constituida por un sustrato de avena y viruta de Salicáceas (25% vol/vol) previamente colonizada con los hongos. Periódicamente se determinó número de hojas, altura, calibre e índice de verdor (SPAD). A los 50 días de la siembra, se cuantificó longitud de raíz, área foliar, peso fresco y seco de raíz y parte aérea y se evaluó el contenido de clorofila, carotenos y proteínas solubles. Al analizar los resultados, se determinó que el número de hojas, altura, calibre y SPAD fueron significativamente mayores en las plantas inoculadas con la EO con ambos hongos; mientras que no se observaron diferencias en la longitud de raíz. El contenido de clorofila a, b y total y proteínas solubles fue significativamente mayor en las plantas inoculadas con la EO con ambos hongos, sin diferencias entre ellos, mientras que el contenido de carotenos fue significativamente mayor con EO con el hongo LPSC 952. Por lo tanto, *Paecilomyces lilacinus* ejerció un efecto promotor del crecimiento inicial de las plántulas de tomate, que sumado a su capacidad para biocontrolar nematodos, potencia su uso en el cultivo de tomate.

EVALUACIÓN DE LA COMPETITIVIDAD *in vitro* DE CEPAS DE *Trichoderma* sp. AISLADAS DE SUELOS DEL VALLE DE LERMA, SALTA PARA EL CONTROL DE *Rhizoctonia solani*

Eleonora Harries (1,2,3) *, Guadalupe E. Mercado Cárdenas (1,3), Lorena Berruezo (1,2), Lorena Berruezo (1,2), Verónica Rajal (4)

(1) INTA EEA Salta, Salta, Argentina. (2) CONICET, Argentina. (3) Sede Regional Sur Metán, UNSa, Salta, Argentina. (4) Fac. de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina.

El aislamiento y la caracterización de microorganismos benéficos de la rizósfera de cultivos del Noroeste Argentino resultan fundamentales para encarar propuestas de biocontrol *in situ*. *Trichoderma* spp. es un hongo habitante de los suelos que ha sido estudiado para el control de numerosos hongos fitopatógenos. Nuestro grupo del Laboratorio de Sanidad Vegetal de la E.E.A. INTA Salta, viene trabajando en esta temática a fines de poder generar bioestimulantes a futuro. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad competitiva de cepas nativas de *Trichoderma* sp. frente a *R. solani*, agente causal de Mustia hilachosa en poroto. Para tal fin, se realizaron ensayos *in vitro* de cultivos duales con cepas de *Trichoderma* sp., aisladas de suelos del Valle de Lerma, Salta. Las placas de Petri conteniendo APG y APG diluido al 50 % se inocularon con discos de 0,5 mm de diámetro provenientes de colonias fúngicas en activo crecimiento de cada una de las 10 cepas de *Trichoderma* sp. y enfrentándolas con *R. solani* (Cepa RS56). Se utilizaron placas de Petri con APG inoculadas solo con RS56 (Control positivo). Se planteó un DCA con tres repeticiones para cada tratamiento. Se incubaron a 24 ± 2 °C durante 4-10 días y se midieron los diámetros de la colonia del patógeno para calcular el porcentaje de inhibición para cada cepa de *Trichoderma* sp. según Royce and Ryes (1978). Se registró el grado de antagonismo según la escala propuesta por Bell *et. al.* (1982). Además, se observaron microscópicamente la interacción de las hifas patógeno- antagonistas. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante ANOVA y prueba de Tukey con el Programa INFOSTAT. Las cepas de *Trichoderma* sp. inhibieron el crecimiento de *R. solani* en los cultivos duales con APG, con valores superiores al 50 %. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Las cepas Tr14, Tr15, Tr28, Tr51 y Tr52 crecieron completamente sobre la colonia de *R. solani* (escala 1 de antagonismo). Se confirmó el micoparasitismo de las cepas antagonistas sobre las hifas del patógeno. Bajo condiciones restrictivas de crecimiento (APG al 50%), las cepas de *Trichoderma* sp. fueron más eficientes que el hongo fitopatógeno, e incrementaron sus porcentajes de inhibición al 70 %. Estos datos demuestran que las cepas nativas de *Trichoderma* sp. son competentes para inhibir, colonizar y parasitar las hifas de *R. solani*, incluso bajo condiciones reducidas de nutrientes.

SELECCIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma* sp. PARA EL BIOCONTROL DE LA INFECCIÓN DE *Rhizoctonia solani* EN SEMILLAS DE POROTO

Eleonora Harries (1,2,3)*, Guadalupe E. Mercado Cárdenas (1,3), Lorena Berruezo (1,2), Lorena Berruezo (1,2), Verónica Rajal (4)

(1) INTA EEA Salta, Salta, Argentina. (2) CONICET, Argentina. (3) Sede Regional Sur Metán, UNSa, Salta, Argentina. (4) Fac. de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina.

Trichoderma spp. es un hongo Deuteromicetes reconocido como agente de biocontrol de hongos fitopatógenos. Entre sus mecanismos de acción antagonista están: competencia, micoparasitismo, y antibiosis. Además, pueden activar los mecanismos de defensa y promover el crecimiento de las plantas. El conocimiento de su accionar es crucial para abordar la producción de bioestimulantes. En estudios previos realizados por nuestro grupo, se aislaron cepas de *Trichoderma* spp. de suelos agrícolas del Valle de Lerma, Salta. El objetivo de este trabajo fue analizar el comportamiento de cepas nativas de *Trichoderma* sp. para el control de *Rhizoctonia solani* sobre semillas de poroto. Para ello, se realizaron bioensayos *in vitro* sobre placas de Petri con APG y en el centro se inocularon con un disco de 0,5 mm de diámetro de *R. solani* (RS56). Posteriormente, semillas de poroto se desinfectaron superficialmente y se trataron con una suspensión de conidios de cada una de las 10 cepas de *Trichoderma* sp. (Tr.). Luego, se secaron y se depositaron 4 semillas de poroto tratadas por placa. Se utilizaron semillas de poroto desinfectadas y tratadas con agua estéril, con y sin inocular con *R. solani*. Se planteó un DCA con tres repeticiones. Se incubaron a 24 ± 2 °C durante 10 días. Se midieron los diámetros de la colonia del patógeno para determinar el porcentaje de inhibición con cada cepa de *Trichoderma* sp. según Royce and Ryes (1978). Además, se registró el porcentaje de germinación, el grado de escala de Severidad de *R. solani* (1: sin síntoma y 4: 75-100 % del tejido de raíces infectado), y se determinó la longitud y el peso seco de las raíces para cada tratamiento. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante ANOVA y prueba de Tukey con el Programa INFOSTAT. Todas las cepas de *Trichoderma* sp. inhibieron el crecimiento de *R. solani*, encontrándose diferencias significativas entre ellas y cinco cepas con valores superiores al 50 %. Se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de germinación, el grado de severidad y la longitud de las raíces. Tr15, Tr21 y Tr51 registraron valores bajos de severidad, y altos porcentajes de germinación y longitud de raíces. No se encontraron diferencias significativas en los pesos secos de las raíces. Estos resultados permitieron una rápida selección de las cepas nativas de *Trichoderma* sp. más efectivas para inhibir y controlar la infección de *R. solani* sobre poroto, y favorecer germinación y desarrollo de raíces.

RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS EDÁFICAS Y LA DISIPACIÓN DEL HERBICIDA GLIFOSATO INFLUENCIADA POR EL TIPO DE USO DEL SUELO

Keren Hernández Guijarro (1)*, Virginia Aparicio (1,2), Eduardo De Gerónimo (1,2), Martín Castellote (1), Eva L. Figuerola (3,4), José L. Costa (1), Leonardo Erijman (3,4)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Unidad Integrada Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. Balcarce, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular – “Dr Héctor N Torres” (INGEBI-CONICET). CABA, Argentina. (4) Departamento de Fisiología y Biología Celular y Molecular “Prof Héctor Maldonado”, UBA. CABA, Argentina.

Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la disipación del glifosato en un experimento a campo en tres tipos de suelo y determinar la importancia de diferentes factores en la persistencia del glifosato en el ambiente: como las comunidades bacterianas del suelo, las propiedades edáficas y el historial de exposición previa al herbicida. Se seleccionaron 3 suelos de Balcarce: uno pristino (P0) sin previo historial de uso del herbicida y dos suelos agrícolas con 5 y más de 10 años de aplicaciones sucesivas del herbicida (A5 y A10). En cada uno de estos sitios se diseñó un ensayo con 2 tratamientos: un suelo control sin aplicación y el otro suelo aplicado con una dosis de glifosato comercial de 3 mg/kg de ingrediente activo (3 repeticiones). Las concentraciones de glifosato en el tiempo se relacionaron con la dinámica de las comunidades bacterianas del suelo que fue evaluada mediante secuenciación del gen ARN ribosomal 16S. En los tres sitios el glifosato fue degradado inmediatamente después de su aplicación pero el suelo P0 mostró una tasa de disipación significativamente menor en comparación con los suelos agrícolas. Todos los suelos mostraron cambios en la estructura de las comunidades bacterianas, sin embargo no existió una asociación directa con la aplicación del herbicida y su disipación en el suelo, sugiriendo la presencia de una comunidad diversa de potenciales degradadores. Las diferencias en la composición bacteriana estuvieron correlacionadas significativamente con propiedades edáficas inherentes al tipo de uso del suelo como el contenido de la materia orgánica (MO) y la capacidad de intercambio catiónico (CIC) ($R > 0,6$; $p=0.001$; test Mantel). La aplicación del herbicida perturbó la red de asociación entre los principales taxa, observándose una estructura interdependiente más alta en los suelos control que en los suelos tratados con glifosato. Los valores de K_d y K_f más altos en el suelo P0 indican la relevancia de los contenidos de arcilla, MO y CIC en la capacidad del suelo para adsorber glifosato, sugiriendo que la biodisponibilidad es el principal factor que determina la persistencia del herbicida en el suelo. Estos resultados contribuyen a comprender las relaciones entre los principales taxa expuestos al herbicida y la importancia de las propiedades edáficas como predictoras del grado de persistencia del glifosato en el ambiente.

EFFECTO DE LA AGRICULTURA CONTINUA SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS EN SUELOS DEL SUDESTE BONAERENSE, ARGENTINA

Martín Iparraguirre (1), Facundo Marcos Valle (1)*, Claudia Castellari (1),
Florencia Gutheim (1,2), Yolanda Andreoli (1), Clara Llorens (2)

(1) Unidad Integrada Balcarce (FCA, UNMdP – EEA Balcarce, INTA). Ruta 226 km 73,5. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. (2) Chacra Experimental Miramar. MAIBA. Ruta 77 km 20. Miramar, Buenos Aires, Argentina.

En los últimos años, se registró un cambio en el uso de los suelos. Esto incluyó la conversión de ecosistemas naturales en cultivados, la simplificación de los esquemas de rotación de tierras agrícolas y la menor o ausente actividad ganadera, que generaba un descanso y/o acumulación de materia orgánica en los suelos. En este contexto, existe una creciente preocupación por la calidad del suelo y por las posibles modificaciones por su uso. El objetivo del presente estudio fue evaluar poblaciones microbianas: hongos filamentosos (HF), bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT) y actinobacterias (ACT) en suelos con diferentes usos y poder establecer relaciones entre éstos y los grupos predominantes. Para ello, se seleccionaron lotes cercanos geográficamente con usos contrastantes: agricultura continua (AC), campo natural (CN) y monte implantado de *Acacia* sp. (MA) en la Chacra Experimental Miramar (partido de General Alvarado, Buenos Aires). Se realizaron muestreos de suelo considerando dos épocas, invierno y verano, y dos profundidades del perfil (0-5 y 5-20 cm). Se realizó el recuento de los grupos microbianos por la técnica de dilución seriada al décimo en tubo y siembra en placa de Petri en medios de cultivo específicos, para cada uno de ellos. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y test de medias según Tukey (5%). No se registraron diferencias ($p > 0,05$) en la abundancia de los grupos microbianos entre los diferentes usos del suelo registrando recuentos promedio de 6,97; 4,18 y 4,16 \log_{10} UFC/g para BAMT, ACT y HF, respectivamente. El tamaño de las poblaciones fúngicas fue mayor en verano ($p < 0,05$), solo en MA. El grupo BAMT registró un mayor recuento en muestreos invernales ($p < 0,05$). El grupo ACT presentó un mayor recuento en muestreos estivales ($p < 0,05$). Considerando la profundidad del suelo, ninguno de los grupos microbianos evaluados presentó diferencias en los recuentos entre los perfiles 0-5 cm y 5-20 cm ($p > 0,05$). La diversidad de especies fúngicas fue similar entre los suelos bajo AC y MA y superior a lo hallado en CN. Respecto a la población bacteriana, la mayor diversidad de especies fue encontrada en CN y la menor en AC. En conclusión, aunque serían necesarios más estudios, estos cambios en el uso del suelo sugieren una alteración de la biodiversidad microbiana que podría afectar el ciclado de nutrientes y, por lo tanto, alterar la fertilidad natural de los suelos.

EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD *in vitro* DE HONGOS FITOPATÓGENOS FRENTE A ANTIFÚNGICOS COMERCIALES

Laura M. Machuca (1), Ma. Florencia Acuña Ojeda (1)*, Esteban Alfaro (1), Karen Canteros (1), Ma. Victoria Méndez (1), Verónica Obregón (2)

(1) Instituto de Investigaciones Científicas (IDIC), Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad de la Cuenca del Plata (UCP), Goya, Corrientes, Argentina. (2) Laboratorio de Sanidad Hortícola, Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Instituto Nacional de tecnología Agropecuaria (INTA), Bella Vista, Corrientes, Argentina.

Los hongos son organismos eucarióticos que se consideran heterótrofos. El término hongos abarca una gran variedad de organismos, donde se incluyen a los denominados fitopatógenos. Cuando las condiciones climáticas son predisponentes para su desarrollo, estos perjudican la producción agrícola, lo que ocasiona daños económicos irreparables. *Cladosporium* spp. es un género fúngico que comúnmente ataca a los cultivos de tomate, provocando la enfermedad llamada Moho de la Hoja. El propósito del presente trabajo fue evaluar la sensibilidad *in vitro* de hongos fitopatógenos frente a antifúngicos de uso comercial. La técnica empleada para el hallazgo de la concentración inhibitoria mínima (CIM) fue la de dilución en caldo, tomando como base el estándar M38-A del Clinical and Laboratory Standards Institute. Para la determinación de la concentración fungicida mínima (CFM) se transfirieron, a placas de Petri con Agar Papa Dextrosa, 20 µl de cada tubo que no mostró crecimiento visible, del último tubo con crecimiento visible y del control positivo. Estas se incubaron a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta observar crecimiento en el control positivo. La CFM correspondió a la mínima concentración del antifúngico que desarrolló menos de tres colonias. Los hongos estudiados fueron dos aislamientos de *Cladosporium* sp., uno cedido por la Universidad Nacional del Litoral (A) y el otro proveniente del INTA (B), y *Aspergillus niger* ATCC 16404 (cepa de referencia). Los antifúngicos comerciales utilizados fueron Amistar Top, Daconil 72F y Ridomil Gold 68WG (Syngenta Agro S.A.). Los compuestos ensayados demostraron ser activos frente a los hongos evaluados. Para *Cladosporium* sp. (A) los valores hallados, en µg/mL, fueron: Daconil 72F (CIM 16; CFM 128), Amistar Top (CIM 4; CFM 8) y Ridomil Gold 68WG (CIM 8; CFM 32). Por otro lado, los resultados para *Cladosporium* sp. (B) fueron: Daconil 72F (CIM 16; CFM 64), Amistar Top (CIM >256) y Ridomil Gold 68WG (CIM 8). Por último, la cepa de referencia arrojó los siguientes valores: Daconil 72F (CIM 32; CFM >64), Amistar Top (CIM 128; CFM >256) y Ridomil Gold 68WG (CIM 64; CFM 128). En conclusión, se destaca la eficacia antifúngica *in vitro* de Ridomil Gold 68WG para el tratamiento del fitopatógeno causal del Moho de la Hoja. Por su parte, Daconil 72F sería también efectivo para el control del mismo, mientras que el efecto de Amistar Top frente a *Cladosporium* sp. (B) podría atribuirse al desarrollo de una resistencia a sus principios activos.

ESTUDIO DE COMUNIDADES BACTERIANAS EDÁFICAS DE ARROZALES DE ENTRE RÍOS BAJO SISTEMAS DE MONOCULTIVO Y ROTACIÓN CON PASTURAS EN BASE A *Lotus spp.*

Vanina Giselle Maguire (1)*, Amira Susana Nieva (1), Belén Colavolpe (1), Juan Pedro Ezquiaga(1), María Eugenia Llamas (1), Juan Manuel Vilas (1), Fernando Matías Romero (1), Franco Rubén Rossi (1), Andrés Gárriz (1), María Paula Campestre (1), Cristian Javier Antonelli (1), Santiago Javier Maiale (1), Oscar Adolfo Ruiz(2)

(1) Instituto de Investigaciones Biotecnológicas - Instituto Tecnológico de Chascomús (IIB-INTECH) (UNSAM-CONICET), Chascomús, Argentina. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales (INTA – IFRGV), Córdoba, Argentina.

Entre Ríos es la segunda provincia productora de arroz en la Argentina. La principal estrategia de manejo ha sido el sistema de monocultivo, lo que sumado a las características vérticas (alto contenido de arcilla expandible) de los suelos ha llevado a la degradación paulatina de los mismos. En este sentido, se han constatado grandes pérdidas de materia orgánica y nutrientes esenciales, como así también un deterioro de la estructura edáfica. La implementación de sistemas de rotación arroz/pasturas perennes en base a *Lotus spp.* tuvo un impacto positivo en cuanto a la atenuación de estas pérdidas, mejorando la calidad del suelo y el rendimiento del arroz cosechado. Asimismo, la incorporación de pasturas permite diversificar la producción, dando valor agregado al componente pastura, con una alta eficiencia de conversión pasto/carne. El objetivo principal de nuestro trabajo fue explorar los cambios que ocurren en las comunidades bacterianas presentes en suelos bajo ambos sistemas de cultivo. Con este fin, se llevó a cabo un muestreo al azar de suelo, tomando tres muestras compuestas para cada condición. Posteriormente, se realizó una extracción de ADN de las muestras utilizando un kit comercial a partir de las cuales se amplificó y secuenció el fragmento 16S rRNA (regiones V6/V8) mediante la plataforma Mi-Seq (Illumina). Las secuencias obtenidas se analizaron utilizando el software QIIME 1.9. Para determinar la diversidad alfa se consideraron los índices: Chao1, Shannon y Simpson. Por su parte, la diversidad beta se analizó según las métricas de distancias de Bray Curtis, Weighted-UNIFRAC y Unweighted-UNIFRAC. La significancia estadística se calculó mediante el test multi-variado no-paramétrico PERMANOVA ($p < 0.05$), demostrando que no se observaron diferencias entre los tratamientos “Monocultivo” y “Rotación”. Esto sugiere que la estructura de la microbiota del suelo tendría la capacidad de resistir cambios en las prácticas de cultivo. Sin embargo, el análisis comparativo a nivel de phylum demostró distribución diferencial de algunas clases filogenéticas, lo que podría tener una gran importancia desde el punto de vista ecológico. Los grupos taxonómicos *Verrucomicrobia*, *Acidobacteria*, *Proteobacteria*, *Planctomycetes*, *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Nitrospirae*, *Bacteroidetes* y *Gemmatimonadetes* se encontraron ampliamente representados en los dos tipos de suelos analizados.

EVALUACIÓN DE ANTAGONISMO EN CEPAS NATIVAS DEL GÉNERO *Laetisaria* Burds. (Corticaceae, Basidiomycota)

Eliana Melignani (1), Laura Levin (1), Juan Santiago Guidobono (2), Viviana Barrera (3)*

(1) Instituto de Micología y Botánica (INMIBO-CONICET), Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEB-CONICET), Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA-INTA), Buenos Aires, Argentina.

Las cepas del género *Laetisaria* aisladas en un ensayo de rotación de cultivos de cebolla en la EEA-INTA Ascasubi (Buenos Aires) poseen un interés potencial como biocontroladores de hongos patógenos de cultivos. Con el objetivo de seleccionar cepas promisorias para ser probadas en ensayos *in vivo*, se evaluó su acción antagonista enfrentando *in vitro* 8 cepas contra 7 patógenos: *Bipolaris sorokiniana* (Bs), *Fusarium graminearum* (Fg), *Fusarium oxysporum* (Fo), *Pythium irregulare* (Pi), *Rhizoctonia circinata* L006 (Rc6), *Rhizoctonia circinata* L007 (Rc7) y *Sclerotium rolfsii* (Sr). Se cultivaron los aislamientos de antagonistas (A, B, C, D, F, G, I y J) y patógenos en APG (agar papa glucosado) a 25°C (72 h en oscuridad). Se enfrentó un taco (5 mm Ø) de antagonista y otro de patógeno a 3 cm de distancia en APG. Se incubaron a 25°C (72 h en oscuridad). Como control negativo se sembraron los patógenos solos (4 réplicas por enfrentamiento y control). Se midió el radio de crecimiento del patógeno hacia el antagonista (Re) y del patógeno control (Rc). Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del patógeno $IC(\%) = (Rc - Re/Rc) * 100$. Los datos fueron analizados por Modelos de Cuadrados Mínimos Generalizados y test de DGC. Para comprobar micoparasitismo, se enfrentaron antagonistas y patógenos en agar agua. Se incubaron a 25°C (7 días en oscuridad) (3 réplicas). Se montaron en portaobjetos, se tiñeron con azul de anilina 1%, se enjuagaron con agua destilada y se observaron al microscopio. Los resultados de los enfrentamientos mostraron que la inhibición del crecimiento del patógeno dependió del antagonista al cual se enfrentó y viceversa, es decir, la capacidad de inhibición de cada antagonista varió según el patógeno ($F=2,57$; $p<0,0001$). Los valores de IC fueron: por patógeno: Pi=73%, Sr=67%, Rc6=65%, Rc7=64%, Bs=48%, Fg=47% y Fo=21%; por antagonista: F=59%, A=58%, I=58%, D=57%, J=56%, C=54%, B=48% y G=48%. El patógeno más inhibido fue Pi ($F=83,44$; $p<0,0001$) y los antagonistas con mejor desempeño fueron F, A, I, D y J ($F=6,04$; $p<0,0001$). No se observaron evidencias de micoparasitismo. Para el ensayo de biocontrol *in vivo* se seleccionará el patógeno *F. oxysporum*, uno de los de mayor importancia en enfermedades de cebolla. En base a los resultados, se probarán los antagonistas F e I, que fueron los de mayor inhibición para este patógeno. Fuente de financiamiento: PNPV-1135023, PNBIO-1131044.

INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS FÚNGICOS DE CULTIVOS HORTÍCOLAS EN UN SOLARIZADOR DE SUSTRATO

Natalia Meneguzzi (1)*

(1) Estación Experimental Agropecuaria INTA-Famaillá, Famaillá, Argentina.

La inactivación térmica de patógenos del suelo es una técnica muy conocida en la agricultura. La solarización de suelos, principalmente en invernaderos de hortalizas, permite alcanzar temperaturas letales para los patógenos. Para analizar la supervivencia de distintos patógenos fúngicos que atacan a cultivos hortícolas, se realizó un ensayo de inactivación en un solarizador de sustrato. Para esto se utilizó como inóculo semillas de trigo colonizadas por: *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium* sp. (frutilla), *Sclerotinia* sp. (tomate), dos aislamientos de *Rhizoctonia* sp. (frutilla y papa), y semillas sin inocular como testigo. El trigo, dentro de bolsitas de tela, se mezcló en el suelo a solarizar. El ensayo se realizó dos veces, con tres repeticiones por patógeno. Luego de dos días de tratamiento térmico, con temperaturas que superaron los 60°C, se recuperaron las bolsitas de trigo y se analizó la supervivencia del inóculo. Cinco semillas de cada repetición se sembraron en medio de cultivo PDA 2% acidificado con ácido láctico. Los cultivos se incubaron a 28°C durante 48 horas. Los resultados demostraron la inactivación de los patógenos ensayados, aún aquellos formadores de esclerocios (estructuras de resistencia) como *M. phaseolina* y *Sclerotinia* sp. Además, se observó la colonización del trigo por bacterias que sobrevivieron el tratamiento térmico. Estos resultados sugieren que no sólo las elevadas temperaturas alcanzadas, sino también las poblaciones de microorganismos presente en los suelos, podrían afectar la supervivencia de los patógenos. Se continúa analizando aislamientos de estas bacterias en búsqueda de posibles controladores biológicos de patógenos de cultivos.

EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma sp.* CONTRA *Phitophtora capsici*

Margot Morales (1)*, Mirko Lino (1,2), Pedro Castellanos (1,3)

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

El uso de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol representa una alternativa viable a ser evaluada dada sus características de ser eficaz contra un amplio rango de fitopatógenos. La presente investigación tiene como objetivo evaluar dos medios de cultivo (agar papa dextrosa y agar czapeck) para determinar la actividad antagónica *in vitro* de cepas de *Trichoderma* sp. contra el fitopatógeno *Phytophthora capsici*. Se aislaron ocho cepas nativas de *Trichoderma* sp. de un cultivo de palta en el distrito de Quilmaná, provincia de Cañete, Lima, Perú, las cuales fueron identificadas mediante claves taxonómicas. La evaluación de la actividad antagónica se realizó empleando agar papa dextrosa (APD) y agar avena (AA) en concentraciones variables en base a un diseño experimental de puntos centrales empleando el software estadístico Statistica 10, de donde se obtuvieron 7 combinaciones. El medio A contenía 3,9 g/l de APD y 4 g/l de AA, el medio B contenía 39 g/L de APD y 4 g/l de AA, el medio C contenía 3,9 g/L de APD y 40 g/l de AA, el medio D contenía 39 g/l de APD y 40 g/L de AA, el medio E, F y G contenían 21.45 g/l de APD y 22 g/l de AA. Para determinar la actividad antagónica se realizaron cultivos duales del antagonista y el fitopatógeno, los cuales se incubaron durante 6 días, pasado el tiempo de incubación se determinó el porcentaje de inhibición mediante la medición del diámetro de las colonias. Los resultados mostraron que los medios B y C presentaron mayor porcentaje de inhibición en la mayoría de las cepas (100%). Los resultados del análisis de ANOVA ($p = 0,05$) y la Gráfica de Pareto mostraron que existen diferencias significativas con un 99% de confianza al emplear los medios APD y AA, siendo el agar avena el más significativo; sin embargo la interacción de ambos medios no mostró diferencias significativas.

CAMBIO ESTRUCTURAL DE LA COMUNIDAD BACTERIANA RIZOSFÉRICA ASOCIADA AL CULTIVO DE MAÍZ POR EL AGREGADO DE FÓSFORO

Analia Rodríguez (1)*, Marcela Rorig (1), Daniel Grasso (1)

(1) Instituto de Suelos, INTA, Castelar, Argentina.

La diversidad microbiana condiciona la fertilidad del suelo. La estructura de la comunidad bacteriana rizosférica es influenciada por el estado fenológico de la planta y la fertilización. El Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricciones Terminales (T-RFLP) es una técnica utilizada para reflejar cambios en la composición de la comunidad bacteriana. El objetivo es identificar un cambio en la diversidad y estructura de las poblaciones bacterianas en un cultivo de maíz por el agregado de fósforo. Se realizó un ensayo en invernáculo en un diseño en bloques completamente aleatorizados con y sin planta de maíz, con y sin fósforo en dos momentos de muestreo V3:3 hojas y V5:5 hojas, primordio floral. El ADN del suelo se extrajo con el kit comercial PowerSoil@DNA-MOBIO, se amplificó la región variable del gen 16S rDNA y los productos de PCR fueron utilizados como templados en la PCR para el análisis de T-RFLP. En la digestión se utilizó las enzimas de restricción HaeIII y CfoI. Los TRFs se analizaron en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología INTA Castelar. La longitud y el pico de los TRFs se determinaron en el software Peak Scanner (v 1.0). Para los perfiles consenso se utilizó el software T-Align (<http://inismor.ucd.ie/~talign/>). A partir de la matriz de abundancias relativas, se estimaron los Índice de diversidad. Se realizó el análisis de la varianza, de conglomerado por el método de agrupamiento WARD basados en la distancia euclídea y de componentes principales (ACP). Los tratamientos con el cultivo de maíz mostraron una Riqueza de especie significativamente mayor. El análisis de conglomerado mostró un agrupamiento de los tratamientos por la presencia y el estado fenológico del cultivo de maíz. El ACP muestra cambios en los índices de diversidad por el agregado de fósforo. Los TRFs: H194 pb_HaeIII, C58 pb_CfoI, C79 pb_CfoI, C90 pb_CfoI mostraron un aumento significativo de la abundancia relativa en los tratamientos con el cultivo de maíz. Es interesante ver que el TRF C348 pb_CfoI no se encontró en los tratamientos con el agregado de fósforo y tuvo un aumento significativo de la abundancia relativa en los tratamientos con el cultivo de maíz en el estado fenológico de primordio floral. Dichos estudios ponen de manifiesto que la técnica de T-RFLP permite detectar cambios en los perfiles de las poblaciones bacterianas asociadas a la presencia del cultivo, al estado fenológico y al agregado de fósforo.

EFFECTO DE LOS EXUDADOS DE RAÍCES DE PLANTAS DE *Bromus auleticus* ASOCIADAS A *Epichloë* SOBRE LA CAPACIDAD DE SOLUBILIZAR P DE HONGOS RIZOSFÉRICOS

Pablo José Stefanoni Rubio (1,2)*, Leopoldo Javier Iannone (1,2), María Victoria Novas (1,2)

(1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. Ciudad de Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET- UBA, Instituto de Micología y Botánica (INMIBO). Intendente Güiraldes 2160, Ciudad Universitaria Pabellón II, C1428EGA, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

El fósforo (P) es un elemento esencial en los suelos. Resulta limitante para el crecimiento de las plantas dado que suele encontrarse en formas no disponibles. Existen hongos en la rizósfera capaces de solubilizarlo (HSP), incrementando así su disponibilidad para las plantas. *Bromus auleticus* es una gramínea nativa invernal perenne de amplia distribución. En la región pampeana, la mayoría de los ejemplares están asociados al endófito *Epichloë pampeana*, el cual confiere ventajas adaptativas a la planta hospedante. El objetivo consistió en estudiar el efecto de exudados de raíces de *B. auleticus*, asociadas (E+) o no (E-) a *E. pampeana* sobre la capacidad de solubilizar P de hongos aislados de la rizósfera de este hospedante. Se realizó un ensayo *in vitro* en el que se evaluó en erlenmeyers a los que se agregó exudado de raíces, y se evaluó la solubilización de fosfato tricálcico por 2 cepas de *Talaromyces flavus* (Tf2 y Tf4), 2 de *Penicillium purpurogenum* (Ppur1 y Ppur2) y una de *P. pinophilum* (Ppi3), caracterizadas previamente como solubilizadoras de P. Exudados de raíces de plantas E+ y E- fueron incorporados al medio de cultivo en diferentes concentraciones (1.5, 3.0 y 6.0% v/v), y un control sin exudados. La cuantificación del P soluble se realizó luego de 7 días por el método vanado-molibdato. Los resultados se analizaron por ANOVA de 3 factores. La solubilización de P se vio afectada en 3 de las 5 cepas evaluadas, con diferente respuesta por parte de las mismas. La capacidad solubilizadora de las cepas Ppi3 y Tf2 no fue afectada por exudados de plantas E+ o E-, ni por la concentración ($p > 0.05$). Los exudados, tanto de plantas E+ o E-, redujeron la solubilización de P por Ppur2, independientemente de su concentración ($p = 0.02$). En Ppur1, los exudados inhibieron la solubilización ($p < 0.01$), con un mínimo de actividad en la concentración 6%. En el caso de Tf4, la solubilización de P fue significativamente mayor en presencia de exudados al 1.5% (cualquiera sea el estatus endofítico) respecto al control ($p < 0.05$). Los resultados obtenidos sugieren que la actividad solubilizadora es afectada por los exudados de las plantas pero la presencia de *E. pampeana* no afectaría dicha actividad. Considerando que, según estudios previos de nuestro grupo, la asociación con endofitos promueve la diversidad de HSF rizosféricos, esto redundaría en una mayor disponibilidad de P para las plantas E+.

LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA A LARGO PLAZO DISMINUYE LA DIVERSIDAD Y ALTERA LA COMPOSICIÓN DE LA COMUNIDAD MICROBIANA DE SUELO

Renpeng Sun (1), Pan Zhang (2), Chance W. Riggins (1), María C. Zabaloy (3), Sandra Rodríguez-Zas (2), María B. Villamil (1)*

(1) University of Illinois, Department of Crop Sciences, Urbana, Illinois, EEUU. (1) University of Illinois, Department of Animal Sciences, Urbana, Illinois, EEUU. (3) Universidad Nacional del Sur - CONICET, Departamento de Agronomía, Bahía Blanca, Argentina.

Las comunidades microbianas del suelo son un componente esencial de los agroecosistemas por su influencia sobre el reciclaje de los nutrientes que directa o indirectamente afecta la producción de los cultivos. Estudios ecológicos han demostrado que los gradientes de N resultantes de deposición natural alteran el microbioma del suelo. En sistemas agrícolas, sin embargo, estas investigaciones son escasas. Nuestro objetivo fue caracterizar la estructura y composición de la comunidad microbiana luego de 34 años de tratamientos de fertilización con N en un suelo con cultivo continuo de maíz, sistema agrícola típico de suelos altamente fértiles de Illinois, Estados Unidos. Se trabajó sobre un Argiudol ácuico bajo ensayo de fertilización con N a tres niveles (0, 200, y 270 kg N/ ha), con diseño en bloques completos aleatorizados y tres repeticiones. Dentro de cada unidad experimental se tomaron muestras compuestas de suelo, conservadas en freezer hasta extracción del ADN. La secuenciación de la región V4 del ADNr 16S (cebadores 515F/806R) para bacterias se generó mediante la tecnología Illumina HiSeq2500. El procesamiento de datos y análisis bioinformático se llevó a cabo mediante QIIME 2.0. En cuanto al análisis estadístico, se emplearon componentes principales y análisis discriminante canónico sobre los principales fila para explorar qué grupos maximizaron las diferencias entre los niveles de fertilización con N. Las secuencias filtradas se agruparon en unidades taxonómicas operativas y en base a ellas, se analizó la composición y diversidad microbiana. Los resultados indicaron que el nivel mayor de fertilización con N disminuyó la diversidad de la comunidad microbiana del suelo y alteró la abundancia relativa de los principales fila detectados en este ensayo. Basados en la magnitud de los cambios en la abundancia relativa observados, nuestros resultados indican que los grupos bacterianos más sensibles para diferenciar entre los niveles de N en el largo plazo son Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Chloroflexi, y Planctomycetes. Un conocimiento acabado de los efectos de la fertilización nitrogenada sobre el microbioma del suelo permitiría mejorar las estrategias de fertilización y entender mejor la salud del suelo para preservar la sostenibilidad y la productividad de los sistemas agrícolas.

SESION DE POSTERS A

ÁREA TEMÁTICA

Procesos biotecnológicos que involucran
microorganismos

EMPLEO DE CEPAS SELECCIONADAS DE *Saccharomyces cereviceae* EN LA OBTENCIÓN DE VINO DE TUNAS (*Opuntia ficus indica*) CON PROPIEDADES FUNCIONALES

Gastón N. Allendez (1), Mónica Nazareno (1), Soledad López Alzogaray (1)*

(1) Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero, Argentina.

El cultivo de la tuna (*Opuntia ficus indica*) presenta un excelente desarrollo en zonas áridas y semiáridas de la región NOA de Argentina, los frutos (tunas) tienen distintos colores debido a la presencia de distintas combinaciones de betalaínas (betaxantinas, amarillo y betacianinas, rojo o violeta): pigmentos con importante actividad antioxidante contra el efecto destructivo de especies oxidantes en el organismo humano. Los objetivos de este trabajo fueron: realizar la fermentación de jugo de tunas clarificado y pasteurizado térmicamente, empleando cepas autóctonas de *Saccharomyces cereviceae* y medir los cambios en la composición de compuestos bioactivos y en el potencial antioxidante ocurridos durante la fermentación. A partir de frutos de las variedades naranja y morada (colección de UNSE), se obtuvo el jugo clarificado (centrifugado a 10.000 rpm, durante 10 minutos) y pasteurizado térmicamente (70°C, 10 minutos). La fermentación se llevó a cabo inoculando al 2% el cultivo activo de *S. cereviceae* L1 (seleccionado por su capacidad antioxidante evidenciada por su actividad β -glucosidasa +) (10^6 células/ml en fermentador) durante 7 días a 25°C. En el mosto, se determinó la variación de fenoles totales (FT) (mg ácido gálico/ml jugo), betalaínas (espectrofotometría, betaxantina a 480 nm y betacianina a 535 nm), actividad antioxidante (método de DPPH) (mg ácido ascórbico/ml jugo), al inicio y al final de la fermentación, empleando jugo clarificado y pasteurizado como control. El pH del mosto varió de $5,2 \pm 0,05$ al inicio hasta 4,2 en variedad morada y 4,35 en la naranja. El contenido de sólidos solubles totales varió de 14% (ambas variedades) hasta 8% (morada) y 9% (naranja). El contenido final de etanol (%) (medido enzimáticamente) fue $4,8 \pm 0,6$ en variedad morada y $5,2 \pm 0,4$ en la naranja. En ambas variedades, no se detectó variación en FT. Para betaxantina, se detectó el 16% de reducción en la variedad morada y 13%, en la naranja. Para betacianina, se detectó el 9% de reducción en la variedad morada y un incremento del 2%, en la naranja. La actividad antioxidante incrementó ~5% en variedad morada y disminuyó ~2% en la naranja. Los resultados de este trabajo han evidenciado que la fermentación mantiene la composición de compuestos bioactivos y el potencial antioxidante del jugo de tunas, conservando las propiedades naturales de los frutos. Por lo tanto, la obtención de vinos a partir de la fermentación alcohólica de jugos de tunas puede constituir una alternativa productiva para los frutos que no se destinan al consumo en fresco.

EMPLEO DE GLICEROL COMO ÚNICA FUENTE DE CARBONO EN CULTIVOS DE *Aspergillus oryzae* PARA LA PRODUCCIÓN DE AMILASAS

Pablo Anselmi (1), Natasha Melnichuk (1), Diana Romanini (1), Mauricio Braia (1)*

(1) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos de Rosario (IPROBYQ-CCT Rosario), Rosario, Argentina.

Las amilasas (AMyS) son enzimas empleadas en la industria para degradar almidón durante la elaboración de alimentos y bebidas, entre otros. Los procesos de producción de AMyS se basan en la fermentación de microorganismos recombinantes o productores naturales como cepas GRAS de hongos del género *Aspergillus*. Estas cepas se destacan por crecer en un amplio rango de temperatura, pH y osmolaridad; poseer maquinarias de secreción de proteínas efectivas y crecer en medio sólido con actividad de agua inferior a 0,4. Además, su gran versatilidad permite aplicar estrategias de fermentación en estado sólido (empleando residuos agroindustriales) y en cultivo sumergido. El objetivo de este trabajo fue estudiar el desarrollo del hongo *Aspergillus oryzae* NRRL 695 en cultivo sumergido en lote empleando glicerol como única fuente de carbono, con el fin de evaluar el potencial uso de este sistema para la producción de AMyS. El glicerol se genera en grandes cantidades en nuestro país durante la producción de biodiesel, resulta ser un insumo de bajo costo y su uso en cultivos fúngicos como fuente de carbono ha sido poco estudiado. Se realizaron cultivos del hongo por triplicado en medio líquido mínimo a pH 3,0 y 6,0 suplementado con glicerol (1, 2, 5, 10 y 20 g/l) e inoculado con $1,9 \times 10^7$ conidios. Los sistemas se incubaron a 30°C con agitación orbital de 150 rpm y el pH se corrigió con NaOH 4 N cuando fue necesario. El seguimiento de la fermentación se llevó a cabo por medidas de peso seco de biomasa o densidad óptica a 600 nm, concentración de glicerol, actividad alfa-amilasa (enzima AMY mayoritaria) por método colorimétrico cinético empleando un sustrato cromogénico específico (CNP-G3), SDS-PAGE y espectrometría LC-MS (servicio provisto por el CEQUIBIEM-UBA). Los experimentos mostraron que en todos los casos el hongo crece formando pellets. A pH 3,0 el hongo desarrolló menor cantidad de biomasa que a pH 6,0 y no secretó enzimas al medio extracelular. Por otro lado, a pH 6,0 el hongo comenzó a secretar enzimas a partir de las 70 horas de incubación, momento en el cual se acaba el glicerol. El análisis por LC-MS mostró que las AMyS son las enzimas predominantes en el extracto obtenido por filtración del cultivo: alfa-amilasa A tipo 1/2, alfa-amilasa A tipo 3 y glucoamilasa. Estos resultados confirman el potencial uso del glicerol como fuente de carbono para producir AMyS. En la actualidad este grupo se encuentra estudiando otras estrategias de fermentación.

CARACTERIZACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS NATIVAS SECRETORAS DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS PARA SU UTILIZACIÓN EN LA PRODUCCIÓN Y BIOREFINACIÓN DE BIOETANOL DE TERCERA GENERACIÓN

Araceli Bader (1)*, Leonardo Curatti (1), V. Fabiana Consolo (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC-CONICET) y Fundación para la Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata, Argentina.

La producción de biocombustibles como biodiesel y bioetanol representan una fuente de energía alternativa con gran potencial para cubrir en parte la demanda actual y futura de combustibles. Particularmente, los de tercera generación son los que se producen a partir de biomasa de microorganismos fotosintéticos y están en plena etapa de investigación y desarrollo. Uno de los principales desafíos para maximizar los rendimientos, es la exploración de alternativas más económicas y prácticas para sustituir total o parcialmente los actuales procesos físico-químicos necesarios para hidrolizar la biomasa de las microalgas. Es por ello, que los microorganismos con capacidad de producir enzimas líticas representan una alternativa promisoriosa para conservar características deseables de los productos de hidrólisis. El objetivo de este trabajo fue identificar cepas fúngicas nativas procedentes de una colección y evaluar su capacidad de producir enzimas líticas y capaces de hidrolizar biomasa de microalgas con el fin de diseñar cócteles enzimáticos con potencial biotecnológico. Para ello, se realizó un screening cualitativo de 11 cepas, pertenecientes a 7 géneros fúngicos, nativos de la Provincia de Buenos Aires. En forma individual, se cultivó cada una de las cepas en diferentes medios sólidos suplementados con sustratos como celulosa, almidón y esculina, que permitieran visualizar mediante cambios de color y formación de halos la hidrólisis de celulosa, celobiosa y almidón, por ser los principales componentes de la pared celular de las microalgas. Bajo estas condiciones, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Trichoderma brevicompactum* y *T. harzianum* fueron los aislamientos que mostraron mayores halos de hidrólisis en los tres sustratos ensayados. Las cuatro cepas se cultivaron en forma individual en un medio líquido apropiado para inducir la producción de enzimas. Se determinó la capacidad de hidrolizar almidón a 45°C, en 4 intervalos de tiempo durante 24h. Los cócteles enzimáticos procedentes de tres de las cepas hidrolizaron entre el 10 y el 50% del sustrato con una cinética michaeliana, siendo el cóctel enzimático proveniente de *A. alternata* el más eficiente. Estos estudios contribuirán a desarrollar un protocolo reproducible para cuantificar la hidrólisis de distintos sustratos complejos y que permitan seleccionar de manera eficiente cepas fúngicas secretoras de enzimas hidrolíticas de biomasa algal.

EFFECTO DEL HONGO ENDOFÍTICO *Epichloë tembladerae* EN LA MICROPROPAGACIÓN DE *Bromus pictus*

Victoria Berdion Gabarain (1)*, María Victoria Novas (1), Leopoldo Javier Iannone (2),
José Javier Regalado (1)

(1) Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Instituto de Micología y Botánica (INMIBO), CONICET, CABA, Argentina. (2) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires. Instituto de Micología y Botánica (INMIBO), CONICET, CABA, Argentina.

Bromus pictus es una gramínea autóctona de la Patagonia, de interés por ser consumida por ovejas, no ser tóxica y crecer en ambientes extremos. Algunas poblaciones están asociadas a diferentes especies de endofitos fúngicos de vástago del género *Epichloë*, que pueden promover la emergencia de semillas y el desarrollo vegetativo de la planta. Siendo gramínea, es considerada recalcitrante para su cultivo in vitro, sin embargo, estudios previos indican que los endofitos *Epichloë* mejoran la micropropagación de *Lolium multiflorum* y *Bromus auleticus*. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de *Epichloë tembladerae* en las distintas fases de la micropropagación de *B. pictus*. Semillas de *B. pictus* asociadas (E+) o no (E-) a *E. tembladerae* fueron esterilizadas y sembradas en placas de Petri con medio MS suplementado con 30 g/l de sacarosa y con medio CIM (Callus Induction Medium), consistente en MS suplementado con 30 g/l de sacarosa, 2 mg/l de 2,4-D y 0.1 mg/l de Bencil-adenina (BA). Se sembraron e incubaron durante 4 semanas en oscuridad a $25\pm 2^\circ\text{C}$, 180 semillas E+ y 180 E- en 3 repeticiones de 60 cada una. En el medio MS se registró un porcentaje de germinación significativamente mayor para las semillas E+ ($87\pm 4\%$) que para las E- ($43\pm 6\%$). En el medio MIC se obtuvo un porcentaje de formación de callos significativamente mayor para las semillas E+ ($84\pm 3\%$) que para las semillas E- ($46\pm 4\%$). Los callos obtenidos fueron subcultivados en nuevas placas con medio MIC cada 4 semanas hasta alcanzar un diámetro de 0,5 cm, tras lo cual se sembraron en placas de medio RM (Regeneration Medium), consistente en MS suplementado con 30 g/l de sacarosa y 0.2 mg/l de Kinetina, e incubadas durante 8 semanas a $25\pm 2^\circ\text{C}$ con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 de oscuridad para inducir la regeneración de brotes de *B. pictus*. Sin embargo, esta regeneración no tuvo éxito. Estos resultados nos permiten concluir que *E. tembladerae* incrementa sustancialmente tanto la germinación como la formación de callo en las semillas de *B. pictus*, paso inicial del protocolo de micropropagación. Sin embargo serán necesarios ensayos adicionales de regeneración para completar este protocolo y estudiar el efecto de *E. tembladerae* en esta etapa. Una vez obtenido este protocolo, podrá ser usado para el desarrollo de nuevas herramientas biotecnológicas en *B. pictus*.

SELECCIÓN DE CEPAS DE *Saccharomyces eubayanus* PARA LA INDUSTRIA CERVECERA

Julietta Burini (1)*, Juan Ignacio Eizaguirre (1), Claudia Loviso (2), Mariana Langenheim (3),
Diego Libkind (1)

(1) Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales (IPATEC, UNCo-CONICET), San Carlos de Bariloche, Argentina. (2) Centro Para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR, CENPAT-CONICET), Puerto Madryn, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA, UNCo-CONICET), San Carlos de Bariloche, Argentina.

Saccharomyces eubayanus es una levadura criotolerante aislada en la Patagonia Andina. Estudios genéticos confirmaron que la hibridación entre esta especie y *S. cerevisiae* (levadura Ale) dio origen a *S. pastorianus* (levadura Lager). Este descubrimiento despertó interés en el sector científico-tecnológico por la potencial aplicación de la levadura parental salvaje como cultivo iniciador en la industria cervecera. Los esfuerzos de muestreo en Patagonia dieron lugar a más de 200 aislamientos de *S. eubayanus*, agrupados genéticamente en 5 sub-poblaciones. Con el fin de hallar las cepas más promisorias para su aplicación industrial, se caracterizaron fermentativa y organolépticamente cepas representativas de cada sub-población. Para ello se evaluó: velocidad de fermentación (μ), % atenuación, perfil de azúcares consumidos, ésteres, alcoholes superiores, fenoles y se realizó una evaluación sensorial. La mayoría de las cepas de *S. eubayanus* tuvieron un comportamiento fermentativo similar (66% atenuación), a excepción de CRUB1935 cuya *performance* resultó disminuida (54% atenuación), percibiéndose sensorialmente más dulce. Las cepas Frohberg y Saaz (controles Lager) superaron a las salvajes en velocidad de fermentación (33% mayor), con una atenuación de 85%. La mayor atenuación de los controles se condice con el consumo eficiente de maltosa y maltotriosa. *S. eubayanus* carece de la capacidad de metabolizar este último azúcar (100%_{maltotriosa residual}), y las diferencias en atenuación entre cepas de esta especie se debe al consumo de maltosa (CRUB1935 20% más de maltosa residual). Sensorialmente se detectó la producción de fenoles para *S. eubayanus*, pudiendo ser identificados como 4-vinilfenol y 4-vinilguaiacol, ambos superando el umbral de percepción (0,2 y 0,3 ppm). CRUB2005 evidenció elevada producción de sulfuros a nivel sensorial. Los alcoholes superiores cuantificados no superaron el umbral de percepción pero a nivel sensorial fueron percibidos en CRUB2031. No se detectaron ésteres sensorialmente en las cepas salvajes pero sí en las Lager, en concordancia con el análisis cuantitativo (etilhexanoato supera umbral en Lager). Este estudio nos otorga herramientas para seleccionar con criterio las cepas de *S. eubayanus* con las que se desarrollarán cultivos iniciadores transferibles a la industria, que permitirían obtener cervezas diferenciales e innovadoras con posibilidad de otorgar carácter regional al producto, aumentando su valor agregado y posición en el sector.

BIOPROSPECCIÓN DE CEPAS DE MICROALGAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO EN LAGUNAS DE TRATAMIENTO DEL LIXIVIADO PROVENIENTE DEL RELLENO SANITARIO DE LA CIUDAD DE SANTA FE

Aldana Clebot (1)*, Alejandro Beccaria (1), M. Gabriela Latorre Rapela (2), Vanina Márquez (1)

(1) Laboratorio de Fermentaciones y (2) Cátedra de Microbiología General. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

Las microalgas pueden crecer en condiciones fotosintéticas en efluentes, contribuyendo así a su tratamiento. Además, pueden acumular aceites aptos para la elaboración de biodiesel. De esta manera, es relevante el aislamiento de cepas oleaginosas nativas, capaces de proliferar en las condiciones climáticas prevalentes. El objetivo de este trabajo es determinar la presencia e identidad de microalgas de interés tecnológico en lagunas de tratamiento del lixiviado proveniente del relleno sanitario de la ciudad de Santa Fe. Para el aislamiento de las microalgas se sembraron en la superficie del medio BG-11, muestras puras (tomadas en otoño y primavera) y sus diluciones decimales. Las incubaciones se realizaron a 23°C, con iluminación artificial (10 μ E/m.s) y fotoperíodo (16:8 h, L:O). Las colonias de microalgas detectadas fueron subcultivadas hasta lograr cultivos axénicos. Los aislamientos fueron identificados por sus características microscópicas y aplicando una estrategia de identificación molecular. El ADN se obtuvo utilizando un kit comercial. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo utilizando oligonucleótidos estándares para la amplificación de regiones específicas del gen que codifica para el ARN ribosomal. Las secuencias de los productos de PCR fueron cotejadas con las depositadas en bases de datos. Se obtuvieron 43 aislamientos de microalgas, 17 en el muestreo de otoño y 26 en el de primavera. Los mismos provenían de las muestras tomadas de lagunas de tratamiento aeróbico y anaeróbico, y no se obtuvieron aislamientos a partir del lixiviado crudo. La diversidad de microalgas presentes estaría relacionada con la estación y la composición del efluente. Las microalgas aisladas fueron analizadas por microscopía para aproximar su filiación taxonómica. Se identificaron fundamentalmente microalgas del género *Chlorella*. Esto fue corroborado por la metodología molecular, luego de ajustar y estandarizar las condiciones para su ejecución. Algunas de las cepas presentaron alta identidad (>95%) con *C. vulgaris*, entre otras. En los aislamientos se detectaron especímenes del grupo de las diatomeas, estando en proceso su identificación molecular. En conclusión, fue posible aislar e identificar microalgas a partir de muestras procedentes de las lagunas de tratamiento del lixiviado. Acorde a la bibliografía, estas serían microalgas con potencial para la producción de aceite unicelular por lo que sus propiedades tecnológicas deberán ser evaluadas.

EFECTO DEL MEDIO DE PRODUCCIÓN DE ESPOROS Y EL TIEMPO DE INCUBACIÓN SOBRE LA DEGRADACIÓN DE VINAZA POR UN HONGO NATIVO DEL NOROESTE ARGENTINO

Luciana Melisa Del Gobbo (1), Macarena María Rulli (1), María Sofía Colombres (1),
Verónica Leticia Colin (2)*

(1) Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina. (2) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET), San Miguel de Tucumán, Argentina.

La vinaza resultante de las industrias azucareras tucumanas es el principal responsable del alarmante grado de contaminación de la Cuenca del Salí-Dulce. Aunque actualmente se logró el cese de los derramamientos de vinaza en los ríos, hoy en día los ingenios tucumanos acumulan millones de litros del efluente representando un peligro potencial para las cuencas hidrográficas aledañas. Diversos procesos microbiológicos basados en el uso de hongos filamentosos, pueden aplicarse para reducir la toxicidad de la vinaza. Estudios previos demostraron el potencial de un hongo nativo de la provincia de Tucumán (cepa V1) para degradar vinaza de caña de azúcar. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del medio de producción de esporos, la concentración de los mismos y el periodo de incubación sobre la degradación de una muestra local de vinaza. Como medios de producción de esporos se empleó vinaza adicionada con agar al 2% (medio A) y agar-papa-glucosado (medio B). Suspensiones de esporos obtenidos a los 7 días y a las 48 hs a partir del medio A y B, respectivamente, se inocularon en 100 mL de vinaza a dos concentraciones diferentes: 1×10^6 y 8×10^6 UFC/ml. Luego de 6 días de incubación a 30°C (150 rpm), los cultivos fueron centrifugados (8000 g por 10 min a 4°C), la biomasa se lavó con agua destilada y se colocó a 80°C hasta peso constante. En los sobrenadantes recogidos se determinó la demanda biológica de oxígeno (DBO) y se calculó el % de remoción de DBO. Al finalizar el 6^{to} día de cultivo, no se detectaron diferencias significativas en la concentración de biomasa ($3,0 \pm 0,2$ g/l) o el % de remoción de DBO ($48 \pm 1\%$) asociados a la procedencia de los esporos (medio A o B) o a la concentración de los mismos. Sin embargo, debido al menor tiempo requerido, esporos procedentes del medio B se seleccionaron para inocular una nueva muestra de vinaza (100 ml) a una concentración final de 1×10^6 UFC/ml. Luego de 14 días de incubación a 30°C (150 rpm) se detectó una concentración de biomasa y un % de remoción de DBO significativamente mayor que los detectados al 6^{to} día, con valores de $5 \pm 0,1$ g/l y $84 \pm 2 \%$, respectivamente. En base a estos resultados, se concluye que tanto el medio usado para la producción de esporos como el periodo de incubación serian parámetros claves para optimizar el proceso de degradación de vinaza mediado por la cepa V1.

EXTRACCIÓN DE ANTIOXIDANTES DE CASCARILLA DE SOJA EMPLEANDO UN CULTIVO SÓLIDO DE *Aspergillus oryzae*

Carla Di Ponte (1), Natasha Melnichuk (1), Ignacio Cabezudo (1), María Rocío Meini (1),
Diana Romanini (1)*

(1) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos de Rosario (IPROBYQ-CONICET); FCBYF-UNR, Rosario, Argentina.

La soja es la planta más cultivada en todo el mundo y es el cultivo principal del sur de Santa Fe. La cascarilla de soja (CS) representa el principal subproducto de la industria aceitera de soja, y representa alrededor del 8% del peso del grano de soja. Este subproducto permanece en la región y constituye un problema ambiental ya que, solo un bajo porcentaje es reutilizado para la producción de alimento bovino debido a su baja digestibilidad. Este residuo es una fuente de polifenoles (PFs) con propiedades antioxidantes que ha sido poco explorada. El presente trabajo tuvo como objetivo la extracción PFs en un cultivo sólido de *Aspergillus oryzae* empleando como soporte de crecimiento y única fuente de carbono cascarilla de soja y un medio con trazas. La CS, previamente molida y tamizada (*mesh* 20), se inoculó con 1g con $4,75 \times 10^7$ conidios de *A. oryzae* (0,495 μ L de suspensión almacenada en glicerol a -70°C) y se le adicionaron 10mL de solución de trazas. El cultivo se incubó durante 7 días a 30°C (temperatura óptima de crecimiento del hongo). El contenido fenólico total (CFT) se determinó por el método Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como patrón. La reacción genera un producto de color azul que puede ser determinado por mediciones de absorbancia a 720nm. La actividad antioxidante (AA) se determinó por decoloración cation ABTS por medidas de absorbancia a 734 nm luego de 1 min, empleando Trolox como compuesto de referencia. Se pudo observar que el desarrollo del hongo generó la secreción de enzimas hidrolasas inducidas por la presencia de polisacáridos de la CS. Los valores de CFT obtenidos en los extractos fúngicos son producto de la acción enzimática sobre la fibra de CS lo cual favorece la liberación de antioxidantes atrapado. La máxima extracción se observó en el día cinco de cultivo donde se obtiene un aumento de 2,14 veces (2,74 mg CFT/g CS) y 3,71 veces mayor de AA (0,0219 mmol Tlx/g soja) respecto a la CS sin tratamiento fúngico. Estos resultados preliminares demuestran que la CS puede emplearse como fuente natural y segura de antioxidantes con el objetivo de emplearlos en alimentos, como nutraceuticos, o como productos cosméticos o farmacéuticos, para reemplazar antioxidantes sintéticos. Por otro lado, el resultado de la fermentación fúngica devuelve a la naturaleza un subproducto degradado que es mucho más accesible para la degradación natural.

POTENCIAL OLEAGINOSO DE UNA NUEVA ESPECIE DE LEVADURA PSICRÓFILA: CONTENIDO LIPÍDICO Y ANÁLISIS GENÓMICO

Ariel Favier (1) *, Paula Nizovoy (1), Nicolás Bellora (1), Antonio Uttaro (2), Andrea Trochine (1)

(1) Instituto Andino-Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales (IPATEC), San Carlos de Bariloche, Argentina. (2) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR), Rosario, Argentina.

Las levaduras oleaginosas son capaces de almacenar lípidos en cantidades superiores al 20% de su peso seco. Bajo condiciones como una alta relación C/N, éstos se acumulan en vesículas compuestas por triglicéridos (TAGs). Estas levaduras pueden producir ácidos grasos (AG) de valor nutricional o precursores de biodiesel. Se evaluó el potencial oleaginoso de una levadura psicrófila aislada de ambientes fríos, cercana a los clados *Glaciozyma* y *Campybasidium* (clase *Microbotryomycetes*), que había mostrado gran capacidad de acumulación lipídica por tinción con Rojo Nilo. Se seleccionaron 3 cepas aisladas de los glaciares Castaño Overa (CO1.5; genoma secuenciado por NGS), Perito Moreno (CRUB 1745) y Antártida (ANT10.8). Todas generaron mayor biomasa a 10°C en comparación con 4 y 15°C, y no fueron capaces de crecer a partir de los 20°C. Para evaluar la producción de lípidos, las levaduras se inocularon por triplicado en medio de alta relación C/N con glucosa como única fuente de C (GMY, 10°C), y se monitorearon hasta los 12 días de cultivo. La producción total de lípidos y la biomasa se cuantificaron por gravimetría, y el perfil de AG se caracterizó por GC-MS. La producción de lípidos fue de 7.4, 6.0 y 3.6 g/l, para ANT10.8, CO1.5 y CRUB 1745 respectivamente. Las cepas CO1.5 y ANT10.8 mostraron acumulaciones mayores al 60% de lípidos -en función de la biomasa-, superiores respecto de la cepa CRUB 1745 (48%), pero el rendimiento en función del sustrato consumido fue similar en todas ($\approx 25\%$). En el perfil de AG predominaron los AG 18:1 (40-50%), con valores de AG 18:2 de 4 a 6%, y un grado de insaturación más característico de levaduras mesófilas ($USI \approx 1,18$). Por otra parte, se realizó una búsqueda de genes relacionados con el fenotipo oleaginoso y el metabolismo de lípidos, en el genoma de la cepa CO1.5. Se utilizaron como señuelo secuencias pertenecientes a levaduras oleaginosas conocidas. Así, se identificaron genes codificantes para la proteína ATP-Citrato Liasa (ACL), común a todas las levaduras oleaginosas conocidas, dos copias de la Enzima Málica, desaturasas $\Delta 9$ (una copia), 6, 12 y 15 (dos copias de cada una), y elongasas de tipo 1 y 2. La presencia de dichos genes y los altos rendimientos de producción lipídica corroboran la potencial aplicación de esta levadura en la producción de lípidos; así como fuente de enzimas de interés. A futuro, se evaluará el rendimiento de esta levadura en diferentes fuentes de C, incluyendo fuentes nutricionales de bajo costo.

ENSAYO DE DOS ESTRATEGIAS DE EXPRESIÓN DE GENES HETERÓLOGOS IMPLICADOS EN LA METABOLIZACIÓN DE XILOSA EN *Saccharomyces cerevisiae*

Belén Fernández (1)*, Ana Karen Malán (1), Alejandra Fagúndez (1), Lucía Coimbra (1), Martín Pratto (2), Mairan Guigou (2), Claudia Lareo (2), Silvia Batista (1)

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. (2) Facultad de Ingeniería, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

El etanol de 1era-generación se produce por fermentación de azúcares libres contenidos en algunos cultivos. El organismo responsable y usualmente usado en la industria es *Saccharomyces cerevisiae*. El etanol de 2da-generación, a partir de residuos lignocelulósicos, se plantea como alternativa para aumentar la producción de etanol sin incrementar el área plantada y contemplar la creciente demanda de combustibles. Sin embargo, *S. cerevisiae* es incapaz de fermentar algunos de los azúcares del residuo lignocelulósico, en particular xilosa. Una estrategia para eludir dicho problema es la obtención de cepas recombinantes de *S. cerevisiae* capaces de consumir xilosa mediante la expresión de genes heterólogos de las vías oxo-reductiva, de xilosa isomerasa o de Weimberg. Se busca la obtención de cepas recombinantes de *S. cerevisiae* capaces de fermentar xilosa-glucosa simultáneamente, generando etanol como producto más abundante para la producción industrial de etanol de 2da-generación. Se trabajó con cepas comerciales diploides: CCTCC M94055 y CAT-1. Las modificaciones fueron generadas mediante dos estrategias: a) recombinación-homóloga de fragmentos de ADN con genes en tándem, en los dos alelos GRE3 (gen de xilosa reductasa con alta afinidad por NADPH) de cada cepa y b) transformación con plásmidos replicables en alto número de copias (2 μ). En el primer caso, los fragmentos contienen genes heterólogos (*Scheffersomyces stipitis*) involucrados en las vías oxo-reductiva (XR-XDH) y xilosa isomerasa (XI) (*Streptomyces coelicolor*); todos ellos optimizados para la expresión en levaduras. También se incorporaron genes homólogos involucrados en el transporte de azúcares (cuyo uptake de xilosa no se ve inhibido por glucosa), gen de la vía de pentosa-fosfato (TAL1) y xiluloquinasa (XK). Por otro lado, se transformó la levadura (cepas salvajes y recombinantes) con plásmidos (2 μ) conteniendo el gen heterólogo XI de *Piromyces* spp, bajo el control de un promotor fuerte. Las cepas modificadas por recombinación-homóloga no lograron crecer en xilosa, probablemente debido a que los genes incorporados en el cromosoma no logran expresarse a niveles adecuados. La introducción del plásmido (2 μ) con XI permitió que esas cepas recombinantes crecieran en xilosa, pero no así las cepas salvajes. Los clones obtenidos se someten a evolución dirigida en diferentes medios y condiciones para la selección de las mejores cepas productoras de etanol.

INGENIERÍA GENÉTICA DE LA BACTERIA SIMBIONTE *Sinorhizobium meliloti* PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO

Juan Pablo Liaudat (1), Daniela Beatriz Medeot (1), Ma. Laura Flores-Cáceres (1),
Edgardo Jofré (1)*

(1) Departamento de Ciencias Naturales, FCEFQyN, Universidad Nacional de Rio Cuarto, Córdoba, Argentina.

El ácido hialurónico (AH) es un polisacárido presente en la matriz extracelular de los vertebrados. Este polímero está involucrado directamente en procesos como la inflamación, embriogénesis, metástasis, angiogénesis y cicatrización de heridas. Debido a su elevada capacidad de retención de agua, biocompatibilidad y propiedades viscoelásticas, es un componente principal de diversos productos farmacéuticos, biomédicos y cosméticos con gran valor comercial a nivel mundial. El AH es también un componente de la cápsula formada por un grupo reducido de microorganismos patógenos como *Streptococcus* spp., los cuales se han utilizado tradicionalmente como una fuente para la manufactura de productos basados en AH. Sin embargo, la producción de AH mediante el uso de productores naturales, ha sido observada debido a una preocupación creciente en relación al uso de productos biomédicos derivados de microorganismos patógenos. En consecuencia, se han desarrollado numerosos microorganismos modificados genéticamente para la producción de AH. No obstante, la eficiencia obtenida con estos sistemas ha resultado menor a la obtenida con estreptococos patógenos. Este trabajo describe el uso de la bacteria *Sinorhizobium meliloti* para la producción de AH. A pesar de su notable capacidad para la producción de exopolisacáridos, dicho microorganismo nunca se ha utilizado para la producción de polímeros de importancia industrial. Utilizando técnicas de vanguardia como la microbiología sintética nos planteamos como objetivo el diseño y desarrollo de una nueva bacteria productora de AH. La cuantificación de AH fue realizada mediante un ensayo sensible y específico de ELISA-HA y la identidad del polímero confirmada mediante digestión con hialuronidasa. Demostramos que en *S. meliloti*, se requiere sólo el gen de la sintasa de AH para la producción de ácido hialurónico. El polímero es liberado fuera de la célula y puede ser recuperado fácilmente a partir del sobrenadante del cultivo. Asimismo un incremento en la actividad UDP-glucosa dehidrogenasa, resultó en un aumento en la producción de AH. Notablemente, en un microorganismo gram-negativo como *S. meliloti*, la sintasa de un microorganismo Gram positivo como *Streptococcus equisimilis* resultó más apropiada para la producción de AH que la sintasa de *Pasteurella multocida*. La integración de la sintasa de AH en el *cluster* del EPS II, resultó en una expresión constitutiva del gen *SeHas* con la consecuente producción de AH.

BIOPROCESADO POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO CON *Rhizopus oryzae* DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) PARA INCREMENTAR SU CALIDAD ALIMENTICIA

Liliana Londoño-Hernandez (1), Antonela Taddia (2)*, Cristóbal N. Aguilar (1), Guillermo Pico (2), Cristina Ramírez-Toro (3), Héctor A. Ruiz (1), Juan A. Ascacio-Valdés (1), Raúl Rodríguez (1), Gisela Tubio (2)

(1) DIA-UAdeC, Grupo de Bioprocesos, Departamento de investigación en alimentos, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila, México. (2) Departamento de Tecnología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas – Universidad Nacional del Rosario, IPROBYQ-CONICET. Rosario, Argentina. (3) Facultad de Ingeniería - Escuela de Ingeniería de Alimentos, Universidad del Valle. Cali, Colombia.

De acuerdo con la proyección de crecimiento poblacional, se espera que para el año 2050 el número de personas se incremente alrededor de 33%, por lo cual el sector agroindustrial debe aumentar su producción para lograr abastecer a la población de alimentos. Uno de los componentes de mayor importancia en los alimentos es la proteína, la cual debe contener un adecuado balance de aminoácidos esenciales para ser considerada de alta calidad biológica. Se considera que la proteína de origen animal es de mejor calidad, sin embargo, es más costosa. Por tanto, es necesario buscar otras fuentes proteicas económicas. Los residuos agroindustriales, como la pulpa de café (PC), son una fuente alterna de proteína, sin embargo, esta es de baja calidad, pero puede ser mejorada por procesos biotecnológicos simples y de bajo costo. La fermentación en estado sólido (FES), es uno de los procesos más antiguos de elaboración de alimentos y entre sus beneficios demostrados se encuentran el mejoramiento de la calidad nutricional y las características sensoriales de los productos procesados con esta tecnología. Se evaluó en el tiempo, el contenido de proteínas solubles y la digestibilidad proteica *in vitro* de las proteínas contenidas en la PC fermentada en estado sólido con *R. oryzae* MUCL 28168. Se llevaron a cabo cinéticas de fermentación en biorreactores en bandejas durante 144 h a 34°C y 90% de humedad relativa. La PC fue molida, tamizada (1.00 mm) y humedecida con agua estéril hasta 70% a pH 5.0. Se inoculó con suspensión de esporas de 1×10^6 conidios/g tomándose muestras cada 24h para determinación de humedad (AOAC 934.01), contenido de proteínas totales (PT) (AOAC 976.05) y solubles (PS) (Método del ácido bicinconínico) y la digestibilidad proteica *in vitro* (Método Hsu). De los 109 mg/g de PT que contiene la PC, 25.32 mg/g corresponden a PS. Durante las primeras 48 h se presentó una reducción del contenido de PS, como así también de la digestibilidad, probablemente debido a que el microorganismo que crece sobre el sustrato hidroliza las proteínas de la PC para su crecimiento. Posteriormente se observó que la concentración de PT se incrementó, debido a la producción de biomasa fúngica, alcanzando su máximo (114 mg/g) a las 96 h de proceso. Finalmente hubo una disminución del 22% en la concentración de PT. El bioprocesado de la PC por FES con *R. oryzae* representa una técnica de baja costo, simple y escalable que permite aumentar 5% el contenido proteico del sustrato en 96 horas.

PRODUCCIÓN DE ENZIMA TANASA EN CULTIVOS LÍQUIDOS DE *Aspergillus niger* EMPLEANDO ORUJO DE UVA COMO SUSTRATO

María Rocío Meini (1)*, Laura Ricardi (1), Diana Romanini (1)

(1) IPROBYQ-CONICET, FCBioyF, UNR, Rosario, Argentina.

La enzima tanasa cataliza la reacción de hidrólisis de enlaces ésteres presentes en los taninos hidrolizables y en los ésteres de ácido gálico. Una de las principales aplicaciones de la enzima tanasa en la industria alimenticia es la elaboración de té instantáneo. Por otro lado, esta enzima se emplea para la producción de ácido gálico, que sirve como intermediario en la síntesis de la droga antibacterial trimetoprima y en la industria alimenticia, sirve como sustrato para la síntesis química o enzimática de propilgalato, un potente antioxidante. La tanasa sirve además como agente clarificante en vinos, jugos de frutas y bebidas refrescantes con sabor a café. A pesar de sus múltiples aplicaciones, la enzima tanasa es actualmente una enzima costosa, lo cual limita su uso. Los hongos filamentosos del género *Aspergillus* se han utilizado extensamente en la producción de tanasa, tanto en medio sólido como en medio líquido. Los compuestos fenólicos como ácido gálico, metil galato y ácido tánico inducen la síntesis de tanasa y pueden ser utilizados como única fuente de carbono. Una manera de reducir los costos de producción implica reemplazar el ácido tánico comercial por fuentes naturales de taninos. Se han probado hojas, pieles y frutos de distintas plantas, así como los desechos del té. En el presente trabajo, proponemos emplear como fuente de taninos el orujo de uva remanente de la industria vitivinícola, dado su alta proporción de taninos, y a que el mismo constituye un residuo cuantioso en las regiones de producción de vino de nuestro país. Se probaron distintas condiciones en cultivos de *A. niger* en medio líquido, empleando como única fuente de carbono ácido tánico (control), orujo de uva de distintas cepas, y combinaciones de ácido tánico y orujo de uva. Se tomaron muestras cada 24 h, y se evaluó la producción de enzima tanasa a través de medidas de actividad por el método de rodanina metanólica. Encontramos que el orujo de uva por sí solo no es capaz de inducir la producción de enzima tanasa a niveles comparables al ácido tánico. Sin embargo, el empleo de orujo de uva combinado con ácido tánico da lugar a un efecto sinérgico en la inducción de la enzima, que permite reducir la concentración de ácido tánico manteniendo el nivel de producción óptimo.

PRODUCCIÓN DE ALFA-AMILASA FÚNGICA EMPLEANDO DESECHOS AGROINDUSTRIALES COMO SUSTRATO Y SOPORTE DE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

Natasha Melnichuk (1), Diana Romanini (1)*

(1) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos de Rosario (IPROBYQ-CCT Rosario), Rosario, Argentina.

La alfa-amilasa (α -Amy) es una enzima de gran importancia económica con un amplio rango de aplicaciones que incluye campos como el textil, el de los alimentos, la industria farmacéutica y de los detergentes; además de la química analítica y la medicina. La cascarilla de soja y el afrechillo de trigo son subproductos abundantes que provienen de las empresas aceiteras y de molinos, respectivamente. Estos subproductos poseen características que le otorgan gran potencialidad como soporte y sustrato para la fermentación en estado sólido (FES) empleando hongos filamentosos. La FES permite obtener grandes cantidades de enzimas en un volumen pequeño así como, un residuo degradado y reducido en volumen que minimiza el impacto de los desechos industriales sobre el medioambiente. El objetivo de este trabajo fue producir α -Amy de *Aspergillus oryzae* por FES, empleando cascarilla de soja y afrechillo de trigo como soporte y sustrato. Se llevaron a cabo cultivos sólidos en un recipiente de aluminio conteniendo 1,0 g de sustrato sólido (cascarilla de soja y/o afrechillo de trigo según el experimento) en distintos volúmenes de buffer fosfato 20 mM pH 4,6 y suplementando con elementos traza y sal de amonio. Luego de esterilizar se sembraron 1×10^7 conidios de *A. oryzae* y se incubó en estufa a 30°C durante tiempos variables (4, 5, 6 y 7 días). Los sistemas se filtraron con filtro de tela y se midió actividad amilolítica empleando el kit comercial Amilase 405, kinetic unitest, Winer Lab. Se utilizó un cultivo sumergido de *A. oryzae* optimizado como referencia para comparar los resultados obtenidos por los métodos de FES. Finalmente, el sistema se escaló 50 veces. Los resultados mostraron que la mejor condición para producir α -Amy por FES fue empleando 1 g de sustrato compuesto por 55% afrechillo de trigo y 45% cascarilla de soja en 10 ml de buffer fosfato 20 mM pH 4,6. La máxima actividad α -Amy se obtuvo a los 6 días de incubación y fue igual a 60,2 U/l; aproximadamente 4,5 veces superior al cultivo sumergido optimizado. El escalado de 50 veces del sistema FES mostró una actividad de 65,3 U/l indicando que este sistema no presenta limitaciones en el escalado. De esta manera, puede concluirse que es factible producir α -Amy de *A. oryzae* por FES empleando un soporte compuesto por cascarilla de soja y afrechillo de trigo, dos residuos agroindustriales abundantes en la región.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE *Gallus gallus domesticus* Y SU POTENCIAL USO COMO PROBIÓTICOS

Erika Nava-Reyna (2), Anna Iliná (1), Georgina Michelena Álvarez (3), José Daniel García García (1), Mónica L. Chávez González (1), José Luis Martínez Hernández (1)*

(1) Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila, México. (2) Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias CENID-RASPA, Gómez Palacio, Durango, México. (3) Instituto Cubano de Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar, La Habana, Cuba.

Existe una relación directa entre el funcionamiento del tracto intestinal y la tasa de crecimiento, índice de conversión y diversas enfermedades. La adición de ciertos microorganismos probióticos permite el mantenimiento de un determinado tipo de flora que favorece el funcionamiento gastrointestinal. Por lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo la evaluación del potencial de diferentes cepas bacterianas aisladas del tracto digestivo (buche, ileon y ciego) de *Gallus gallus domesticus* para emplearse como probióticos. Las muestras gastrointestinales fueron diluidas seriadamente, inoculadas en agar MRS e incubadas 48 h a 37°C anaeróticamente. Veintidos cepas bacterianas fueron aisladas (B-1 a B-22), caracterizadas morfológicamente y conservadas en glicerol al 50% (v/v) en congelación hasta su uso. Para la evaluación de su capacidad probiótica se determinó la actividad antagonista contra *Escherichia coli*, la actividad amilasa, proteasa, lipasa y fitasa, la hidrofobicidad de la superficie celular, la tolerancia a pH ácidos y sales biliares. Las cepas con mejores resultados fueron identificadas por la amplificación del gen 16S ARNr. Todas las cepas aisladas fueron bacilos o cocobacilos gram-positivos en pares o cadenas. La mayoría de las cepas, a excepción de la B-9, B-14, B-15, B-17, B-20 y B-22, presentaron actividad antagonista contra *E. coli* y un pH entre 4.6 – 5.5, por lo cual, la inhibición de *E. coli* y otros enteropatógenos puede relacionarse con la producción de ácido láctico y otros ácidos orgánicos. Las cepas B-5 y B-10 fueron las únicas con todas las actividades enzimáticas analizadas (fitasa 7.5 y 9.0 cm, amilasa 3.5 y 3.0 cm, proteasa 6.5 y 6.0 cm, lipasa 5.5 y 5.5 cm, respectivamente), por lo tanto, el resto de las pruebas sólo se les realizó a estas dos cepas. La cepa B-5 presentó una mayor hidrofobicidad de superficie, mientras que la B-10 mostró mayor tolerancia a pH 2 y una concentración de sales biliares de 0.1%. La identificación molecular confirmó que las bacterias seleccionadas corresponden a *Streptococcus infantarius* (B-5) y *S. lutetiensis* (B-10). Aunque algunas especies del género *Streptococcus* spp. han sido ampliamente utilizadas como probióticos, estas dos especies en particular no han sido estudiadas con este propósito, aunque existen reportes que sugieren su capacidad probiótica.

UTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES COMO SUPLEMENTO PARA LA PRODUCCIÓN DE PHAS POR *Cupriavidus necator*

Daiana Nygaard (1,2)*, Oxana Yashchuk (1,2), Élida Hermida (1,2)

(1) ECyT, UNSAM, San Martín, Argentina. (2) CONICET, CABA, Argentina.

Los polihidroxicanoatos (PHAs) son polímeros biodegradables de origen bacteriano, que sirven como sustitutos de los plásticos de origen petroquímico. Sus costos de producción no son competitivos respecto a los de los plásticos convencionales; uno de los factores que encarecen el proceso es la fuente de carbono de las bacterias. El objetivo de utilizar residuos agroindustriales como fuentes de carbono para la producción de PHAs tiene doble beneficio: abaratar los costos de producción y evitar su disposición final en el medio ambiente. En este trabajo se empleó *Cupriavidus necator* para generar un inóculo con 5% de cultivo en Erlenmeyers de 250 ml con 60 ml de medio mineral (pH 7). Como fuente de carbono se utilizaron carbohidratos de grado analítico (almidón, glucosa, sacarosa, glucosa) y diferentes residuos agroindustriales (melaza de caña de azúcar, aceite de cocina usado, jugo de yerba mate y suero de leche). Se incubó a 30°C y 150rpm durante 48h. Se cuantificó la producción de biomasa por gravimetría, y la acumulación cuantitativa de PHA a partir de muestras digeridas con ácido sulfúrico al 80%, midiendo la absorbancia a 234nm. La productividad de PHA se maximiza con fructosa y como suplementos jugo de yerba mate y melaza. En el medio control con fructosa como única fuente de carbono, la biomasa fue de 2.43g/l y el PHA 0.55g/l, resultando una acumulación de polímero en biomasa de 23%. Se hicieron pruebas con 10, 20 y 30g/l de residuos seleccionados como suplemento, para hallar la concentración óptima. Con suplemento de jugo de yerba, no se observa un aumento significativo en la biomasa, sin embargo, aumenta considerablemente el porcentaje de polímero acumulado hasta 37% con 30g/l del residuo. Se obtuvo un valor máximo de biomasa de 3.73g/l, con 20g/l de melaza sin embargo no aumentó al porcentaje de polímero acumulado. Como conclusión, la fructosa es la fuente de carbono principal para asegurar el óptimo crecimiento de *C. necator*. El suplemento de melaza mejora la producción de biomasa mientras que el de yerba mate aumenta considerablemente la acumulación de PHA; este aumento se ve favorecido al aumentar la concentración del residuo. Por lo tanto, se plantea como una buena estrategia a futuro la combinación de los residuos de melaza y yerba mate como suplemento en la formulación del medio de cultivo óptimo.

CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICLOSTRIDIAL DE CEPAS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS NATIVAS DE LECHE Y QUESO COMPATIBLES CON LA PRODUCCIÓN QUESERA

Jorge Olivera (1) *, Marcela González (1), Stella Reginensi (1)

(1) Unidad de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Durante la maduración de los quesos duros y semiduros especies de *Clostridium* producen un defecto denominado “hinchazón tardía” caracterizado por la formación de ojos irregulares, rajaduras, malos sabores y aromas. En relación a lo citado previamente, el valor comercial de estos quesos afectados es menor ya que destinan al fundido o a la producción de queso rallado. Ninguno de los métodos empleados por la industria quesera controla totalmente el desarrollo de estos microorganismos, por lo que es necesario aplicar estrategias alternativas, por ejemplo usar cepas de bacterias ácido lácticas (BAL) anticlostridiales como cultivos bioprotectores en la elaboración de quesos. Los objetivos de la presente investigación fue: 1) aislar cepas BAL nativas con acción anticlostridial de leche, suero lácteo y quesos, 2) determinar sus mecanismos de inhibición, 3) caracterizar los compuestos inhibitorios, 4) evaluar la compatibilidad de las cepas aisladas con la lisozima, 5) comparar la acción anticlostridial de los aislamientos con la de cepas anticlostridiales comerciales sobre cepas de *Clostridium* spp. nativas de leche y quesos. Se obtuvieron 130 aislamientos de BAL y se evaluaron su efecto en 56 cepas anticlostridiales de acuerdo a la técnica de estrías en placas agar Reinforced *Clostridium* Medium. Con los métodos de difusión en hoyos y de sobrecapa se seleccionaron las 7 cepas con mayor actividad inhibitoria para identificar sus mecanismos de acción. Los sobrenadantes obtenidos de caldos MRS crecidos con las cepas en estudio fueron neutralizados, tratados con catalasa, proteinasa K para detectar la presencia de H₂O₂ y bacteriocina en agar RCM por el método de difusión. Todos los aislamientos presentaron actividad inhibitoria por acidez. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 76 produjo H₂O₂, mientras que *L. casei* 26 y *L. casei* 95 generaron H₂O₂ y bacteriocinas. Para *L. casei* 95 se pudo comprobar por espectrometría de masa la presencia de un compuesto peptídico de 1162,5 Da. En tubos con caldo MRS adicionados con lisozima se evaluó la susceptibilidad de las tres cepas a la lisozima. Ninguna de ellas fue inhibida. En referencia a la acción anticlostridial sobre *Clostridium* nativos de lácteos todas las cepas ejercieron actividad inhibitoria similar a *L. casei* Bal C (cepa comercial). Incluso *L. casei* 26 inhibió a *C. sporogenes* y *C. butyricum* más que las restantes cepas testeadas, mientras que *L. casei* 95 tuvo la mayor acción inhibitoria contra *C. tyrobutyricum*.

**CLONADO Y EXPRESIÓN DE GENES *cry* BAJO EL CONTROL DE UN PROMOTOR
DEPENDIENTE DE ESPORULACIÓN EN UNA CEPA ACRISTALÍFERA DE *Bacillus
thuringiensis***

María I. Onco (1,2)*, Diego Sauka (1,2), Marcelo Berretta (1,2), Melisa Pérez (1,2),
Nanci López (1), Graciela Benintende (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (Argentina). (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Bacillus thuringiensis se caracteriza por producir cristales constituidos por diversas proteínas Cry durante la fase de esporulación que son tóxicos para insectos. Ya que es de interés conocer la toxicidad de cada proteína cristalina para una determinada plaga, es necesario en principio clonar sus genes respectivos y expresarlos individualmente. En este estudio se planteó el clonado y expresión de los genes *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry2Aa* y *cry2Ab* de las cepas INTA TA21-2, INTA H48-5, HD-73 *svr. kurstaki*, INTA H42-1 e INTA TA24-6 respectivamente, en la cepa acristalífera de *B. thuringiensis* 4Q7. Se amplificó mediante *hot start* PCR el marco de lectura abierta de dichos genes utilizando un par de cebadores que contienen en sus extremos sitios de restricción para el clonado correcto en el vector plasmídico pSVP27, que puede replicar tanto en *Escherichia coli* como en *B. thuringiensis*. Los amplicones generados y el vector fueron digeridos con *Bam*HI y *Sph*I para permitir la ligación. Se transformaron los productos de la ligación por electroporación en la cepa XL-1 de *E. coli*. Seguidamente se extrajo el DNA plasmídico de los clones recombinantes y se transformó en 4Q7. La identidad de cada gen *cry* clonado se corroboró mediante PCR con cebadores específicos para cada gen y del vector, y secuenciación de sus amplicones. Se analizó la expresión mediante microscopía óptica de contraste de fases en cultivos completamente esporulados de los clones seleccionados, identificándose la presencia de cristales libres muy pequeños. No se detectaron en geles SDS-PAGE las bandas esperadas de aproximadamente 130 o 65 kDa correspondientes a Cry1 y Cry2 respectivamente, con excepción del clon que expresa Cry1Ac. Finalmente se evaluó la toxicidad de los clones recombinantes obtenidos para larvas neonatas del lepidóptero *Cydia pomonella* mediante bioensayos de incorporación en dieta (1000 µg biomasa seca/ml de dieta). Además se determinó la patogenicidad para larvas de *Aedes aegypti* de los clones transformados con *cry2Aa*. Los clones estudiados fueron responsables de altos porcentajes de mortalidad, con excepción de los transformados con *cry2Ab*. En conclusión, se consolidó en el laboratorio una estrategia para el clonado y expresión de genes *cry* en *B. thuringiensis*. Los clones recombinantes obtenidos podrían ser empleados para seleccionar proteínas Cry con alta toxicidad para insectos en los que no se conoce su grado de virulencia.

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE UN EMULSIFICANTE MICROBIANO EMPLEANDO CÉLULAS CACO-2 COMO INDICADOR

Macarena María Rulli (1), Analia Álvarez (2,3), Luciana Melisa Del Gobbo (1), María Soledad Fuentes (3), Verónica Leticia Colin (3)*

(1) Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, San Miguel de Tucumán, Argentina. (3) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET), San Miguel de Tucumán, Argentina.

Los bioemulsificantes (BE) son moléculas anfipáticas utilizadas en tecnologías de remediación ambiental para la recuperación de contaminantes hidrofóbicos. Estas biomoléculas se consideran sustitutos promisorios de sus homólogos obtenidos por síntesis química, ya que presentan niveles aceptables de biodegradabilidad y toxicidad nula o reducida. En un estudio previo, se informó sobre un BE producido por una cepa de *Bacillus* con capacidad para extraer una amplia gama de sustratos hidrofóbicos a partir de medios líquidos. Sin embargo, un estudio de toxicidad podría ser necesario para estimar su compatibilidad ambiental, previa aplicación en tecnologías de bioremediación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la inocuidad del producto microbiano empleando células Caco-2 como indicador toxicológico. Además se evaluó, de modo comparativo, la toxicidad de dos agentes emulgentes sintéticos (dodecil sulfato de sodio, SDS, y Tween 80) y de un emulgente de origen vegetal como la goma arábica (GA). Se analizó la viabilidad de las células Caco-2 provenientes del cáncer de colon humano luego de ser expuestas a 200 µl de medio de cultivo/agente emulgente (10: 1, v/v) durante 3 horas a 37°C. Como controles del ensayo se emplearon: a) células incubadas con medio de cultivo (control de viabilidad, CV), b) células incubadas con una solución de Tritón X-100 al 1% (control de toxicidad, CT) y c) células incubadas con agua corriente (control de agua, CA). Transcurrido el periodo de incubación, las células se enjuagaron e incubaron durante 3 horas más con el reactivo bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio. Luego de solubilizar los cristales de formazano mediante la adición de dimetilo, se determinó la absorbancia a 570 nm calculando el porcentaje de viabilidad celular en relación al CV (100% de viabilidad). Los resultados demostraron que los agentes emulsionantes ensayados afectaron la viabilidad de las células Caco-2 en el siguiente orden: SDS~GA > Tween 80~BE. A su vez, el efecto de SDS y GA fue similar al del CA con una reducción aproximada de la viabilidad del 30%. Tanto el BE como el Tween 80 no mostraron efectos tóxicos sobre estas células, con porcentajes de viabilidad del 93% y 97%, respectivamente. Estos resultados demuestran la inocuidad del producto microbiano por lo que el mismo podría ser usado en tecnologías de remediación ambiental, sin perjuicio para el medio ambiente.

RECUBRIMIENTOS FORMULADOS CON QUITOSANO DE ORIGEN NACIONAL: EFECTO SOBRE LA CALIDAD DE HOJAS DE LECHUGA MÍNIMAMENTE PROCESADAS

Agustina Scampini (1), Gabriela Fasciglione (1)*, Victoria Quillehauquy V. (1), Jonas Pérez (2), Guadalupe Martínez Sáenz (3), Alejandra Yommi A. (1), Cecilia Creus (1)

(1) Unidad Integrada Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP-INTA EEA Balcarce, Balcarce, Argentina. (2) Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología (ITPN) UBA-CONICET. Facultad de Ingeniería. UBA. Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Industrial INTI, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

El empleo de biopolímeros con propiedades antibacterianas, entre ellos el quitosano, es una alternativa para la conservación postcosecha de vegetales. Para incentivar su producción nacional, INTI-MDP planteó desarrollarlo a partir de residuos del procesado de langostino. Sin embargo, aún se desconoce su completa caracterización y efectividad en determinados alimentos, como por ejemplo en las hortalizas de hoja. Los objetivos de esta investigación fueron caracterizar fisicoquímicamente el quitosano desarrollado en INTI-MDP (QI) y el impacto de su asperjado postcosecha en hojas de lechuga sobre la fisiología y el desarrollo de microorganismos respecto a un quitosano de origen comercial Sigma (QC). Ambos biopolímeros se caracterizaron por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^{13}C -RMN) y análisis térmogravimétrico (TGA), con el fin de analizar su estructura, grado de desacetilación (GD), pureza y calidad. El QC presentó un GD ligeramente superior al QI, relacionado con un mayor nivel de pureza. Los productos mínimamente procesados (PMP) se elaboraron con hojas de lechuga (*Lactuca sativa* cv. Matilda) que se lavaron con agua destilada y se rociaron con las soluciones de QI o QC, ambas al 1% m/v disueltas en ácido láctico 1%v/v, contando con un control del disolvente y un control sin tratar. Las hojas fueron envasadas en bolsas de polipropileno y se almacenaron por 15 días (4°C y 98% HR). Al inicio y cada 3 días se evaluaron Indicadores de la Calidad Microbiológica (ICM): recuento de bacterias mesófilas aeróbicas, de bacterias psicrófilas, coliformes, hongos y levaduras; también se midieron indicadores del estado fisiológico (IEF): peso fresco y concentración de CO_2 y C_2H_4 en el interior de los envases. La aplicación de QI y de QC redujo el desarrollo los ICM, independientemente de su diferente GD y pureza. Ninguno afectó significativamente la pérdida de peso del producto. En la lechuga mínimamente procesada tratada con el quitosano desarrollado en INTI-MDP se incrementó la producción de C_2H_4 y CO_2 respecto a los controles y a los tratados con QC durante el período de postcosecha estudiado, lo que sugiere la ocurrencia de daño con la dosis aplicada. Este trabajo muestra que el quitosano controla eficazmente el crecimiento de microorganismos pero que es importante ajustar la dosis y probar diferentes disolventes para no alterar la fisiología del producto.

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE UNA FOSFOLIPASA TERMOESTABLE RECOMBINANTE EN LA LEVADURA *Kluyveromyces lactis*

Bruno Schulze (1), Laura Navas (2,1), Graciela Benintende (1), Jorge Arcas (1),
Marcelo Berretta (1,2)*

(1) Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Argentina.

Las fosfolipasas tienen diversas aplicaciones en la industria alimentaria, como en el proceso de refinado de aceites vegetales, en la elaboración de productos lácteos, de panificación y emulsionantes. En trabajos previos caracterizamos una fosfolipasa bacteriana termoestable (PLP2.9), proveniente del aislamiento nativo *Thermus* sp. 2.9. La enzima recombinante producida en *E. coli* presenta actividad fosfolipasa A y aciltransferasa, a una temperatura óptima de 70°C. En este trabajo se clonó y expresó el gen *plp2.9* en la cepa de levadura *Kluyveromyces lactis* GG799, con vistas a expresar la enzima secretada en el medio de cultivo. Este organismo cuenta con un historial GRAS (*generally regarded as safe*) para la producción heteróloga de enzimas para la industria alimentaria. El gen *plp2.9* fusionado a la secuencia de la señal de secreción del gen *α -mf* (*mating factor*) se integró en el locus LAC4, bajo el promotor inducible del gen que codifica la β -galactosidasa. Para la recombinación con el genoma de la levadura se utilizó un cassette de integración conteniendo el gen codificante de una acetamidasa que le confiere la capacidad de crecer en presencia de acetamida como única fuente de N. Se obtuvo un clon recombinante, *K. lactis-plp2.9*, en el que se confirmó la integración del cassette de expresión por PCR. Para analizar la producción de PLP2.9 recombinante, primeramente se determinaron las condiciones óptimas de crecimiento para la cepa parental. Posteriormente, se cuantificó actividad fosfolipasa a 65°C, en cultivos de *K. lactis-plp2.9*, a distintos tiempos, utilizando glucosa, galactosa y lactosa, como fuentes de carbono y energía alternativas. A las 72 h de cultivo, tanto con galactosa como con lactosa, se obtuvo actividad fosfolipasa levemente mayor en el sobrenadante de cultivo de *K. lactis-plp2.9*, en comparación con la cepa control. En cambio, la mayor actividad relativa producida por *K. lactis-plp2.9* se obtuvo en la fracción celular, en todas las condiciones de cultivo ensayadas. Después de lisar mecánicamente las células, la actividad fosfolipasa se distribuyó similarmente entre la fracción soluble y la fracción precipitable del homogenato. Se determinó la termoestabilidad de la enzima asociada a células, obteniéndose una actividad relativa mayor a 100% después de incubar dicha fracción a 85°C, hasta 50 horas. Este resultado contrasta con la relativamente baja termoestabilidad observada a la misma temperatura para la enzima pura producida en *E. coli*.

PRODUCCIÓN XILANOLÍTICA A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

Antonela Taddia (1)*, Gerónimo Brandaleze (1), Santiago A. Bortolato (2) y Gisela Tubio (1)

(1) Departamento de Tecnología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas – Universidad Nacional del Rosario, IPROBYQ-CONICET. Rosario, Argentina. (2) Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas – Universidad Nacional del Rosario, IQUIR- CONICET. Rosario, Argentina.

El aprovechamiento de materiales lignocelulósicos se enmarca en la actuación de la biotecnología ambiental, resolviendo la problemática de eliminación y promoviendo su reutilización. Ricos en celulosa y hemicelulosa, los residuos agroindustriales (RL), son ideales para la producción de enzimas como xilanasas (Xil) empleada en el tratamiento de aguas residuales, bioconversión de los RL a productos útiles y tratamiento de la pulpa de papel. El tratamiento con Xil en el blanqueo industrial requiere condiciones alcalinas y altas temperaturas, aumentando la deslignificación y blancura, ahorrando agentes de blanqueo y reduciendo el contenido de compuestos halogenados en el efluente. Se evaluaron los RL cascarilla de soja, trigo, maní, girasol y cebada para la producción de Xil fúngica empleando *Aspergillus niger* NRRL3. Posteriormente se optimizó estadísticamente el sistema con mayor capacidad productiva de Xil y se analizó la estabilidad Xil en el extracto enzimático (EE) al variar pH (3-9), temperatura (5 a 80°C) y se lo sometió a estrés térmico cíclico por lapsos de 20 minutos. Se analizaron los factores RL y cantidad, concentración de NaNO₃, pH inicial y volumen del medio de cultivo por Diseño Factorial. Se empleó Diseño Central Compuesto para ajustar el modelo y predecir el valor óptimo de las respuestas: act. específica y producción máxima de Xil con mínimo contenido de endoglucanasa. Las actividades enzimáticas se determinaron por método de Bailey y proteínas totales por BCC. La cepa de *A. niger* fue propagada 5 días en Agar-Papa-Glucosado a 30°C. Se inocularon los medios (10⁶ conidios/ml) conteniendo las sales definidas por el medio Mandels y 2g de RL como única fuente de carbono, por 9 días a 125rpm y 30°C. Se determinó que cascarilla o afrechillo de trigo (residuo de la industria molinera) es el sustrato más adecuado para la producción de Xil, act. específica de 23.17 U/mg y siendo la act. máxima 23,2 U/ml al cuarto día de incubación bajo condiciones de optimización (0,1 g, 1,0 g/l de NaNO₃ y 29,1 ml). El EE resultó estable en todo el rango de pH ensayado hasta las 24 h de incubación a 25°C y hasta los 60°C por 30 minutos; con disminución de actividad (15%) frente al estrés cíclico a las 5 horas de tratamiento. Los datos obtenidos permiten concluir que a partir de cascarilla de trigo se obtuvo un EE enriquecido en Xil altamente estable lo que facilitaría su empleo en procesos industriales permitiendo minimizar el impacto ambiental de dichos procesos.

EVALUACIÓN DE ACTINOMICETES EN LA PRODUCCIÓN DE ANTIMICROBIANOS A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS

M. Soledad Vela Gurovic (1,2)*, Mariana Puga (2), M. Amelia Cubitto (1,2)

(1) CERZOS UNS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, Bahía Blanca, Argentina.

Mundialmente existe una gran preocupación en incrementar el valor de los residuos agroindustriales. Una estrategia explora la capacidad de ser biotransformados en productos de elevado valor como alimentos y productos farmacéuticos. Entre los grupos microbianos, los actinomicetes son uno de los principales productores de antibióticos, antifúngicos y demás biomoléculas de interés farmacéutico. Este trabajo propone explorar la capacidad de los actinomicetes de crecer en estos sustratos y generar productos capaces de detener el crecimiento de hongos y bacterias. Para ello, se evaluó la capacidad antimicrobiana de actinomicetes previamente aislados de suelo y también se testearon nuevos aislamientos a partir del sustrato a utilizar. Para la detección de actividad, se utilizó un medio preparado con extracto de cáscara de girasol sin agregado de otros componentes a excepción del agar. Un taco de agar de 8 mm de diámetro se extrajo con un sacabocado a partir del cultivo de la cepa a testear y se colocó en una nueva placa de medio cáscara de girasol frente a un cultivo de *Trichoderma* sp. aislada de sustratos contaminados. Para los ensayos antibacterianos, un taco de cultivo en medio cáscara de girasol se colocó en una placa de agar Mueller Hinton recientemente inoculada con *Bacillus subtilis* al 1%. Entre las cinco cepas aisladas de compost de cáscara de girasol, dos presentaron halos de inhibición contra *Trichoderma* sp. y una contra *B. subtilis* resultando esta última la única con características morfológicas correspondientes a actinomicetes. Mientras que 30 de las 37 cepas aisladas de suelo fueron capaces de desarrollar en agar cáscara de girasol, sólo una presentó inhibición contra *Trichoderma* sp. y sólo una contra *B. subtilis*. Se observó una alteración de la morfología de las colonias al comparar el medio de cáscara de girasol con la morfología observada en medios tradicionales para actinomicetes. Esto, sumado al fácil desarrollo de hongos en el medio preparado con el sustrato, dificultó la purificación de los aislamientos. Si bien los actinomicetes del suelo fueron capaces de utilizar la cáscara de girasol, el desarrollo de actividad antimicrobiana se vio claramente favorecido en aquellas cepas adaptadas a este tipo de sustratos. Una mayor comprensión de la microbiología de estos residuos resultará necesaria al momento de estudiar su aplicabilidad y potencial biotecnológico.

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE CRECIMIENTO Y FUENTES DE CARBONO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS CON *Bacillus cereus*

Oxana Yashchuk (1,2), Daiana Nygaard (1,2)*, Élica Hermida (1,2)

(1) ECyT, UNSAM, San Martín, Argentina. (2) CONICET, CABA, Argentina.

Entre los polímeros biodegradables se encuentran los polihidroxicanoatos (PHAs), una familia de polímeros alifáticos. Se producen naturalmente vía fermentación bacteriana bajo las condiciones de limitación de nutrientes y exceso de carbono en el medio de cultivo. El uso de los PHAs está limitado debido su alto costo de producción comercial en comparación con los polímeros petroquímicos. Esto motiva la búsqueda de diferentes estrategias para disminuir el costo final del polímero, como el diseño y la optimización de la composición del medio de cultivo y el uso de desechos agroindustriales como sustratos de carbono renovables y económicos. El objetivo de trabajo es diseñar un medio de cultivo y evaluar la influencia de diferentes fuentes de carbono de grado analítico y residual en la producción de PHAs con la cepa *Bacillus cereus*. Los experimentos se realizaron en la escala de erlenmeyers de 500 ml con 100 ml del medio mineral. Como sustratos de carbono se utilizaron: glucosa, sacarosa, fructosa, glicerol puro, almidón soluble en distintas concentraciones. Se evaluó la capacidad de la cepa para utilizar residuos agroindustriales como melaza, descruce de algodón, aceite de cocina usado, jugo de yerba mate, suero de leche. Se monitoreó el proceso mediante la cuantificación de pH, biomasa y acumulación de biopolímero empleando técnica de gravimetría y de espectrofotometría ultravioleta (234nm), respectivamente. De los residuos probados se destacó la melaza como mejor sustrato de carbono para producción de PHAs que alcanzó un rendimiento de 48% a partir de peso seco bacteriano en comparación con los otros residuos donde este rendimiento era por debajo de 10%. De los sustratos de grado analítico el máximo rendimiento se observó con fructosa y glicerol: 54% y 46%, respectivamente. Se determinó la composición final del medio de cultivo productivo de sales minerales, fructosa 20g/l, levadura 3 g/l, sulfato de amonio 1g/l, pH 7.0 con el inóculo de 8 h para una concentración de 1,5%. Las óptimas condiciones de incubación fueron: 32°C, 150 rpm y 48 h. La presencia de levadura en el medio de cultivo resultó indispensable para el crecimiento bacteriano. Se determinó el efecto negativo de la fase de esporulación de *B. cereus* sobre la etapa de acumulación del polímero. Finalmente, la biomasa fue de $6,30 \pm 0,03$ g/l con el máximo contenido de PHA y rendimiento del producto a partir del peso seco celular: $3,85 \pm 0,04$ g/l y 61%, respectivamente.

SESION DE POSTERS A

ÁREA TEMÁTICA

Microbiología de ambientes extremos

ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DE SIETE LAGUNAS ANTÁRTICAS

Silvia H. Coria (1)*, Déborah Colman (1), Juan M. Lirio (1), Katerina Kopalová (2),
Walter P. Mac Cormack (1, 3)

(1) Instituto Antártico Argentino, Buenos Aires, Argentina. (2) Charles University, Praga, República Checa.
(3) NANOBIOTEC, UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

El Archipiélago James Ross (AJR), es una zona de transición biogeográfica entre las áreas Continental y Marítima de Antártida. Presenta lagunas oligotróficas cuyos sedimentos pueden documentar tanto su desarrollo como los cambios en el ambiente circundante. El objetivo de este trabajo fue realizar una primera caracterización de las comunidades bacterianas de los sedimentos superficiales de un grupo de lagunas del AJR. Se estudiaron 7 lagunas, 2 en Isla Vega (Esmeralda y Pan Negro) y 5 en Isla James Ross (Soledad, Katerina, Adriana, Florencia y Cecilia). Se extrajo el ADN de los sedimentos y se amplificó (PCR) el gen del ARNr16S (primers 357F y 926R). La secuenciación rindió 212.357 lecturas que se analizaron con QIIME (v. 1.9.0). Se estimó la diversidad α (Shannon:H) y β (Bray Curtis). La influencia de las variables ambientales se evaluó con el test de Mantel. La variabilidad ambiental se visualizó mediante PCoA. El pH fue el parámetro con mayor influencia sobre la estructura de las comunidades ($p=0.98$). En todas las lagunas dominaron los phyla Proteobacteria (34-55%), Bacteroidetes (12-30%), Actinobacteria (4-17%) y Acidobacteria (2-14%). La cercanía geográfica no fue la variable condicionante de la semejanza entre lagunas. Las 2 lagunas más cercanas en Isla Ross (Florencia y Cecilia) agruparon juntas, mostrando similar diversidad ($H=8.71$ y 8.54 respectivamente) y estructura a nivel phylum. Las otras 3 lagunas, se diferenciaron de las anteriores: Soledad ($H=9.44$) y Katerina ($H=7.76$) agruparon juntas, mientras que Adriana ($H=7.31$) difirió de todas las otras, presentando alto pH (8,66) y elevada salinidad y alcalinidad, lo que se correspondió con altos porcentajes de α -proteobacterias y baja presencia de β -proteobacterias. En isla Vega, Pan Negro ($H=7.92$) y Esmeralda ($H=8.42$), difirieron entre sí y del resto de las lagunas. Esmeralda mostró un pH muy ácido (5,5), que se correspondió con los mayores porcentajes de Acidobacteria (14%) y Gemmatimonadetes (12,5%). Este trabajo es el primer análisis microbiológico de las lagunas del AJR y sugieren que el pH es el principal factor ambiental condicionante de la estructura de las comunidades bacterianas. No se encontró una clara agrupación por localización geográfica. Finalmente, la dominancia del phylum Proteobacteria y la significativa presencia de Bacteroidetes y Actinobacteria coincide con lo reportado para otros ambientes acuáticos de clima frío extremo, tanto marinos como de agua dulce.

IDENTIFICACIÓN DE GENES DE *Pseudomonas putida* KT2440 RELACIONADOS CON LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO EN RIZÓSFERA

Stefanie B. Costa Gutierrez (1), M. Carolina Caram di Santo (1), Ana M. Zenoff (1), Paula A. Vincent (1), Manuel Espinosa Urgel (2), Ricardo E. de Cristóbal (1)*

(1) INSIBIO (CONICET-UNT), Tucumán, Argentina. (2) Estación Experimental del Zaidín, Granada, España.

La rizósfera de las plantas constituye un nicho donde la proliferación de determinados microorganismos está favorecida por la liberación de nutrientes en forma de exudados radiculares. Las bacterias que ejercen efecto beneficioso para la planta se conocen como PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). En algunos suelos agrícolas, la presencia de sales solubles ocasiona problemas de crecimiento en las plantas y respecto a esto, ciertas PGPR pueden mitigar este efecto mediante diversos mecanismos. El objetivo de este trabajo fue obtener, mediante un método de selección acelerada, mutantes de *P. putida* KT2440 adaptadas a la rizósfera de soja y maíz en condiciones salinas. Evaluar la cepa salvaje KT2440, conocida PGPR, y las mutantes obtenidas, respecto a la tolerancia al estrés salino y su efecto promotor de crecimiento en soja y maíz. Además, identificar los genes involucrados. Para ello, se realizó mutagénesis al azar utilizando el transposón mini Tn5-Km, el pool de mutantes fue inoculado en plantas de soja y maíz crecidas en arena estéril, en condiciones salinas (80 y 100 mM NaCl, respectivamente). Las plantas se mantuvieron durante 14 días (1° ciclo), se recuperaron las bacterias asociadas a la raíz y éstas fueron reinoculadas en nuevas plantas (2° ciclo). Tras 5 ciclos, se recuperaron las bacterias en placas con medio selectivo. Dichas bacterias se evaluaron por su tolerancia a la salinidad en medio de cultivo y su efecto promotor de crecimiento en soja y maíz en suelos salinos. Mediante PCR y secuenciación se determinó el sitio de inserción del transposón. Finalizadas las rondas de selección se recuperaron 500 bacterias y cinco de ellas mostraron ser más tolerantes a la salinidad comparadas con la cepa KT2440. El efecto promotor de crecimiento de las mutantes fue evidenciado en soja y maíz en suelos salinos, en relación con las plantas inoculadas con la cepa salvaje. Además, el sitio de inserción del transposón fue identificado en un gen que codifica para la proteína de adhesión LapA, que participa en la formación de biofilm. De este trabajo podemos concluir que mediante el método de selección acelerada se pudieron obtener bacterias mutantes adaptadas, con fenotipo beneficioso para plantas de soja y maíz cultivadas en condiciones de salinidad. Cierta especificidad se pudo observar entre las bacterias y la variedad de cultivo del cual fueron obtenidas. Mientras que futuros ensayos serán realizados para entender la importancia de la mutación en el gen *lapA*.

LEVADURAS POLIEXTREMÓFILAS ASOCIADAS AL SISTEMA GLACIARIO DEL CERRO TRONADOR, PATAGONIA, ARGENTINA

Rubí Azul Duo Saito (1)*, Diego Libkind (1), Virginia de Garcia (2)

(1) Laboratorio de Microbiología Aplicada, Biotecnología y Bioinformática de Levaduras, CRUB, Universidad Nacional del Comahue. IPATEC – CONICET. (2) Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos, Biotecnología y Energías Alternativas, Universidad Nacional del Comahue. PROBIEN – CONICET.

Los ambientes fríos conforman uno de los ambientes extremos más extendidos y poseen múltiples factores que afectan el desarrollo de la vida. Las bajas temperaturas ralentizan la tasa de crecimiento, modifican la permeabilidad y la rigidez de la membrana e inducen al estrés osmótico de los organismos. Entre los microorganismos capaces de crecer en estas condiciones se encuentran las levaduras. El objetivo de este trabajo fue analizar la biodiversidad de levaduras cultivables tolerantes al frío asociadas a glaciares del Cerro Tronador y compararlas con análisis libre de cultivo del mismo ambiente. Se tomaron muestras de suelo y hielo en el glaciar Castaño Overa del Monte Tronador, PNNH. Procesamiento de muestras: se filtraron de 50 a 100 ml de hielo y agua, en filtros de 45 μ m que se colocaron en medio MYP al 10% e YPD con antibióticos y por triplicado. Las muestras de suelo fueron cultivadas por medio de diluciones seriadas en medios YPD y MYP con Rosa de Bengala y antibióticos. Todas las muestras se incubaron a 5°C por 30 días o más. Se utilizaron kits MOBIO® específicos para cada sustrato para las extracciones de ADN total. Los recuentos de levaduras obtenidos mostraron un promedio de 1644 UFC/l en las muestras de hielo y de 125 UFC/g en las muestras de suelo. Se aislaron un total de 100 levaduras de hielo/agua y 87 de suelo. Los aislamientos de levaduras más abundantes correspondieron a especies de los géneros: *Solicoccozyma*, *Naganishia*, *Rhodotorula* y *Fonsecazyma*. Estas corresponden a especies cosmopolitas y relacionadas con ambientes templados a fríos. Los resultados obtenidos por el método libre de cultivo, muestran la presencia de Chytridiomycetes en todos los sustratos estudiados, siendo esta la primera referencia de este grupo taxonómico en glaciares en Argentina. Además, se observó una alta abundancia de Microbotryomycetes (49,6% de las secuencias totales), grupo que incluye a géneros y especies psicrófilos y psicrotolerantes, mientras que los aislamientos obtenidos para las levaduras cultivables, el 12% pertenece a este taxón. Los resultados muestran una alta incidencia de levaduras tolerantes a condiciones extremas asociadas al sistema glaciario. Este estudio contribuye a un mejor conocimiento de la biodiversidad de las levaduras extremófilas y a la preservación de recursos genéticos que permitan el desarrollo de estrategias de conservación.

EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES ASOCIADOS CON *Lotus tenuis* EN LA CUENCA DEL RÍO SALADO

Ileana Garcia (1), Fernanda Covacevich (2,3)*, Marta Cabello (4), Tomás Chippano (1), Matías Bailleres (5), Rodolfo Mendoza (1)

(1) Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN-CONICET), CABA, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC-CONICET), Mar del Plata, Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria, Balcarce, Argentina. (4) Instituto de Botánica Carlos Spegazzini (CICPBA), La Plata, Argentina. (5) CEI Chascomús (MAA-INTA), Chascomús, Argentina.

La Cuenca del río Salado (Bs.As.) presenta suelos halomórficos destinados a la cría bovina y pastizales dominados por gramíneas con una disminución estacional de forraje dada por la falta de leguminosas. La promoción de *Lotus tenuis* por la aplicación de herbicida constituye una alternativa para superar la deficiencia de forraje. Si bien *L. tenuis* presenta una alta dependencia a la colonización por hongos micorrícicos arbusculares (HMA) para crecer en estos suelos, se desconoce si las características y el manejo de cada ambiente modula la abundancia y diversidad de los HMA. Nuestro objetivo fue evaluar la diversidad de HMA nativos en suelo y asociados a las raíces de *L. tenuis* en ambientes halomórficos con diferente manejo de la Cuenca del Salado. Se seleccionaron 8 sitios con suelos halomórficos (Chascomús, Bs.As.): 3 pastizales naturales con *L. tenuis* (1-3 N) y 5 sitios con aplicación de glifosato para promoción de *L. tenuis* (4-8 P). Se colectaron al azar 5 plantas de *L. tenuis* con suelo rizosférico. La colonización radical por HMA y pH y Na Intercambiable se asociaron positivamente en los pastizales naturales, y negativamente en los sitios con promoción de *L. tenuis*. La diversidad genética de HMA fue determinada en raíces, previa extracción de ADN y amplificación por PCR de parte de la región ribosomal 26S rADN para el género *Glomus*, el más representativo y cosmopolita, mediante el análisis de polimorfismos en conformaciones de cadena única (PCR-SSCP). El análisis del patrón de bandas evidenció un número de bandas que se mantuvo en el rango 21-37 (sitios 1 (N) y 4 (P); y 3 (N) y 6 (P), respectivamente). Los índices de diversidad de Shanon-Wheaver (H) calculados considerando el número e intensidad de bandas de cada sitio se mantuvieron entre 2,8 (sitio 1, no salino-no sódico) y 3,5 (sitios 3, salino-sódico y 6, salino-no sódico). La determinación taxonómica de esporas de HMA evidenció que los suelos presentaron comunidades de HMA distintas, en las cuales Glomeraceae fue la única familia descripta en todos los sitios. En los ambientes estudiados, *L. tenuis* presentó elevados niveles de colonización HMA y valores de H superiores a los determinados con la misma técnica en suelos agrícolas de Bs.As., evidenciando mayor diversidad genética en los ambientes más restrictivos. Esto podría indicar un proceso adaptativo de las comunidades de HMA a las diferentes condiciones edáficas de la Cuenca.

CAROTENOIDES PRODUCIDOS POR CEPAS AISLADAS DEL SALAR DEL HOMBRE MUERTO

Marta Lopez (1,2) Fabiana Martinez (1), Verónica Rajal (1,2), Verónica Irazusta (1,3)*

(1) INIQUI-CONICET-UNSa, Salta, Argentina. (2) Facultad de Ingeniería-UNSa, Salta, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Naturales-UNSa, Salta, Argentina.

Los carotenoides son los segundos pigmentos naturales más abundantes en la naturaleza, y son principalmente isoprenoides lipofílicos C40 que van desde el color amarillo hasta el rojo. La producción de tales pigmentos se ha observado en plantas y en microorganismos como algas, hongos, levaduras, cianobacterias y bacterias. Existen microorganismos halófilos y/o halotolerantes, que producen carotenoides. El interés por estos compuestos se basa en sus aplicaciones biotecnológicas y sus efectos beneficiosos para la salud humana, ya que actúan como antioxidante, protegiendo las células de los daños oxidativos al neutralizar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. El objetivo de este trabajo fue comparar distintas técnicas de extracción de carotenoides en microorganismos halófilos y/o halotolerantes, con fin de obtener la más eficiente, y la posterior caracterización de dichos pigmentos. A partir de muestras de aguas y suelos extraídas del Salar de Hombre Muerto, se aislaron 168 cepas, de las cuales 9 presentaron coloración amarilla y 7 naranja, consistentes con la presencia de carotenoides. Se seleccionaron dos cepas amarillas y una cepa naranja para la extracción de dichos pigmentos. Estas cepas fueron identificadas mediante la secuenciación del fragmento 16S del ADNr como *Kocuria* sp. M9, *Micrococcus* sp. SX120 y *Kocuria* sp. SA129B. Se aplicaron dos técnicas para la extracción de los carotenoides. En la primera, los pigmentos se extrajeron con dimetilsulfóxido, acetona y éter de petróleo. En la segunda técnica, los carotenoides se extrajeron con etanol frío aplicando una ruptura mecánica de la célula, con cuatro variantes: i) perlas de vidrio, ii) ciclos de congelado-descongelado, iii) ultrasonido y iv) la combinación de i), ii) y iii). Con el fin de cuantificar y caracterizar los carotenoides, se realizaron espectros de absorción para los extractos obtenidos (340 a 560 nm). La técnica de extracción con etanol frío y ruptura con perlas de vidrio (i), resultó ser la más eficiente. Las cepas de color amarillo presentaron picos en las longitudes de onda de 410, 435 y 465 nm; mientras que en la cepa de color naranja en 390, 440, 460 y 500 nm. Esto demuestra que los espectros corresponden a distintos carotenoides. Podemos concluir que las cepas *Kocuria* sp. M9, *Micrococcus* sp. SX120 y *Kocuria* sp. SA129B presentan un gran potencial en la producción de carotenoides, lo cual será estudiado en siguientes investigaciones.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CONSORCIOS CON ACTIVIDAD SULFATO REDUCTORA, OBTENIDOS DE SEDIMENTOS MARINOS DE CALETA POTTER, ANTÁRTIDA

Graciana Willis (1, 2)*, Marcela Hipperdinger (2, 4), Susana Vázquez (3, 4), Edgardo Donati (2, 4), Walter Mac Cormack (1, 3)

(1) Instituto Antártico Argentino, Buenos Aires, Argentina. (2) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), La Plata, Argentina. (3) Instituto NANOBIOTEC UBA-CONICET, CABA, Argentina. (4) CONICET, CABA, Argentina.

Los microorganismos sulfato-reductores (MSR) constituyen un grupo muy diverso de bacterias anaerobias que utilizan el SO_4^{2-} como último aceptor de electrones. En ambientes marinos son componentes fundamentales de los ciclos del S y C y responsables en gran medida de la mineralización de la materia orgánica y la precipitación de los cationes metálicos. La actividad y diversidad de los MSR en ambientes marinos de temperaturas bajas, como los polares, ha sido poco estudiada. Por lo tanto, en este trabajo se pretende identificar mediante técnicas de secuenciación del gen ARNr 16S, microorganismos con actividad sulfato reductora obtenidos por enriquecimiento en medio líquido a partir de sedimentos marinos de Caleta Potter, Antártida. Se recolectaron 3 muestras de sedimentos marinos que se ubican en una línea paralela a la costa y representan diferentes zonas de la caleta: interna (M2), media (M3) y algo más externa (M4). Para el cultivo de los microorganismos se utilizó el medio Postgate B incubando en anaerobiosis a aproximadamente 10°C durante 30 días. El crecimiento se determinó midiendo la concentración de SO_4^{2-} remanente. Luego se realizó la extracción de ADN de la biomasa total y PCR con cebadores específicos para el gen ARNr 16S del dominio bacteria (27F y 1492R). Los productos de PCR fueron purificados y clonados. Los plásmidos positivos fueron extraídos y secuenciados. Las secuencias se compararon contra secuencias homólogas de referencia, disponibles en las bases de datos Genbank y SILVA. Se observó una disminución significativa de la concentración de SO_4^{2-} en los cultivos M2 y M4 (75 y 86% respectivamente) y en menor medida en el cultivo M3 (52%), muestra de una zona influenciada directamente por el aporte de agua de deshielo. En los cultivos M2 y M4 se detectaron MSR, bacterias pertenecientes al género *Desulforhopalus*, identificado previamente en ambientes marinos tanto de climas fríos como cálidos. Se recuperaron también bacterias de los géneros *Clostridium* y *Shewanella*, involucradas en la reducción de compuestos de S y Fe en ambientes marinos, además de *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. En M3 no se detectaron MSR y las secuencias obtenidas fueron identificadas con bajos porcentajes de identidad, en su mayoría pertenecientes al orden *Clostridiales*. Este trabajo demuestra que los sedimentos de Caleta Potter poseen MSR y revela la presencia de bacterias filogenéticamente distantes de las actualmente descritas.

SESION DE POSTERS B

ÁREA TEMÁTICA

Microbiología aplicada

INDICADORES DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SUELOS DE CULTIVOS HORTÍCOLAS BAJO CUBIERTA

Lucrecia Avilés (1)*, Silvia Cañón (1,2), Laura Navarro (1), Ángel Mamani (1), Ariel Gajardo (1)

(1) CURZA – UN Comahue. Viedma, Río Negro, Argentina. (2) CONICET – CERZOS. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

En los últimos 4 años se incrementó la superficie de cultivos bajo cubierta en el valle inferior del río Negro con el objeto de producir primicias en verano y hortalizas de hoja en invierno. Los cultivos en invernáculo intensifican el uso del suelo por lo que se deben hacer mayores aportes de nutrientes o traslados a otros lotes. La actividad microbiana puede servir como indicador del estado general del suelo y constituye un marcador biológico potencialmente útil para evaluar las perturbaciones que puedan presentarse. Los suelos con máxima calidad son capaces de mantener alta productividad y causar el mínimo disturbio ambiental. Los indicadores biológicos tienden a reaccionar de manera rápida y sensible a los cambios producidos por el manejo del cultivo, por lo tanto, podrían constituir una señal temprana, y ser de utilidad para estimar el impacto ambiental, incluso antes que los indicadores fisicoquímicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar indicadores de actividad biológica en suelos de cultivos hortícolas bajo cubierta en el valle inferior del río Negro de diferente antigüedad y manejo. Para ello se recogieron muestras compuestas por 15 submuestras de los primeros 5 cm de suelo de 9 invernaderos: 3 invernaderos en el primer año de producción con manejo convencional (T1); y 6 invernaderos en el segundo año de producción, donde: 4 realizaban manejo convencional (T2), 1 en transición agroecológica (T3) y 1 con mulching de polietileno (T4). Como testigos se tomaron muestras de suelo en proximidades a cada uno de ellos (n=4). En cada caso se determinó: i) la actividad respiratoria por el método del álcali, ii) la actividad estearasa por hidrólisis de diacetato de fluoresceína y iii) la actividad deshidrogenasa por hidrólisis de cloruro de trifeniltetrazolio. La actividad respiratoria resultó inferior en los suelos T1 y T2, éstos no se diferenciaron de su correspondiente testigo mientras que en T3 aumentó 5 veces y en T4 la actividad respiratoria fue 2,8 veces superior al testigo. La actividad estearasa resultó similar en todos los casos. En los T2 disminuyó un 35% respecto al testigo y en T3 aumentó el 41%. La mayor actividad deshidrogenasa se observó en T3, que resultó 3,5 veces superior a su testigo, en T4 fue 1,9 veces mayor, mientras que T1 y T2 no se diferenciaron de su testigo. La actividad deshidrogenasa resultó un indicador adecuado para evaluar el impacto ambiental de estas prácticas, debido a la rapidez de su determinación.

ESTUDIOS DE PRODUCCIÓN EN MASA DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Purpureocillium lilacinum* EN SUSTRATOS SÓLIDOS

Paula Barra*, German Barros (1), Miriam Etcheverry (1), Andrea Nesci (1)

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

Actualmente se buscan alternativas para el manejo integrado de plagas debido a los efectos nocivos de los insecticidas químicos sobre la salud humana animal y al desarrollo de resistencia. Una de estas estrategias en investigación y desarrollo es el control biológico. Entre los organismos entomopatógenos, los hongos son los más ampliamente distribuidos en la agricultura siendo capaces de regular las poblaciones de insectos. *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Samson es saprofito del suelo y se ha mostrado prometedor para su uso como agente de biocontrol de *Tribolium confusum* (Jacquelin du Val), un insecto plaga vector de hongos aflatoxicogénicos en el maíz almacenado. Una etapa clave en el desarrollo de un agente de biocontrol es la producción de una adecuada cantidad de inóculo de buena calidad. El objetivo de este estudio fue evaluar diferentes sustratos como: arroz, trigo, salvado de avena, harina de maíz y vermiculita y conocer la condición óptima para la producción en masa del hongo entomopatógeno *P. lilacinum*. Para ello, se determinó el rendimiento y la calidad de los conidios obtenidos de dos aislamientos. En el arroz se obtuvo la mayor producción de conidios por gramo con un recuento de $2,1 \times 10^9$ para el aislado JQ926212 y $1,6 \times 10^9$ para JQ926223. En los sustratos tipo particulados, el porcentaje de pureza fue de aproximadamente 99%, mientras que en los sustratos tipo polvo se obtuvieron porcentajes menores, con valores entre 23 y 75%. Con respecto al contenido de humedad de los sustratos al final del periodo de producción, el más alto se registró en el arroz y el trigo con porcentajes cercanos al 40%, mientras que en la harina de maíz y la vermiculita el contenido fue cercano al 20%. Por lo tanto, es posible realizar la producción en masa de *P. lilacinum* en granos de arroz y en vermiculita. Actualmente estamos estudiando otros parámetros de formulación con ambos sustratos, para encontrar un número mayor de características favorables que nos permitan seleccionar al mejor.

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA CAMA DE POLLO PARA UTILIZAR EN VARIOS CICLOS PRODUCTIVOS

Mariano Batallé (1), Ernesto Vignoni (1), Lucas Rodrigo (1), Belen Corbalan (1), Hebe Barrios (1)
Florencia Prosdocimo (1)*

(1) Universidad Nacional de Luján, Luján, Argentina.

El sector avícola argentino incorpora políticas de mayor eficiencia en la utilización de recursos, para reducir costos y disminuir el impacto ambiental. En tal sentido es esencial la reutilización de la cama por varios ciclos productivos. Esto trae como consecuencia el aumento de microorganismos patógenos que impactan negativamente en los parámetros productivos de las aves y en su posterior utilización de la cama como fertilizante agrícola. Debido a esto, el uso de algún tratamiento es crítico para reducir la carga bacteriana. En este trabajo se comparó un nuevo producto mezcla de un absorbente de humedad, saponinas de yucca, mezcla de ácidos orgánicos, antibacteriano alcanforado, Cipermetrina y Butóxido de Piperonilo (BRACIPER PLUS^R) con el Bisulfato de sodio que ya es utilizado en la industria. El ensayo se realizó en el laboratorio avícola de la Universidad Nacional de Luján y constó de 5 repeticiones y 3 tratamientos (T): Testigo (T1): cama sin tratar, T2: cama tratada con Bisulfato de sodio (dosis 250 g/m²), T3: Cama tratada con BRACIPER PLUS^R (dosis 250 g/m²). En bandejas de 40x60x15 cm se colocó cama usada, extraída de un galpón en producción que además fue inoculada con 10⁵ UFC de *Salmonella sp.* (SAL) antes de la aplicación del producto y a las 24 h posteriores, se cuantificó coliformes totales (CT) y enterobacterias (EB) por número más probable, mientras que SAL por métodos convencionales, y se registró humedad y pH. Los datos fueron analizados por test de Tukey. Se observó una reducción de pH en las camas tratadas con bisulfato de sodio, llegando a valores de pH 2,7. Tanto en el testigo como en el tratado con BRACIPER PLUS^R no hubo cambio de rango de pH. Con respecto a la humedad de las camas, se observó una reducción en las tratadas con el producto BRACIPER PLUS^R, llegando a un descenso del 60%. El tratamiento con bisulfato de sodio no se diferenció del testigo. Una reducción estadísticamente significativa de EB de tres logaritmos y CT en un logaritmo por parte de BRACIPER PLUS^R, seguido en menor magnitud por el bisulfato de sodio que redujo dos logaritmos las EB, pero no tuvo acción sobre CT. Ambos productos se comportaron de igual manera frente al control de SAL, logrando reducir un logaritmo la carga inicial. Bajo estas condiciones se concluye que luego de 24 h de su aplicación, BRACIPER PLUS^R logra reducir en forma significativa la humedad y el recuento de EB, CT y SAL sin reducir el pH de la cama.

VALIDACIÓN DE LA APLICACIÓN DE BACTERIAS LÁCTICAS EN EL BIOCONTROL DE HONGOS DEL DETERIORO DE FRUTAS Y HORTALIZAS DE PRODUCCIÓN LOCAL

María Benzzo(1)*, Ivana Scapellato(1), Raúl Comelli(1,2), Lisandro Seluy(1,2)

(1) Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental. Dpto. de Medio Ambiente. Fac. de Ingeniería y Ciencias Hídricas. Univ. Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

La demanda actual de productos hortícolas frescos es cada vez más exigente no sólo en lo que refiere a su inocuidad sino que contempla la calidad sensorial y nutricional. El aumento de las temperaturas y precipitaciones respecto de los promedios históricos afecta los ciclos de vida de las plagas y la distribución de los hongos del deterioro. Las condiciones mencionadas favorecen su incidencia provocando mermas económicas para el productor. El objetivo del presente trabajo fue aislar hongos del deterioro y Bacterias del Ácido Láctico (BAL) en diferentes puntos de la cadena alimentaria de frutas y hortalizas, para validar su actividad biocontrol. Se partió de hortalizas y frutas con evidencias de lesiones fúngicas a partir de las cuales se realizaron los aislamientos en medios YPG, HyL y PDA a 30°C y en aerobiosis hasta obtener cultivos axénicos. Se estudiaron las características macroscópicas y microscópicas para su identificación a nivel de Género. Para los aislamientos de BAL se utilizaron hortalizas sanas en caldo MRS a 37°C en anaerobiosis y en agar MRS hasta la obtención de cultivos axénicos (método de las 5 estrías), negatividad de la catalasa y positividad de la tinción de Gram. Se realizaron diversas adaptaciones de las técnicas de antagonismo *in-vitro* para visualizar la interacción BAL-hongo del deterioro. Los halos de inhibición se estimaron como porcentaje respecto del área total de la caja de Petri. Las pruebas *in-vivo* se realizaron por duplicado pre-inoculando hortalizas y frutas sanas, previamente desinfectadas. Se practicaron pocillos en los que se inocularon las BAL que presentaron mejor performance *in-vitro*, o su sobrenadante (SN), conjuntamente con el inóculo fúngico y su control, ensayando también la inmersión previa de la hortaliza en el SN. Se aislaron 107 hongos filamentosos y 62 BAL. Se identificó una cepa de *Aspergillus* spp. como la más resistente frente a 18 cepas de BAL aisladas y 2 *Lactobacillus plantarum* (controles) disponibles en el grupo de trabajo, en comparación con otras cepas de los géneros *Fusarium*, *Rhizopus*, *Geotrichum* y *Penicillium*. Se comprobó la inhibición de la progresión de la lesión y/o el crecimiento de *Aspergillus* spp., tras 15 días y temperatura ambiente, en diferentes hortalizas.

MicroBrew.AR – UNA APLICACIÓN PARA RECuento DE LEVADURAS

Ma. Clara Bruzone (1), Carlos Bertoli (1), Julieta Burini (1)*, Juan I. Eizaguirre (1),
Diego Libkind (1)

(1)IPATEC- Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales,
S. C. de Bariloche, Argentina.

La re-utilización de la levadura cervecera es una práctica con gran impacto en los costos y la calidad del producto final. Un correcto manejo de la levadura deriva en fermentaciones más limpias, reducción de residuos y posibilidad de estandarización; pero requiere realizar el recuento y determinar la viabilidad de las mismas en la crema a reutilizar. El microscopio y la cámara de Neubauer permiten llevar adelante de manera adecuada esta práctica, por lo que su empleo en las fábricas de cerveza es crucial. Experiencias en fábrica llevaron a detectar que la implementación de esta técnica resulta compleja: en la mayoría de los casos la persona encargada de realizar los recuentos es la misma que se encuentra realizando la cocción, perdiendo foco en la actividad. El objetivo de este trabajo fue generar una aplicación para celulares gratuita que simplifique el método de recuento y el cálculo de inóculo, simplificando la implementación de la técnica de recuento en las cervecerías. Para ello, se trabajó con la empresa InnQube, la Asociación de Cervecerías Artesanales de Bariloche y el Fablab. La aplicación permite realizar el recuento de levaduras (tanto en fábrica como en laboratorio) y luego calcular la cantidad necesaria para inocular un determinado batch. El recuento se puede realizar mirando al microscopio y utilizando un contador manual; o bien se pueden tomar fotos de los cuadrantes de la cámara de Neubauer, utilizando un soporte de celular para microscopio, y realizar el recuento sobre la foto en el momento o dejarlo para después. La aplicación permite calcular la concentración de células totales, vivas y muertas por mililitro y la viabilidad. Introduciendo el volumen a inocular, la densidad inicial y seleccionando la crema la aplicación calcula el volumen a inocular para una buena fermentación. MicroBrew.AR permite elegir unidades de volumen y densidad, y el tipo de cámara de Neubauer con la que se trabajará. Cuenta con un modelo de soporte 3D para imprimir y montar cualquier celular o tablet en cualquier microscopio. Más de 1000 personas han descargado la aplicación. Esta herramienta cuenta con la ventaja de que la toma de fotos de los cuadrantes permite realizar el recuento fuera del microscopio. Esperamos que estas características lleven a que un mayor número de productores implementen en sus fábricas las técnicas de recuento y determinación de viabilidad, pudiendo mejorar sus prácticas de re-utilización y por ende la calidad del producto final.

***Burkholderia gladioli* COMO AGENTE BIOCONTROLADOR DE ENFERMEDADES POST-COSECHA EN LIMONES**

Carlos M. Bustos (1)*, Anabella D. Sarli (1), Leandro A. Sánchez (1), Osvaldo D. Delgado (2)

(1) PROIMI-CONICET, S. M. de Tucumán, Argentina. (2) CITCA-CONICET, Fac. de Cs. Exactas y Nat. UNCA. Catamarca, Argentina.

La provincia de Tucumán concentra el 73% de la producción anual de limones de Argentina, estimada en 1.400.000 t. Asimismo, las enfermedades post-cosecha causadas por hongos fitopatógenos son responsables de importantes pérdidas económicas, siendo preponderantes las causadas por *Penicillium digitatum*. Heridas en la cáscara de la fruta predisponen a la aparición de la podredumbre, debido a la presencia de conidios del patógeno en el ambiente que al entrar en contacto con los fluidos liberados son capaces de germinar y producir la enfermedad en el fruto. El control biológico de patógenos responsables de dichas enfermedades post-cosecha es una alternativa importante al uso de compuestos químicos sintéticos. Se ha reportado que diferentes especies del género *Burkholderia* son prolíficas productoras de metabolitos secundarios con potentes propiedades antifúngicas, postulándose como prometedores agentes controladores de fitopatógenos. Se suma a ello avances en el diseño de matrices basadas en biopolímeros, que pueden ser aplicadas en forma conjunta con los agentes de biocontrol, para potenciar sus efectos deseados. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de *Burkholderia gladioli* RSZ, inmersa en una matriz polimérica basada en escleroglucano (EG) de origen fúngico, en limones frente a *P. digitatum*. Para el ensayo se seleccionaron limones provenientes de fincas locales. El aislamiento *B. gladioli* RSZ fue seleccionado por su actividad antifúngica frente a *P. digitatum*. Además, se prepararon diferentes películas basadas en biopolímeros y EG, para ser aplicada sobre la superficie de limones. La infección se llevó a cabo practicando heridas en la cáscara de la fruta, y posteriormente sumergiéndola en una suspensión de conidios de *P. digitatum*. Finalmente, los limones se incubaron en cámara húmeda a 25°C para evaluar el número de frutos que presentaran signos evidentes de enfermedad al cabo de 10 días. Los resultados mostraron que sólo el 20% de los limones cuya superficie fue cubierta con la biopelícula y en presencia del aislamiento *B. gladioli* RSZ presentaron signos evidentes de podredumbre, luego de la infección con el fitopatógeno. De la misma forma, se evaluó la inhibición *in vitro* de otros patógenos post-cosecha del género *Geotrichum*, *Diplodia*, *Fusarium* y *Phomopsis*. Así el aislamiento *B. gladioli* RSZ inmerso en la matriz polimérica, tuvo un marcado efecto antagónico sobre el desarrollo de *P. digitatum* en limones infectados.

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN EL PROCESO DE OXIDACIÓN DE MANGANESO II EN *Pseudomonas resinovorans*

Lucila Ciano Casalini (1)*, Ainelén Piazza (1), Jorgelina Ottado (1), Natalia Gottig (1)

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Rosario, Argentina.

La mayor parte del Manganeseo (Mn) II presente en el ambiente es oxidado biológicamente por la acción de Oxidasas de Mn (OMn) tales como las Multicobre Oxidasas (MCO) y las Hemoperoxidasas de unión a calcio. En nuestro laboratorio hemos aislado y caracterizado diversas bacterias ambientales que poseen una elevada capacidad de oxidación de Mn(II). Dentro de dichos aislados se destaca una cepa identificada como *Pseudomonas resinovorans*. En este trabajo se estudió la posible funcionalidad de OMn ya caracterizadas en otras bacterias y la presencia de nuevas OMn en esta cepa. Se diseñaron oligonucleótidos para amplificar zonas conservadas de los genes que codifican para OMn en distintas *Pseudomonas* y se realizaron ensayos de qRT-PCR. La expresión de estos genes se analizó en presencia o ausencia de Mn(II) y a distintos tiempos y temperaturas de crecimiento. Se pudo determinar cuáles de estas enzimas se expresan en *P. resinovorans* de forma diferencial en presencia de Mn, sugiriendo un posible rol de las mismas en el proceso de oxidación del metal. Por otro lado, se realizaron ensayos de "Actividad *in gel*" con el fin de identificar nuevas OMn. Para ello, se sembraron diferentes fracciones proteicas de la cepa de interés en geles de poliacrilamida nativos y los geles se revelaron en buffer HEPES con 200 μ M MnCl₂. La aparición de una banda marrón sobre el gel corresponde a depósitos de óxidos de Mn e indica la presencia de actividad OMn. La identificación de las proteínas presentes en dicha banda se llevó a cabo mediante espectrometría de masas. Además, se realizó un estudio de proteómica comparativa de proteínas celulares totales para poder detectar proteínas que se expresen diferencialmente cuando la bacteria crece en presencia o ausencia de Mn. Estas dos estrategias permitieron obtener las secuencias de posibles OMn las cuales fueron expresadas de forma recombinante en *Escherichia coli* y purificadas. Con las enzimas puras se analizó *in vitro* si poseen actividad de OMn utilizando un ensayo colorimétrico que permite cuantificar los óxidos de Mn formados en la reacción. Los resultados de este trabajo sugieren que la oxidación de Mn(II) en *P. resinovorans* no sólo involucra a las OMn bacterianas ya conocidas, sino que también implica la participación de otras enzimas que aún no han sido caracterizadas en otras bacterias. Estos resultados junto a estudios futuros contribuirán al entendimiento de los procesos moleculares involucrados en la oxidación biológica de Mn.

MICROBIOTA RUMINAL Y EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO DE NOVILLOS PASTOREANDO ALFALFA Y SUPLEMENTADOS CON GRANO DE MAÍZ

Gustavo Depetris (1)*, María Cerón Cucchi (2), Claudia Faverin (1), Delfina Montiel (1), Abimael Ortiz Chura (2,4), Ricardo Bualó (2), José Gere (3,4) Silvio Cravero (2)

(1) EEA Balcarce, INTA, Buenos Aires, Argentina. (2) CICVyA INTA, Buenos Aires, Argentina. (3) UIDI FRBA UTN, Buenos Aires, Argentina. (4) CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Se conoce que las distintas estrategias de alimentación tienen impacto sobre la respuesta productiva animal, por consiguiente, es necesario conocer cómo afectan el ambiente ruminal y su relación con la emisión de metano. El objetivo fue determinar el efecto de la suplementación energética en animales en pastoreo sobre las emisiones de metano, ambiente y microbiota ruminal. La experiencia se realizó en INTA EEA Balcarce y se utilizaron 19 novillos Angus (327 ± 10 kg P.V) que pastorearon alfalfa. Se conformaron dos grupos: PASTURA (10 novillos que consumieron solo la pastura) y SUPLE (9 novillos suplementados con grano de maíz 0,6% PV). La emisión diaria de metano (CH_4 , g/día) se determinó con la técnica de trazado del hexafluoruro de azufre (SF_6) durante 5 días consecutivos. El día 4 de medición previo al suministro de grano se obtuvieron muestras de licor ruminal mediante sonda oro-esofágica, para la determinación de parámetros ruminales (pH, N- NH_3) y el estudio de las poblaciones microbianas. El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado, considerándose al animal como unidad experimental. La emisión de CH_4 , pH, bacterias totales (qPCR) y arqueas metanogénicas (qPCR) no fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($p \geq 0,05$). En cambio, se observó un incremento ($p < 0,01$) en la concentración de N- NH_3 en el grupo PASTURA relacionado con el alto contenido de proteína bruta de la dieta. Los protozoos ciliados totales fueron mayores ($p < 0,01$) en el grupo PASTURA. Este incremento estaría relacionado con la reconocida actividad proteolítica de los protozoos los cuales están funcionalmente asociados con la digestión de la fibra y al grupo de arqueas responsables de la producción de CH_4 entérico. Estudios a campo de emisiones de CH_4 generado durante la fermentación entérica empleando bovinos son recientes en la región y aun cuando en esta experiencia no se observó una reducción significativa, los resultados obtenidos aportan información a los factores de emisión de CH_4 local. Los resultados pueden posiblemente atribuirse al bajo nivel de suplementación suministrado. Es necesario profundizar este tipo de estudios para comprender los cambios ejercidos por las dietas y relacionarlos con las emisiones de metano.

EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE *Thecaphora frezii* Y CONDICIONES ÓPTIMAS DE CONSERVACIÓN

Maria Soledad Diaz (1)*, Ana Figueroa (1), Juliana Musso (1), Roxana Alasino (1,2),
Dante Beltramo (1,2)

(1) CEPROCOR. Córdoba, Argentina. (2) CONICET, Argentina.

Thecaphora frezii es el agente causal de la enfermedad del Carbón del maní. Esta enfermedad ha incrementado su prevalencia e intensidad en la última década, siendo un marcado problema sanitario en el sector manisero. Este hongo permanece en el suelo en forma de teliosporas que germinan y forman metabasidios, basidiosporas y posteriormente hifas infectivas. En la actualidad se estudian compuestos para su control y los mecanismos de acción. Sin embargo, la principal problemática se presenta en la evaluación de la viabilidad de las teliosporas, por su baja tasa de germinación con los protocolos empleados en la actualidad. Por ello, el primer objetivo fue evaluar medios de cultivo suplementados con hormonas y sustancias que promuevan su germinación y evaluar un método de conservación de hifas y basidiosporas a largo plazo. El medio de cultivo líquido para inducir la germinación fue caldo papa con 1 mg/ml de EDTA, Kinetina (KIN), Acido Naftalenacético (ANA) o Acido Indolacético (AIA). Se realizaron tres repeticiones por tratamiento y se evaluó la germinación periódicamente mediante microscopía óptica. Para la conservación de hifas se sembraron en tubos con agar inclinado, y una vez crecidas, se colocaron a 4°C o a 4°C y -20°C cubiertas con glicerol. Para la conservación de basidiosporas, estas se crecieron en PDA solo o sobre granos de maní, las cuales fueron posteriormente recubiertas con glicerol 10% 1 h a temperatura ambiente, se almacenaron en crioviales a -80°C con y sin medio de cultivo. La viabilidad de hifas y basidiosporas se evaluó mediante el crecimiento en placas de PDA a los 30, 60 y 90 días. En relación a la germinación de teliosporas, el medio que presentó mayor UFC fue el suplementado con KIN, seguido por ANA. Sin embargo, la germinación fue baja en ambos casos ($1/1 \times 10^4$). Tanto el medio de control como aquellos con EDTA y AIA agregados, no presentaron esporas germinadas. Las basidiosporas mantuvieron su viabilidad en el periodo de ensayo, independientemente de las condiciones de almacenamiento. Por el contrario las hifas no crecieron en el medio de cultivo a los 30 días de evaluación. Debido a que se obtuvo una germinación escasa de las teliosporas en presencia de KIN y ANA, se continuará con la búsqueda del medio adecuado para germinar y evaluar su viabilidad. Solo las basidiosporas lograron ser crioconservadas, se seguirán evaluando periodos más prolongados de conservación.

EVALUACIÓN DE PERMEADO DE SUERO COMO SUSTRATO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y GALACTOOLIGOSACÁRIDOS POR *Lactobacillus paracasei* CRL 76

Agustina Fara (1), Jorge Palacios (1), Cristina Apella (1), Gabriela Zárate (1)*

(1) Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA – CONICET), San Miguel de Tucumán, Argentina.

El suero de quesería es un importante subproducto de la industria láctea y posee una elevada demanda biológica de oxígeno (DBO) debido a su elevado contenido de lactosa. Por este motivo, su reutilización como materia prima para la obtención de nuevos productos industriales resulta de gran interés. Una alternativa, es su empleo como sustrato para la producción de biomasa o metabolitos de interés por microorganismos tecnológicamente relevantes. Al respecto, existen antecedentes sobre la generación de galactooligosacáridos (GOS) a partir de lactosuero, empleando β -galactosidasas microbianas. En ensayos previos observamos que la β -galactosidasa de *Lactobacillus paracasei* CRL 76 es capaz de sintetizar GOS a partir de soluciones de 300 g/l de lactosa. El objetivo de este trabajo fue evaluar el desarrollo y la generación de GOS a partir de permeado de suero por esta bacteria láctica. A tal fin, *L. plantarum* CRL 76 fue inoculada al 1% en permeado de suero reconstituido (16% de lactosa) y caldo Lapt + lactosa usado como control. El crecimiento fue seguido por absorbancia de la biomasa a 560 nm y recuento en placa. La actividad β -gal fue determinada en extractos libres de células por método colorimétrico empleando ONPG como sustrato y evaluando diferentes parámetros (pH, influencia de iones inorgánicos, tiempo y temperatura de reacción). La producción de GOS se determinó por HPLC-RID. *L. plantarum* CRL 76 mostró escaso desarrollo en permeado de suero (7,5 log UFC/ml); sin embargo, la suplementación del mismo con 0,5% de extracto de levadura como fuente de N, permitió alcanzar biomasa y recuentos similares a los obtenidos en el medio de cultivo complejo usado como control (DO_{560} a las 26 h de 0,82 y 8,8 log UFC/ml vs DO 0,85 y 8,8 log UFC/ml en Lapt_{lac}) aunque a una menor velocidad de desarrollo ($\mu=0,10$ en suero vs $\mu=0,30/h$ del control). La mayor actividad hidrolítica β -gal se obtuvo a los 5 minutos de reacción, pH 7, y 60°C actuando el ion Na^+ como su principal activador. En las concentraciones de lactosa presentes en el permeado de suero usado como medio de cultivo no se observó transgalactosilación y generación de GOS, por lo que sería necesario elevar la concentración de este sustrato. Los resultados indican que el permeado de suero suplementado puede ser empleado para producir biomasa y enzima β -galactosidasa activa de *L. paracasei* CRL 76 para diferentes aplicaciones tecnológicas.

CONTROL DE LA FORMACIÓN DE UN *BIOFILM* CON ESTRUCTURA ROBUSTA SINTETIZADO POR *Bacillus subtilis* subsp. *spizizeni* Y SU EFECTO SOBRE LA SÍNTESIS DE POLIHIDROXIALCANOATOS

Mirta E. Galelli (1)*, Silvia S. Miyazaki (1)

(1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Área de Agroalimentos. CABA. Argentina.

Los *biofilms* (BF) son ensamblajes celulares generados por la interacción célula-célula con formación de una matriz, producido por bacterias como *Bacillus subtilis* subsp. *spizizeni* (bacteria PGPR). Un BF resistente a la disgregación (estructura robusta) es un factor importante para el soporte de un inoculante. Las bacterias en los BF exhiben una mayor supervivencia que las libres (planctónicas). La presencia de hierro es un factor crítico para la transición del estado planctónico a la forma sésil. El presente trabajo tiene por objetivo controlar la formación de un BF con estructura robusta y la síntesis de polihidroxicanoatos (PHAs), usando un antagonico de hierro (cobalto), controlando la disponibilidad de oxígeno y la temperatura. Se utilizó *B. subtilis* subsp. *spizizeni* (cepario AGRAL. FAUBA) en distintos medios de cultivo. El crecimiento se midió a 610nm. Se controló la disponibilidad del oxígeno en erlenmeyers con tapones de silicona o algodón, el oxígeno remanente se midió con Waterproof DO meter. Los BF se cuantificaron con cristal violeta en microplacas a 570nm. Los PHAs se midieron como ácido crotónico. Se usó el test de ANOVA. La temperatura afectó la formación de BF, siendo óptima entre 30 y 37°C; a 45°C se favoreció el crecimiento pero no la formación de BF (56% menor). Al retirar el BF del medio con 1% de glicerol éste no volvió a formarse, sin embargo, un cultivo similar agitado a 150rpm, 96h y luego mantenido en condiciones estáticas desarrolló un BF con estructura robusta; probablemente el escaso número de células viables remanentes al retirar el BF impediría que se logre la comunicación intercelular necesaria para el desarrollo de un nuevo BF. El oxígeno favoreció el crecimiento (19% mayor) y la formación de BF (32% mayor) y actuó negativamente sobre la formación de PHAs (49% menor). El agregado de CoSO_4 inhibió la formación del BF y no afectó su crecimiento. El efecto inhibitorio podría deberse a que el Co^{2+} posee mayor afinidad por el *master controller protein* para el uptake de hierro, con la consiguiente reducción del hierro disponible necesario para la formación del BF. Una estructura robusta y la presencia de PHAs en sus células son aspectos importantes dentro de las características de un BF que va a ser usado como bioinoculante; estas propiedades fueron ser controladas con las condiciones de desarrollo de los BF: competidores de captación de hierro, la concentración de oxígeno y la temperatura.

CONSERVACIÓN DE LA CALIDAD DE LAS SEMILLAS DE MANÍ DURANTE EL ALMACENAMIENTO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE UN FORMULADO A BASE DE BHA (2 (3) TER-BUTIL-4 HIDROXIANISOL)

Natalia Girardi (1)*, Daiana García (1), María Alejandra Passone (1), Andrea Nesci (1), Julián García (2), Miriam Etcheverry (1).

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) - Laboratorio de Ecología Microbiana Ambiental (ECOMA), Depto. Microbiología e Inmunología, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (2) Oro Verde, Servicios fitosanitarios, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

En Argentina, las semillas de maní se almacenan durante 4-6 meses hasta la próxima siembra. Estas semillas contienen hongos y esporas que pueden disminuir significativamente su calidad durante el almacenamiento. Sin embargo, normalmente se evalúa el poder germinativo y el vigor de la semilla, mientras que no se considera la calidad sanitaria. El objetivo de este ensayo fue evaluar el efecto de un formulado de BHA sobre semillas de maní almacenadas en *big bags*. Los ensayos se realizaron en dos empresas maniseras (E1 y E2) del sur de Córdoba, durante los años 2015 (E1) y 2016 (E1 y E2). Se utilizaron granos de maní en caja tratados con el formulado a base de BHA (10mM) y sin tratar. Se determinó mensualmente la contaminación fúngica, el poder germinativo de las semillas, el daño por insectos, los residuos de BHA y las variaciones de temperatura y actividad de agua durante 4-5 meses. En general, los recuentos fúngicos obtenidos durante el primer año de ensayo (media: 3,8 Log₁₀ UFC/g) fueron menores a los obtenidos durante el segundo año en ambas empresas (media: E1: 4,6 Log₁₀ UFC/g; E2 4,5 Log₁₀ UFC/g). Las semillas tratadas con el formulado presentaron niveles de BHA residuales de 1546,8 ± 927,0 ng/g, durante el primer año de ensayo, y de 370,0 ± 45,7 y 166,4 ± 71,4 ng/g en E1 y E2 durante el segundo año. La aplicación del formulado de BHA durante el almacenamiento en combinación con el tratamiento fungicida curasemilla redujo significativamente ($p < 0,05$) la carga fúngica de las semillas a los 2 meses de almacenamiento (E1-2015: 37,4%; E1-2016: 28,4%; E2-2016: 45,0%), aunque este efecto no se mantuvo hasta el final del período de tiempo evaluado. El formulado de BHA no afectó la germinación de las semillas de maní, registrándose niveles similares a los del control (E1-2015: 74,2, E1-2016: 37,2, E2-2016: 56,0%). Mientras que, el fungicida curasemilla mejoró la germinación de las semillas (entre 10-11%) al final del período de almacenamiento. Las condiciones de almacenamiento de ambas empresas permitieron conservar la calidad de las semillas durante un período de 4-5 meses, controlando el desarrollo fúngico y la proliferación de insectos. La aplicación del formulado de BHA a una dosis de 10 mM sobre las semillas de maní en vaina combinado con el tratamiento presiembra de un fungicida curasemilla, permitió reducir el desarrollo fúngico de las semillas almacenadas *in situ* durante los primeros meses de almacenamiento sin afectar la germinación de las mismas.

PROSPECCIÓN DE SECUENCIAS DE ENZIMAS FUCOIDANASAS EN SEDIMENTOS COSTEROS DE UN AMBIENTE SUBPOLAR

Jessica Gonzalez (1)*, Mariana Lozada (1), Matías Musumeci (2), Hebe Dionisi (1)

(1) Laboratorio de Microbiología Ambiental, CESIMAR-CONICET, Puerto Madryn, Chubut, Argentina. (2) Centro de Investigación y Transferencia de Entre Ríos (CITER-CONICET), Concordia, Entre Ríos, Argentina.

Las enzimas fucoidanasas resultan de gran interés biotecnológico, dado que permiten obtener fuco-oligosacáridos bioactivos a partir de fucoidanos, polisacáridos sulfatados ricos en fucosa presentes en la pared celular de las algas pardas. Por su bajo peso molecular, los fuco-oligosacáridos presentan una menor viscosidad y mayor absorción que los biopolímeros, facilitando su uso en productos nutracéuticos, cosmeceúticos o farmacológicos. Estas enzimas se encuentran representadas en dos grupos, glicósido hidrolasas de la familia CAZy GH107 y endofucoidano liasas (EFLs), con sólo 8 y 2 secuencias reportadas, respectivamente. El objetivo de este trabajo fue prospectar secuencias que codifiquen para ambos grupos de enzimas en 2 sets de datos metagenómicos de sedimentos costeros de Bahía Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina: una biblioteca metagenómica de sedimentos intermareales secuenciada (7×10^5 secuencias codificantes, CDS), y 6 muestras de sedimentos submareales secuenciadas al azar sin previo clonado (2×10^6 CDS). Las secuencias de referencia y secuencias identificadas por homología a partir de bases de datos públicas (JGI-IMG y UniProtKB) fueron utilizadas para construir perfiles ocultos de Markov (HMMs) para cada grupo, los cuales fueron utilizados para identificar secuencias homólogas en los dos sets de datos. Se identificaron 8 secuencias relacionadas con la familia GH107 con las cuales compartían 8-40% identidad a nivel de aminoácidos, y 4 de ellas están siendo expresadas en *Escherichia coli* para su purificación y caracterización. El contexto genómico de las fucoidanasas putativas identificadas, reveló la presencia de otras secuencias relacionadas con la degradación de fucoidanos, tales como sulfatasas y fucosidasas, aportando evidencia adicional de su posible función. El 50% de los *scaffolds* fueron asignados al phylum Planctomycetes, grupo a partir del cual aún no se han reportado enzimas fucoidanasas. Además, se identificó 1 secuencia parcial con el HMM de EFLs, que compartía 27-28% de identidad en sus aminoácidos con las 2 secuencias conocidas. La secuencia metagenómica contenía un segundo dominio con posible actividad alginato liasa, lo cual sugiere que podría codificar para una enzima bifuncional capaz de depolimerizar dos polisacáridos de la pared de las algas pardas. Como resultado de este estudio, se contará con enzimas fucoidanasas novedosas para la obtención de oligosacáridos con potenciales aplicaciones biomédicas.

DINÁMICA DE POBLACIONES DE LEVADURAS *Saccharomyces* EN UN VIÑEDO: UNA MIRADA FASCINANTE A LA REALIDAD MICROBIANA DEL VIÑEDO

Magalí González (1,2)*, Valeria Chimeno (1), María Cecilia Rojo (1,2), María Elena Sturm (1), Mariana Combina (1, 2), Laura Mercado (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- Estación Experimental Agropecuaria Mendoza - Laboratorio de Microbiología, Mendoza, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

Las levaduras forman parte de las comunidades microbianas del viñedo. *Saccharomyces cerevisiae*, tiene un rol fundamental en la fermentación alcohólica y en su contribución a las características de los vinos. Conocer los fenómenos que determinan la presencia de distintas *S. cerevisiae* en los viñedos de una región vitícola es el punto inicial para valorar la diversidad microbiológica y favorecer el agregado de valor y la diversificación de la producción de vino. En el presente trabajo se estudiaron las poblaciones de *S. cerevisiae* en un viñedo Malbec de la región vitícola Zona Alta del Río Mendoza, con el fin de conocer su presencia en diferentes nichos, y su persistencia en un período de dos meses previos a la cosecha. Se seleccionaron 10 sectores de la parcela donde se obtuvieron muestras de bayas, corteza y suelo en tres fases continuas del ciclo fenológico: envero, post-envero y madurez. Las uvas se descobajaron y molieron asépticamente, las muestras de suelo y corteza se colocaron en mosto estéril (24°Brix, pH 3,5) y todos los mostos se incubaron a 25°C para permitir su fermentación espontánea. Cuando el 75% de los azúcares se consumieron, se sembraron diluciones en medio WL adicionado con cloranfenicol (50 µg/ml), se aislaron las levaduras *S. cerevisiae* y se diferenciaron intra-específicamente por PCR interdelta. Cada etapa evaluada mostró una dinámica distinta en cuanto a presencia y número de cepas *S. cerevisiae*. En envero no se encontró *S. cerevisiae* en muestras de suelo, en las etapas posteriores hubo aislamientos positivos, pero se observó poca diversidad y limitada dispersión de estas. En el caso de las muestras de uva, se verificó un aumento de la diversidad con el avance de la maduración, tanto en el número de patrones interdelta observados como en su dispersión en el viñedo. Por el contrario, las muestras de corteza exhibieron una situación inversa. La mayor diversidad de *S. cerevisiae* se observó en el envero, mientras que hubo menor presencia y baja diversidad en el post-envero y la madurez. No se encontraron cepas de *S. cerevisiae* presentes en las tres fases estudiadas, es decir, que las poblaciones aisladas variaron de una etapa a otra. Más allá de la alta diversidad de *S. cerevisiae* detectadas en la misma parcela, resulta notable la dinámica de sustitución de individuos de la misma especie observada en un intervalo corto de tiempo, lo cual implica un alto impacto de las condiciones ambientales en la composición microbiana del viñedo.

APLICACIONES DE LA INULINA DE TOPINAMBUR (*Heliantus tuberosus* L.) COMO SUSTRATO PARA EL DESARROLLO DE PROBIÓTICOS Y PROTECCIÓN FRENTE AL PASAJE GASTROINTESTINAL

Carolina Iraporda (1)*, Irene A. Rubel (1), Guillermo D. Manrique (1), Analía G. Abraham (2)

(1) Facultad de Ingeniería de Olavarría (FIO, UNCPBA), Olavarría, Argentina. (2) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (UNLP-CIC-CONICET), La Plata, Argentina.

El topinambur (*Heliantus tuberosus* L.) es una especie de la familia *Asteraceae*s. Su rusticidad le permite adaptarse a diversas condiciones ambientales y generar altos rendimientos por unidad de superficie. El topinambur almacena fructanos del tipo inulina, como polisacárido de reserva. La inulina se considera un compuesto prebiótico, que puede ser hidrolizado y fermentado por bacterias benéficas en el colon, como son *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos ejercen un efecto beneficioso para la salud. El objetivo fue evaluar el crecimiento de probióticos en presencia de inulina de topinambur y analizar el efecto de la presencia de inulina en la resistencia al pasaje por el tracto gastrointestinal *in vitro*. Las cepas *Lactobacillus paracasei* BGP1 (Clerici, Sacco) y *Lactobacillus plantarum* CIDCA8327, se inocularon en MRS basal (MRS_B) y/o con inulina de topinambur (IT), inulina de achicoria (IGR) (GR, Beneo-Orafti®) o glucosa (Glc) al 1 %p/v, e incubaron a 37°C, 48 h. Se midió densidad óptica (DO₅₉₀) y pH, a distintos tiempos y se realizaron recuentos en placas a las 24 h. Se determinó la sobrevida (UFC/ml) luego del tratamiento gastrointestinal (TGI) utilizando cultivos crecidos en MRS_{Glc}, sometidos a una solución gástrica simulada (pH 2,5), 1,5 h, 37°C, seguida de solución intestinal simulada (pH 8), 2,5 h, 37°C, con y sin IT o IGR (1 %p/v). Ambas cepas fueron capaces de crecer y acidificar el MRS adicionado de las distintas fuentes de carbono. *L. paracasei* presentó mayor tasa de crecimiento y acidificación en MRS con los distintos carbohidratos respecto al MRS_B. A las 24 h el crecimiento y la acidificación en MRS con ambos carbohidratos fue significativamente mayor al basal. La tasa de crecimiento de *L. plantarum*, en MRS_{Glc} fue mayor a la de MRS con inulina y éstas fueron superiores a MRS_B. A las 24 h, el crecimiento en MRS_{Glc} e IT resultó significativamente mayor que en MRS_{IGR}, mientras que en MRS_B fue significativamente menor respecto al suplementado. La viabilidad de *L. plantarum* frente a la simulación del TGI, fue mayor a la de *L. paracasei*. En presencia de los prebióticos, ambas cepas fueron significativamente más resistentes que sin ellos. El topinambur resulta una fuente no convencional, alternativa, para la obtención de un ingrediente para el crecimiento de probióticos cuya presencia en el alimento podría ejercer un efecto favorable sobre la viabilidad de los mismos para su aplicación industrial.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE β -galactosidasas A PARTIR DE MUESTRAS METAGENÓMICAS DE LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN DE PYMES LÁCTEAS

José Matías Irazoqui (1,2)*, María Florencia Eberhardt (1,2), Ariel Amadio (1,2)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) EEA Rafaela, Rafaela, Argentina. (2) CONICET, Argentina.

El lactosuero es el principal subproducto de la industria láctea. Contiene una gran parte de los nutrientes de la leche, incluyendo proteínas, minerales, vitaminas y lactosa. El lactosuero representa un problema ambiental de relevancia dado el gran volumen de producción y las altas DBO y DQO. Una alternativa para su aprovechamiento es producir productos de valor agregado mediante tratamientos fisicoquímicos o enzimáticos. Los galactoolisacáridos (GOS) contienen de dos a nueve moléculas de galactosa, unidas a una glucosa terminal por enlaces $\beta(1-4)$. Esta reacción es catalizada por una familia de proteínas llamada β -galactosidasas. En el presente trabajo planteamos la búsqueda de β -galactosidasas a partir de muestras metagenómicas de lagunas de estabilización de dos pequeñas empresas lácteas de la región centro de la provincia de Santa Fe. Brevemente, se estudiaron dos sistemas de lagunas de estabilización, "CYC", que cuenta con cuatro lagunas, y "AUR", que posee dos. Se tomó una muestra por cada laguna y se construyeron 6 bibliotecas para secuenciar por *Whole Genome Shotgun*. Las lecturas fueron ensambladas y los genes predichos a partir del ensamblado fueron comparados contra la base de datos de CAZy. Luego, se seleccionaron todos los *hits* correspondientes a las familias con actividad β -galactosidasa (GH1, GH2, GH35 y GH42), usando como umbral 70% de identidad y 70% de cobertura de secuencia. Estos fueron clasificados taxonómicamente utilizando el *hit* más cercano de BLAST contra la base de datos nr. En total se encontraron 198 genes candidatos para las familias GH1, GH2 y GH42. Para la familia GH35 no se encontró ningún candidato. Las secuencias se reparten entre siete *phyla* bacterianas, aunque la mayoría corresponde a *Gammaproteobacteria*. El número de candidatos por familia difiere significativamente, siendo GH1 la más numerosa con 131 genes candidatos, mientras que GH2 posee 59 y GH42 solo 8. De todas las secuencias identificadas, se seleccionaron 13 para su clonado y expresión en sistemas heterólogos, buscando la mayor diversidad posible, tanto taxonómica como de familia. En conclusión, a partir de muestras metagenómicas logramos identificar y caracterizar un grupo de β -galactosidasas. Su expresión en sistemas heterólogos, posterior purificación y reacción de hidrólisis permitirá evaluar su uso para el aprovechamiento del lactosuero en la obtención de productos de valor agregado, como los GOS.

DETECCIÓN DE *Xylella fastidiosa* EN LAS PRINCIPALES ZONAS OLIVÍCOLAS DE LA PROVINCIA DE CATAMARCA

Facundo Laje (1), Patricia Tolocka (2), Franca Carrasco (1)*, Ángel Matías (1), Raquel Haelterman (2), Carlos González Vera (3)

(1) Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Catamarca, Argentina. (2) Instituto de Patología Vegetal (IPAVE), INTA, Córdoba, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Catamarca (UNCA), Catamarca, Argentina.

En Argentina, la bacteria *Xylella fastidiosa* afecta cultivos de importancia productiva como almendro, cítrico y olivo. La “escaldadura de la hoja del almendro” y la “clorosis variegada de los cítricos” están difundidas en Catamarca y la zona del NEA, respectivamente. En olivo, “el quemado de la hoja”, fue detectado en Córdoba, La Rioja, Buenos Aires y Catamarca. En esta última, el SENASA e IPAVE-INTA detectaron la presencia de *X. fastidiosa* subsp. *pauca* en montes viejos tradicionales, en el Departamento Andalgalá, sin antecedentes de su detección en otras zonas olivícolas en la provincia. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de la bacteria en las principales zonas productoras de olivo en la provincia para aportar al conocimiento de la epidemiología de la enfermedad en la región. La estrategia de abordaje consistió en monitoreos planificados de partes aéreas (ramas y brotes) de plantas sintomáticas seguidos de análisis en laboratorio mediante técnicas de diagnóstico serológicas (DAS-ELISA) y moleculares (PCR). Las zonas de muestreo consideradas fueron los Departamentos Andalgalá, Tinogasta, Pomán, Capayán y Valle Viejo, con la mayor superficie de cultivo implantada en la provincia y cercanos a los focos de infección. La sintomatología buscada fueron ramas con hojas secas en la parte superior y hojas basales con quemaduras apicales conocidas como “punta de flecha”, síntoma característico de la enfermedad. Se recolectaron un total de 36 muestras, de las cuales 7 (19,4%) dieron resultados positivos para *X. fastidiosa* y provenían de plantas de la variedad Arauco de entre 10 y 40 años. Los resultados del monitoreo permitieron confirmar la presencia de la bacteria en los Departamentos Andalgalá, Pomán y Valle Viejo. La distribución de la bacteria constituye un peligro potencial para la olivicultura de la provincia, por lo tanto, el monitoreo y diagnóstico son acciones claves para conocer la situación actual de la bacteria favoreciendo a una adecuada toma de decisiones en cuanto a prevención y de control.

RESEÑA DE LA COLECCIÓN DE HONGOS PATÓGENOS Y SIMBIOTES DE INSECTOS Y DE OTROS ARTRÓPODOS DEL CENTRO DE ESTUDIOS PARASITOLÓGICOS Y DE VECTORES (CEPAVE) UNLP-CONICET

Claudia Cristina López Lastra (1)*, Alejandra Concepción Gutierrez (1), Romina Guadalupe Manfrino (1), Anahi Musso (1), Mónica Beatriz Rodríguez (1), Marianel Falvo (1), Manuel Rueda Paramo (1), Byron Moreno Coronado (1), Julieta Tornesello Galván (1), Graciela Teresa Navone (1).

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) UNLP-CONICET, La Plata, Argentina.

La colección de hongos patógenos y simbioses de insectos y de otros artrópodos del CEPAVE ha sido originada en 1988, como resultado de los relevamientos y aislamientos de la tesis doctoral: "Incidencia de hongos patógenos de insectos de la Argentina" (FCNyM-UNLP). Los aislamientos proceden de relevamientos realizados por investigaciones del grupo de hongos entomopatógenos del CEPAVE y de depósitos externos. La colección dispone de un reglamento propio y de un manual del control de calidad, y está abierta para actividades de investigación, docencia, servicios y asesoramiento público y privado. Está a cargo de la Dra. Claudia López Lastra (curadora de la colección). Se halla registrada en el Sistema Nacional de Datos Biológicos (SNDB), en la Federación Latinoamericana de Colecciones de Cultivos (FELACC) y en la *World Federation for Culture Collections* (WDCC), desde el año 2008. Los aislamientos provienen de distintas localidades y regiones de la República Argentina (desde Jujuy /Misiones hasta Tierra del Fuego); encontrados en diferentes aéreas geográficas, entre ellas, aéreas naturales protegidas, sistemas agrícolas, sistemas acuáticos. Pudiendo ser aislados directamente de insectos (principalmente Hemíptera, Lepidóptera, Díptera, Coleóptera, Blattodea, Orthoptera) y de otros artrópodos (ácaros y arañas), o a partir de muestras de suelo, mediante el método *in vivo*, con insectos cebos o trampa, o *in vitro* a través de medio selectivo. La colección actualmente cuenta con más de 25 especies fúngicas con 386 aislamientos pertenecientes al: Phylum Ascomycota, Phylum Entomophthoromycota, S.P. Kikcsellomycotina, y Reino Straminipila. La caracterización morfológica de los aislamientos, en algunas cepas, ha sido complementado con la caracterización a nivel molecular (regiones ITS 1,2, LSU, SSU principalmente). Los métodos de preservación de cultivos usados son: en agua destilada estéril, en papel de filtro, congelación en glicerol 10% (freezer -20°C y freezer -70°C), desecación de los cultivos en arena y la reciente incorporación de la metodología por liofilización. Está planificado para este año 2018 completar la base de datos actualizada y confeccionar una página web propia y un catálogo de la misma.

DETECCIÓN DE CEPAS DE *Bacillus cereus sensu lato* CON POTENCIAL TOXICOGÉNICO EN MUESTRAS DE POLEN APÍCOLA

Ana C. López (1,2), Leticia Fernández (3), Liliana M. Gallez (3), Adriana M. Alippi (1,4)*

(1) Centro de Investigaciones de Fitopatología, CIDEFI (CIC/UNLP). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (2) CONICET-CCT La Plata, Argentina. (3) CONICET - Laboratorio de Estudios Apícolas (LabEA), Centro Asociado CIC, Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (4) CIC Provincia de Buenos Aires.

El polen apícola, resultado de la aglutinación del polen de flores con néctar y sustancias salivares efectuado por las abejas, es recolectado y procesado por los apicultores. Este polen es un producto natural que queda expuesto a las condiciones ambientales, por lo que contiene una variada microbiota representada principalmente por lactobacilos y levaduras. Asimismo, puede contener bacterias esporuladas procedentes de las abejas, de las flores o de las prácticas apícolas, que lo convierten en un vector potencial para la transmisión de microorganismos patógenos. Las bacterias pertenecientes al género *Bacillus* son las especies esporuladas más frecuentes en diversas fuentes de apiario. Muchos representantes son ubicuos y, entre ellos, *Bacillus cereus* ocasiona patologías intestinales que cursan con diarrea y/o vómitos ejerciendo sus efectos biológicos mediante la producción de toxinas y otros factores de virulencia. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la presencia de factores de virulencia en cepas de *B. cereus sensu lato* aisladas de polen para consumo humano mediante PCR y cebadores diseñados en base a secuencias homólogas a los genes *hblA*, *hblB*, *hblD*, *hblC* del complejo HDL; *ces* (cereulida); *ctyk* (citotoxina K); enterotoxina T (*Et*), *Nhe* (complejo no hemolítico) y *spsH* (fosfolipasa C). A partir de 64 muestras de polen analizadas se obtuvieron 54 aislamientos (84%) en agar PEMBA. Todos los aislamientos se identificaron como *B. cereus sensu lato* en base a los resultados de la caracterización fenotípica: morfología de las colonias en PEMBA y Hicrome Bacillus agar; producción de lecitinasa, observación microscópica de células vegetativas y esporas; presencia de glóbulos lipídicos en el citoplasma y reacción de hemólisis en agar sangre. De los 54 aislamientos estudiados, 53 (98%) contenían al menos uno de los genes analizados. Es interesante destacar que una cepa (PO40) presentó todos los componentes del complejo HDL (*hblA*, *hblB*, *hblD*, *hblC*) junto con citotoxina K (*ctyk*), ambos vinculados con el síndrome diarreico y, a su vez, cereulida (*ces*), relacionada con el síndrome emético. Nuestros hallazgos sugieren que el polen podría vehicular enfermedades transmisibles por alimentos debido a la presencia de cepas de *B. cereus s.l.* conteniendo los genes necesarios para sintetizar toxinas. No obstante, los recuentos obtenidos oscilaron entre 1 y 104 UFC/g de polen lo cual no superaría el mínimo necesario para ocasionar una intoxicación alimentaria.

DIFERENCIACIÓN RÁPIDA DE ESPECIES DE *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus* y *Rummeliibacillus* AISLADAS DE MIEL MEDIANTE PCR-RFLP

Ana C. López (1,2), Adriana M. Alippi (1,3)*

(1) Centro de Investigaciones de Fitopatología, CIDEFI (CIC/UNLP) - Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (2) CONICET-CCT La Plata – Argentina. (3) CIC Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Las bacterias mesófilas del género *Bacillus* y otros géneros relacionados provenientes de las superficies florales, polvo ambiental, aire y suelo son las especies esporuladas introducidas en la miel por las abejas con mayor frecuencia. Dado que una misma muestra de miel puede contener más de una especie de este grupo, el empleo de medios de cultivo semi-selectivos y diferenciales y pruebas microbiológicas posteriores para llegar a una correcta identificación resulta complicada y laboriosa. Por otra parte, si bien la secuenciación completa del gen 16S rDNA permite la identificación de las distintas especies bacterianas presentes en una muestra, secuenciaciones parciales en el caso de especies estrechamente relacionadas podrían resultar en una identificación errónea. El estudio de los polimorfismos por restricción de la longitud de los fragmentos de ADN generados por la digestión de enzimas endonucleasas en combinación con PCR (PCR-RFLP) permite detectar diferencias entre las secuencias de alelos. Por lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue elaborar un esquema de identificación rápida para diferenciar 32 especies de los géneros *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus* y *Rummeliibacillus* citadas en miel mediante el análisis de los distintos perfiles de restricción obtenidos con las endonucleasas *AluI*, *HhaI*, *HaeIII*, *HinfI*, *RcaI* y *TaqI*. Adicionalmente, se amplificó un fragmento de 1.492 pb del gen 16S rDNA utilizando la reacción de PCR y *primers* universales (27F/1492R) empleando como molde ADN obtenido de una colección de 107 cepas pertenecientes a 21 especies de los géneros *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus* y *Rummeliibacillus*. Las cepas fueron aisladas de mieles de distintos orígenes geográficos empleando 4 medios de cultivo (PEMBA- Hicrome *Bacillus* agar -MYPGP - Triptona soya). El análisis de los polimorfismos generados por la variación en la secuencia de 4 sitios de reconocimiento generados por las 6 endonucleasas probadas permitió seleccionar la combinación de 3 enzimas de restricción (*AluI*, *TaqI* y *HhaI*) para diferenciar patrones únicos para cada una de las especies encontradas en miel, tanto *in silico* como *in vitro*. El método descrito resultó rápido y efectivo para identificar todas las especies de *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus* y *Rummeliibacillus* que han sido citadas en miel.

PERFIL DE SENSIBILIDAD/RESISTENCIA FRENTE A COLISTINA, FOSFOMICINA Y TIGECICLINA EN AISLAMIENTOS DE ENTEROBACTERIAS PROVENIENTES DE FUENTES DE AGUA DE LA PROVINCIA DEL CHACO, ARGENTINA

Liliana Lösch (1,2), Alejandro Sandi (2), Salvador Leyes (2), Valeria Amable (3), Luis Merino (1)*

(1) Área de Bacteriología- Instituto de Medicina Regional- Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Argentina. (2) Laboratorio de Aguas- Administración Provincial del Agua del Chaco, Resistencia, Argentina.

(3) Facultad de Veterinaria- Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

Los recursos hídricos superficiales se están transformando en reservorios de bacterias que exhiben resistencia a múltiples agentes antimicrobianos o son portadores de genes de virulencia, como resultado del vuelco de efluentes municipales u hospitalarios, sin tratamiento previo, o de las actividades agrícolas y ganaderas. Los genes de resistencia antibiótica y los de virulencia se consideran como contaminantes ambientales emergentes. Como en otras partes del mundo, esta problemática también se presenta en los cursos de agua de la provincia del Chaco, los que integran la Cuenca del Plata. El objetivo del trabajo fue caracterizar el perfil de resistencia/sensibilidad frente a fosfomicina (FOS), colistina (COL) y tigeciclina (TGC) en enterobacterias recuperadas de cursos de agua de la provincia del Chaco. Se tomaron muestras de agua de cursos y cuerpos de agua superficiales las que se enriquecieron directamente en caldo Lauril Sulfato. Posteriormente se realizó el aislamiento de las colonias en agar Eosina Azul de Metileno. Las colonias fueron identificadas por pruebas bioquímicas clásicas. La evaluación del perfil de sensibilidad/resistencia de las cepas frente los tres antimicrobianos se realizó por el método de difusión en agar Mueller Hinton. Se analizaron 24 muestras de agua a partir de las cuales se obtuvieron 37 aislamientos de enterobacterias. Ocho (21,6%) presentaron resistencia individual o combinada frente a algunos de los antimicrobianos ensayados. De ellos, 2 (5,4%) presentaron resistencia sólo frente a FOS, 2 (5,4%) frente a TGC y 1 (2,7%) a COL. Dos (5,4%) aislamientos fueron resistente a FOS y TGC y 1 (2,7%) fue resistente a FOS y COL. Todas las resistencias fueron confirmadas mediante microdilución en caldo por sistema semiautomatizado. Los aislamientos resistentes pertenecían a: *Citrobacter* spp., *Cedecea* spp., *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. La identificación de reservorios ambientales de bacterias resistentes contribuye al entendimiento de la epidemiología de estos patógenos a la vez que permite evaluar, localmente, en qué situaciones deben extremarse las medidas para prevenir la diseminación de la multirresistencia.

ESTUDIO DEL AISLAMIENTO DE BACTERIAS DEGRADADORAS DEL HERBICIDA N-FOSFOMETILGLICINA O GLIFOSATO

Fiorella Masotti (1)*, Natalia Gottig (1), Jorgelina Ottado (1)

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR)- CONICET, Rosario, Argentina

El glifosato o N-fosfometilglicina ($C_3H_8NO_5P$) es utilizado en la agricultura como un herbicida foliar de amplio espectro para el control de las malezas. En nuestro país su uso extensivo ha ido aumentando en forma sostenida a lo largo de los años y aunque su mecanismo de acción no afecta a los mamíferos, se han realizado numerosos estudios acerca de la incidencia de este compuesto sobre la salud humana y los ecosistemas, mostrando una gran diversidad de resultados, siendo incluso algunos, controversiales. En este contexto, resultaría útil tener herramientas que permitan detoxificar la molécula de glifosato de los ambientes naturales a través de la biorremediación. Es por ello que en este trabajo se propone aislar y estudiar nuevas bacterias capaces de utilizar al glifosato como sustrato para su crecimiento y de esta forma disminuir o eliminar su presencia de las fuentes naturales en las que se encuentra. Se obtuvieron muestras de tierra a partir de campos con historia de repetidas fumigaciones con el herbicida. A partir de estas muestras se seleccionaron y aislaron bacterias capaces de crecer en el medio mínimo MSI suplementado con glifosato como única fuente de fósforo. Se obtuvieron 15 aislados bacterianos diferentes los cuales se identificaron por MALDI-TOF MS biotyping. Se encontraron cepas pertenecientes a las siguientes especies: *Pantoea agglomerans*, *P. ananatis*, *Ochrobactrum guilloiae*, *O. anthropi*, *O. intermedium*, *Achromobacter xylosoxidans*, *A. insolitus*, *A. denitrificans*, *Acinetobacter guillouiae*, *Rhizobium radiobacter*, *Pseudomonas putida*, *P. nitroreducens*, entre otras que no fueron identificadas. A estas cepas se les evaluó la velocidad y capacidad de crecimiento en presencia de glifosato. Para ello se midió la densidad óptica a lo largo del tiempo en medio líquido MSI suplementado con este compuesto. Se pudo concluir que las bacterias del género *Pantoea* y *P. putida* tienen un crecimiento más rápido, aunque menor, que aquellas bacterias cuyo crecimiento fue más lento. En cuanto a los estudios de actividad frente a la degradación del glifosato, se utilizó la técnica de cromatografía en capa delgada (TLC) para estimar la cantidad remanente en el medio en el cual fueron crecidas las bacterias. Estos resultados contribuirán al estudio de la degradación del glifosato por parte de la microbiota natural del suelo y al posible uso de estos microorganismos en procesos de biorremediación.

EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN QUITINOLÍTICA EN CEPAS NATIVAS DEL GÉNERO *Laetisaria* Burds. (Corticaceae, Basidiomycota)

Eliana Melignani (1), Viviana Barrera (2)*, Juan Santiago Guidobono (3), Laura Levin (1)

(1) Instituto de Micología y Botánica (INMIBO-CONICET), Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, INTA, Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto de Ecología, Genética y Evolución (IEGEB-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Las cepas del género *Laetisaria* aisladas en un ensayo de rotación de cultivos de cebolla en la EEA-INTA Ascasubi (Buenos Aires) poseen un interés potencial como biocontroladores de hongos patógenos de cultivos. Con el objetivo de evaluar su acción quitinolítica, se midió la capacidad de 8 cepas para degradar quitina coloidal en medio sólido y líquido. En placa las cepas A, B, C, D, F, G, I y J se cultivaron en agar papa glucosado a 25°C (72 hs en oscuridad). Tacos de 5 mm Ø fueron transferidos a placas con medio M9 (sales y N como NH₄) 10 g/l, quitina coloidal 1% y agar 15 g/l e incubados 15 días a 25°C en oscuridad (6 réplicas por cepa). Se midió el diámetro del halo de degradación de la quitina (Dh) y el del micelio (Dm). Se calculó el índice enzimático IE=Dh/Dm. Los datos fueron analizados por Modelos Lineales Generalizados y test de comparación DGC. En medio líquido las cepas seleccionadas D e I fueron crecidas en 3 medios de cultivo: Qui (glucosa 5 g/l, extracto de levadura 6 g/l y quitina coloidal 5 g/l); NAG (glucosa 5 g/l, extracto de levadura 6 g/l y N-acetil-glucosamina 5 g/l), y M9 (medio M9 10 g/l y quitina coloidal 1%). Los frascos con 25 mL de cada medio de cultivo fueron inoculados con 2 tacos (5 mm Ø) e incubados 34 días a 25°C en oscuridad y agitación (220 rpm) (2 réplicas por cepa por medio de cultivo). Se evaluó espectrofotométricamente la actividad quitinolítica a los 3, 6, 14, 21 y 28 días con 2 sustratos (quitina coloidal o quitin-azure), midiendo la absorbancia de los productos (azúcares reductores o azure, respectivamente). Se observó crecimiento en 7 de las 8 cepas testeadas en placa (con excepción de la cepa B). Los valores de IE obtenidos fueron: J=2,58; D=2,49; I=2,43; A=2,06; G=2,02; C=1,87 y F=1,66. Las de mayor IE fueron las cepas J, D e I ($F=26,49$; $p<0,0001$). En los medios líquidos Qui y NAG se logró obtener biomasa considerable, pero no en M9. A pesar de ello, la detección de la actividad quitinolítica no fue concluyente con los métodos utilizados ($Abs \leq 0,06$). A partir de estos resultados se considera que 7 cepas de *Laetisaria* sp. utilizaron quitina como fuente de C en medio sólido. Sin embargo, no se pudo detectar actividad quitinasa en medio líquido. Esto puede deberse a la dificultad para establecer contacto con el inductor (quitina coloidal insoluble) en estas condiciones, a diferencia de lo que ocurre en medio sólido, como se ha citado previamente.

**HALLAZGO DE UN AISLAMIENTO DE *Xylaria* sp. EN UN BASURERO DE HORMIGAS
CORTADORAS *Acromyrmex lundí***

Jorge Ignacio Mini (1)*, Julieta B. Posadas (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Laboratorio de Hongos Entomopatógenos. Hurlingham, Argentina.

Las hormigas cortadoras del género *Acromyrmex* cultivan un hongo y mantienen un jardín en sus nidos. Con los residuos que genera dicho jardín, producen basureros que presentan un ecosistema complejo. En dichos basureros se puede hallar una variedad de microorganismos que producen metabolitos secundarios bioactivos que podrían ser de utilidad tanto en el control de plagas como en la agroindustria. Con el objetivo de obtener hongos de importancia en el control microbiano, se colectaron hongueras del campo durante los meses de enero, febrero, marzo y abril de 2017. En una primera etapa, se monitorearon y marcaron 20 hormigueros en el predio de INTA Castelar y posteriormente se colectaron las hongueras con hormigas y se llevaron a laboratorio, donde se dispusieron en pequeños hormigueros conteniendo un recipiente para forrajeo, un nido y un basurero. Los hormigueros fueron alimentados y mantenidos en condiciones de laboratorio a fin de poder tomar muestras a diario de los basureros y sembrarlos en placas con agar papa glucosado. Semanalmente se cambió el recipiente del basurero por uno limpio y este se incubó en cámara de cultivo a 25°C. Bajo lupa y cabina de flujo laminar se tomó una ansada de los hongos crecidos en las placas y en los basureros y se observaron bajo microscopio óptico para su identificación utilizando claves en una primera instancia e identificación molecular posteriormente. Se obtuvo 1 aislamiento de *Xylaria* sp., el cual fue identificado por métodos moleculares. Dicho género presenta muchas especies parásitas y además suelen ser productores de metabolitos secundarios con actividad biológica. Dicho aislamiento fue liofilizado y conservado en la micoteca del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de IMYZA, INTA Castelar. El mismo será utilizado para realizar ensayos a futuro que permitan hallar metabolitos con actividad biológica de tipo insecticida que puedan ser utilizados en el control de hormigas.

EVALUACIÓN DE LA MICROBIOTA SUPERFICIAL DE KIWIS CV. 'Hayward' COSECHADOS EN EL SUDESTE BONAERENSE

Ayelen Moreno (1), Alejandra Yommi (2), Sandra Medici (3,4), Claudia Castellari (4),
María Alejandra Pereyra (4)*

(1) Comisión de Investigaciones Científicas- Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina. (2) INTA. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Balcarce, Argentina. (3) Fares Taie Instituto de Análisis, Mar del Plata, Argentina. (4) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina.

La superficie de los frutos presenta una microbiota natural, que es alterada por las prácticas agrícolas utilizadas por cada productor al momento de la cosecha, el transporte, el almacenamiento y empaque. El objetivo fue evaluar la carga microbiana presente en frutos de kiwi (*Actinidia deliciosa*) luego de la cosecha y curado en 3 plantaciones ubicadas en diferentes zonas del sudeste de la prov. de Bs. As.: Sierra de los Padres (S), El Dorado (D) y Batán (B). La fruta se cosechó manualmente, se curó (48 h, en un ambiente ventilado) y se trasladó al laboratorio. La carga microbiana se determinó sobre una superficie 5,73cm² en cada fruto. Se cuantificaron los grupos de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT), hongos filamentosos (HF) y levaduras (L) y la presencia/ausencia de coliformes totales (CT). Alícuotas de 0,1 y 1mL de las suspensiones se sembraron en superficie sobre medio APG (2%) para evaluar el desarrollo de HF y L, y en placa vertida con AN para el de BAMT. Las placas se incubaron a 25°C por 5 días para HF y L y a 37°C por 48h para BAMT. El recuento se expresó en UFC/cm² de superficie de fruto. La presencia/ausencia de CT se determinó sembrando 1 mL de la suspensión en tubos con medio selectivo para coliformes e incubando a 37°C por 48h. Se consideró resultado positivo cuando los tubos presentaron turbidez y acumulación de gas en la campana de Durham. Para *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* spp. se utilizó la técnica de PCR en tiempo real y normas ISO 6579, respectivamente. Se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los recuentos de la microbiota (BAMT y HF) que afectan la calidad y vida útil de la fruta entre las plantaciones, siendo en Batán donde se halló el mayor contenido, 8,64 y 1,74 10² UFC/cm², respectivamente. La carga de L fue de 1,06 UFC/cm², sin diferencias estadísticas entre las plantaciones. El % de frutos con recuento positivo para CT fue de 90% en S, 10% en D, y 50% en B. Todos los cultivos dieron negativo para *E. coli* O157:H7 y *Salmonella* spp. El kiwi se destina al consumo como fruta entera, aunque interviene cada vez más en la elaboración de productos mínimamente procesados y deshidratados. En todos los casos, la inocuidad debe estar garantizada y para ello, cada eslabón del proceso debe tener en cuenta este aspecto. Los resultados presentados indican el grado de contaminación ambiental y humana al finalizar la cosecha y el curado, destacándose la ausencia de bacterias patógenas perjudiciales para salud del consumidor.

EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin SOBRE *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) EN GRANOS ALMACENADOS

Anahi Musso (1,2)*, Susana Beatriz Padín (2), Marianel Lucia Falvo (1), Eliana Ordoqui (1), Graciela Mónica Minardi (1), Claudia Cristina López Lastra (1)

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) UNLP-CONICET, La Plata, Argentina. (2) Cátedra de Terapéutica Vegetal - Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF) UNLP, La Plata, Argentina.

Rhyzopertha dominica (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) constituye una de las principales plagas en el almacenaje de granos. El uso de hongos entomopatógenos es una alternativa de bajo impacto ambiental, que puede minimizar los problemas de toxicidad que provocan los insecticidas químicos en el control de plagas y aumentar la producción sustentable en un sistema de manejo integrado. En el presente trabajo se evaluó el efecto de 3 aislamientos de *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin sobre adultos de *R. dominica*, bajo condiciones de laboratorio. Las cepas fúngicas fueron: *B. bassiana* cepa 545 aislada de *Acromyrmex lobicornis* (Hymenoptera: Formicidae), cepa 560 aislada de *Edessa meditabunda* (Hemiptera: Pentatomidae) y cepa 567 aislada de *Acromyrmex lundii* (Hymenoptera: Formicidae), preservadas en la Colección de Hongos Entomopatógenos del CEPAVE. Fueron cultivadas en medio de cultivo agar papa glucosa (APG) y mantenidas en incubadora a 25°C en oscuridad durante 15 días, hasta la esporulación. Los insectos provenientes de la cría del Laboratorio de Terapéutica Vegetal de FCAyF fueron separados 24 h antes del bioensayo. El método de aplicación fue por aspersión con la utilización de un aerógrafo. Se aplicó una suspensión de conidios con una concentración de 2×10^8 conidios/ml. Se realizaron 3 repeticiones en el tiempo con 2 réplicas cada uno y un control. Pos aplicación los insectos se colocaron confinados en un recipiente de vidrio con granos de cebada. Se mantuvieron en incubadora a 25°C con un fotoperíodo de luz /oscuridad 12:12 h y humedad 60%. Se registró la mortalidad diariamente durante 15 días. Los insectos muertos fueron colocados en cámaras húmedas estériles mantenidas en incubadora a 25°C en oscuridad durante 7 días. Para confirmar la muerte a causa del hongo, se observó macro y microscópicamente la presencia de micelio y esporas de *B. bassiana*. Se calculó el porcentaje de mortalidad y la supervivencia cuando la mortalidad superó el 50%. La mortalidad registrada fue: 65% (cepa 545), 47,5% (cepa 560) y 60% (cepa 567). La supervivencia media fue de 9,4 días (cepa 545) y 10,1 días (cepa 567). Ambas cepas no mostraron diferencias significativas en los parámetros evaluados. Los resultados permitieron seleccionar aislamientos de *B. bassiana* con mayor potencial insecticida microbiano para el control de insectos en granos almacenados.

DETECCIÓN DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS DE *Salmonella Gallinarum* y *Salmonella Enteritidis* EN GUANO DE GALLINAS COMERCIALES

Xoana Ortiz (1,2), Florencia Prosdócimo (1), Ernesto Vignoni (1), Mauricio De Franceschi (1), Hebe Barrios (1)

(1) Universidad Nacional de Luján, Luján, Argentina. (2) Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), La Plata, Argentina.

Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias. Su replicación provoca lisis celular liberando numerosas partículas virales que se propagan a nuevas células. Aislar fagos es una alternativa para detectar bacterias patógenas. En la industria avícola las bacterias que afectan la producción y la salud pública son salmonelas tíficas, *Salmonella* subespecie *enterica* serovar Gallinarum (SG) y paratíficas, en especial *Salmonella* subespecie *enterica* serovar Enteritidis (SE) relacionadas a intoxicaciones alimentarias. La excreta de gallinas (guano) son residuos orgánicos y fuentes de N, P, K y Ca de interés agropecuario. Muestras de guano de 7 granjas de gallinas comerciales (4 automáticas y 3 manuales) de Luján y Mercedes, recolectadas entre junio-octubre de 2017 fueron procesadas para cuantificar bacterias entéricas (BE), aislar *Salmonella* spp y detectar fagos líticos para SG y SE. Coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *E.coli* (EC) fueron evaluadas por Número Más Probable (NMP) y *Salmonella* spp. por técnicas microbiológicas habituales. Los fagos se detectaron disolviendo 5 gramos de guano en 10 ml de caldo nutritivo enfrentados con 500 µl de cepas de SG ó SE en fase exponencial de origen aviar. Luego de 24 h a 37°C se centrifugó a 3500 rpm alícuotas del sobrenadante por 10 min, repitiendo la operación hasta no observar precipitado. A 10 ml del sobrenadante se agregó igual volumen de cloroformo con agitación y se comprobó presencia de fagos por spot test (ST): 3 ml de agar semisólido con 400 µl de cultivo de SE ó SG se mezclaron y volcaron en una placa de agar nutritivo (AN) donde se dibujó una cuadrícula en su base. En cada cuadrado se depositó una gota del sobrenadante. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h para observar presencia de calvas. Con la prueba de la gota (PG) se determinó lisis total o parcial enfrentando cepas de SG ó SE sembradas en AN con los fagos aislados. Los resultados demostraron alta carga de BE en las 7 granjas: CT y CF > 1100 NMP/g; EC entre 7,5 y 210. Se aisló *Salmonella* spp. en 1 granja automática. Por ST se detectaron fagos en guano de 6 granjas (4 automáticas y 2 manuales). Por PG, se observó lisis total en 2 granjas automáticas para SG y SE y en 1 automática para SG y lisis parcial para SG en 1 granja automática y en 2 manuales. La detección de fagos es una técnica efectiva para determinar SG y SE en muestras con alta carga microbiana. Se recomienda un exhaustivo análisis del guano antes de su uso agropecuario.

ESTUDIOS PARA IDENTIFICAR LOS MECANISMOS DE ACCIÓN DE AGENTES DE BIOCONTROL DE ENFERMEDADES FOLIARES EN MAÍZ

Melina Sartori (1)*, Andrea Nesci (1), Miriam Etcheverry (1)

(1) Laboratorio de Ecología Microbiana Ambiental, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina.

En Argentina las principales enfermedades fúngicas foliares que afectan el maíz son la roya causada por *Puccinia sorghi* y el tizón causado por *Exserohilum turcicum*. Dichas enfermedades provocan una significativa disminución en el rendimiento de granos en la zona maicera núcleo. Con el objetivo de dar respuesta a tal problema fitosanitario con una alternativa biológica, nuestros estudios están dirigidos al desarrollo de un biofungicida a base de bacterias antagonistas nativas de la filosfera. Para continuar en este sentido, en el presente estudio se planteó determinar el mecanismo de acción de bacterias seleccionadas de la filosfera capaces de controlar el crecimiento de *E. turcicum in vitro* e *in planta*, y el crecimiento e infección de *P. sorghi in planta*, identificando la producción de metabolitos y de enzimas líticas con acción antimicrobiana. Las ocho cepas antagonistas fueron identificadas por métodos moleculares. Se determinó la producción de enzimas hidrolíticas *in vitro*, la actividad quitinasa, proteasa y β -1,3 glucanasa, medida en la liberación de glucosa con laminarina como sustrato. Se determinó también la producción de compuestos antibióticos y volátiles, los cuales fueron luego caracterizados por GC-MS. Las cepas 1, 2 y 3 mostraron alta similaridad con *Curtobacterium* spp., 4 y 5 con *Pantoea* spp. y 6, 7 y 8 con *Bacillus* spp. Ninguna cepa mostró actividad quitinasa, y las tres de *Bacillus* spp. manifestaron una importante actividad proteasa. En todas las cepas se evidenció actividad β -1,3 glucanasa, la cepa 2 perteneciente a *Curtobacterium* spp. mostró la mayor actividad con 494 μ M de glucosa, seguida por las cepas de *Bacillus* spp. Al analizar la producción de compuestos volátiles, todas las cepas mostraron la inhibición del crecimiento de *E. turcicum in vitro*, siendo *Pantoea* spp. y *Bacillus* spp. las de mayor inhibición. Al caracterizar los compuestos orgánicos volátiles por GC-MS, las mismas cepas demostraron la producción significativa de entre 5 y 8 compuestos, siendo para ambas cepas de *Pantoea* spp. indol el compuesto principal y cyclopentasiloxane, decamethyl para *Bacillus* spp., mientras que las cepas de *Curtobacterium* spp. mostraron la menor producción. Conocer el mecanismo de acción de microorganismos nativos con capacidad de control es esencial. Los datos obtenidos sobre la expresión y comportamiento de algunas enzimas y metabolitos involucrados, son factores claves que contribuirán en el proceso de desarrollo de un biofungicida foliar exitoso.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL LIMONENO SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAR DE ESPECIES DE *Fusarium* spp. PATÓGENAS DE CEREALES

Luciana Belén Silvestro (1,2,3), Maximiliano Cardareli (3), Fernando Biganzoli (4),
Mauro Martínez (1,3)*, María Virginia Moreno (1,3,5) y Ana Paula Murray (6)

(1) Lab. de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB), UNCPBA-CICBA, INBIOTEC-CONICET. Azul, Argentina. (2) Área Química, Facultad de Agronomía, UNCPBA, Azul, Argentina. (3) Facultad de Agronomía UNCPBA, Azul, Argentina. (4) Dep. de Métodos Cuantitativos y Sistemas de Información, Facultad de Agronomía, UBA, Buenos Aires, Argentina. (5) Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía, UNCPBA, Azul, Argentina. (6) INQUISUR-CONICET, Dep. de Química, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

Los patógenos de cereales generan actualmente pérdidas significativas en la producción de granos a nivel mundial. Dentro de las pérdidas más importantes, se pueden mencionar aquellas que afectan a los rendimientos y la calidad de los granos y por la producción de micotoxinas pudiendo generar toxicidad en animales y humanos. Al presente, el manejo integrado de estos patógenos está dado por la generación de cultivares y/o líneas resistentes, la aplicación de sistemas de rotación de cultivos para disminuir la carga del inóculo y el uso de fungicidas (de síntesis química y con riesgo ambiental). El objetivo del presente trabajo fue evaluar la acción del limoneno sobre el crecimiento miceliar de especies patógenas de *Fusarium* spp.. Diferentes volúmenes de una solución stock de limoneno (Sigma®) (50%V/V) preparadas con EtOH absoluto y 5% de Tween-20 (v/v) fueron incorporadas a 25 ml de medio de cultivo agar papa glucosado a 40-45°C, en placas de Petri de 9 cm de diámetro. Se inoculó el centro de una placa con un disco (6,5 mm) de micelio de cada una de las especies (*F. avenaceum*, *F. cerealis*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. graminearum sensu strictu*, *F. pseudograminearum* y *F. subglutinans*) del margen de la colonia en activo crecimiento y se selló la caja con parafilm. Se incubaron en estufa de cultivo a 20 +/- 2°C con alternancia de luz/oscuridad 12hs. Cada combinación se hizo por triplicado y se colocó un control del patógeno sin compuesto orgánico y con EtOH absoluto y Tween 20 (v/v) y un segundo control sin compuesto orgánico y sin EtOH y Tween 20 (v/v). Se midió el diámetro de la colonia cada 48hs hasta que el tratamiento control alcance el borde de la placa de Petri (4-7 días). Se observa que todos los tratamientos, en los que se incorporaron 350µl, 400µl y 450µl de la solución de limoneno, generaron inhibición significativa sobre el crecimiento miceliar de las especies de *Fusarium* spp. evaluadas respecto a los controles, sin embargo no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Es promisorio el empleo de aceites esenciales que incluyan limoneno en su composición como potencial fungistático y/o fungicida de especies del género *Fusarium* spp. de importancia agronómica a nivel mundial.

EVALUACIÓN DE INULINA DE DISTINTOS ORÍGENES COMO PREBIÓTICO SOBRE *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* AISLADA DEL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA

María C. Tarifa (1)*, María A. Cubitto (2,3), María G. Sica (3), Irene A. Rubel (4), Lorena I. Brugnoli (1)

(1) Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur, INBIOSUR (CONICET-UNS), Bahía Blanca, Argentina. (2) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida, CERZOS (CONICET-UNS), Bahía Blanca, Argentina. (3) Dep. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (4) Dep. de Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Buenos Aires.

El uso excesivo de antibióticos en piscifactorías repercute negativamente en la salud pública y en el ecosistema; la introducción de pre y probióticos es una estrategia que ha generado interés en los últimos años. La inulina es un carbohidrato de reserva en diversas plantas perteneciendo al grupo de los fructanos con enlaces β (2 \rightarrow 1) y es aceptada como sustancia GRAS permitiendo la elaboración de alimentos funcionales simbióticos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial de la inulina como prebiótico sobre el crecimiento de cepas probióticas de peces. Se utilizó una cepa de *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* aislada del estuario de Bahía Blanca a partir de *Ramnogaster arcuata* con probada capacidad probiótica en el cultivo de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Como prebióticos de interés se utilizaron inulina comercial (IC) (Sigma-Aldrich Chemical Co.) e inulina obtenida de *Helianthus tuberosus* (ITub). El crecimiento se siguió en medio líquido por densidad óptica (DO₆₀₀) y recuento en placa a lo largo de 24 h y se registró el descenso de pH. Se partió de inóculos de 10⁶ UFC/ml en (i) MRS preparado a partir de sus componentes, (ii) MRS basal (MRS_b) como control negativo (sin glucosa) y (iii) MRS_b + 1% (p/v) de inulina (MRS_{IC} y MRS_{ITub}). Se midió la DO, el pH y se realizaron diluciones en PBS para la determinación de los recuentos en MRS agar para cada uno de los medios analizados. Las placas fueron incubadas a 25°C durante 48 h. Los resultados fueron expresados como Log UFC/ml. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. La utilización de inulina sustentó el desarrollo del probiótico. Con respecto al MRS_b al cabo de 24 h se registraron aumentos de 1,42 Log UFC/ml (g=1,98 h) para MRS_{ITub} y de 0,93 Log UFC/ml (g=1,47 h) para el MRS_{IC}, sin haber diferencias significativas ($p>0,05$) entre en MRS_{ITub} y el MRS. La capacidad de la cepa para fermentar el carbohidrato se observó en el descenso del pH a 4,0 al cabo de 24 h de desarrollo. A partir de los resultados se evidencia que *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* fermenta y crece en medios suplementados con inulina en remplazo de la glucosa, promoviendo futuros trabajos con inulina de origen vegetal a partir de cultivos autóctonos donde no sólo favorezca el crecimiento de las cepas, sino que mejore su desempeño, y potencie sus propiedades probióticas.

VIRULENCIA DE CEPAS DE *Escovopsis* sp. SOBRE UN AISLAMIENTO DE *Leucoagaricus gongylophorus* OBTENIDO DE HONGUERAS DE *Acromyrmex lundí*

Leonardo Udrea (2), Julietta B. Posadas (1)*

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Laboratorio de Hongos Entomopatógenos. Hurlingham, Argentina. (2) Facultad de Agronomía, UBA. CABA, Argentina.

Las hormigas cortadoras del género *Acromyrmex* cultivan un hongo basidiomycete, *Leucoagaricus gongylophorus*, que utilizan como su alimento y dependen de la sanidad del mismo para la subsistencia de la colonia. El hongo *Escovopsis* sp. es un enemigo natural del basidiomycete que cultivan las hormigas. Con el objetivo de seleccionar aislamientos de *Escovopsis* sp. virulentos para ser incorporados en un hormiguicida biológico, se realizaron ensayos duales en placa de petri. Se trabajó con 5 aislamientos de *Escovopsis* sp. y uno de *L. gongylophorus* obtenidos a partir de hongueras de *Acromyrmex lundí*. Se prepararon suspensiones de cada aislamiento fúngico y se ajustaron a 1×10^7 conidios/ml en cámara de Neubauer. En placas de petri conteniendo agar papa glucosado (APG) se sembraron 0,02 ml con ansa calibrada. Primero en un lado de la placa se sembró *L. gongylophorus*, y tres días después *Escovopsis* sp. en el lado opuesto de la placa. Además, se realizaron controles donde se sembró cada hongo por separado en el centro de la placa. Para cada tratamiento se realizaron 10 repeticiones. Se midió diariamente el crecimiento radial y se anotó la fecha de inicio de la esporulación. Además, se comparó el radio de *Escovopsis* hacia ambos lados de la placa (RL y R, hacia el lado donde se sembró el basidiomycete y hacia el lado opuesto respectivamente) a fin de corroborar si el crecimiento es dirigido hacia *L. gongylophorus*. Tres de los 5 aislamientos evaluados presentaron una elevada virulencia. Se observó un crecimiento dirigido hacia el sitio de la placa donde se inoculó el basidiomycete (promedio R= 22 mm y RL= 60 mm) y además la esporulación en estos tres aislamientos fue mucho más rápida que en el testigo (promedio de 3 días para los cultivos duales y 7 días para el testigo). La mayor esporulación se presentó principalmente sobre *L. gongylophorus*. Con estos tres aislamientos se continuará trabajando. Se realizarán ensayos donde se evaluará en microcultivos la formación de ganchos y trampas a fin de poder correlacionar la presencia y abundancia de dichas estructuras con la virulencia del aislamiento, y de esta manera se seleccionarán los más virulentos para incluirlos en un futuro micohormiguicida.

SESION DE POSTERS B

ÁREA TEMÁTICA

Interacciones de microorganismos con organismos
superiores

CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Xanthomonas citri* pv. *citri* AGENTE CAUSAL DE LA CANCROSIS DE LOS CÍTRICOS

Constanza M. Aguirre (1)*, Rocio Molina (2), Sergio M. Salazar (1,3), Raquel Haelterman (4), Mario E. Arena (2)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Famaillá, Tucumán. (2) Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria, Tucumán, Argentina. (3) Facultad de Agronomía y Zootecnia (UNT), Tucumán. (4) Instituto de Patología Vegetal, Córdoba, Argentina.

Argentina ocupa el 8° puesto en producción de frutas cítricas frescas en el mundo. Adquiere importancia en cuanto a la producción y exportación debido a las condiciones agroecológicas y a la posición estratégica en contraestación respecto a los productos del hemisferio norte. Una de las enfermedades cuarentenarias que afecta a los cítricos es la cancrrosis, considerada endémica en Argentina desde 1970. El agente causal es *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc), bacteria gram negativa que invade los tejidos, se multiplica y coloniza los espacios intercelulares de las plantas. La forma de adhesión es mediante el desarrollo de *biofilms* que le proveen protección frente a ambientes estresados, mecanismos de defensa del hospedante y compuestos antimicrobianos. El objetivo de este trabajo fue determinar velocidad, crecimiento y producción de *biofilm* de aislamientos obtenidos de la región NOA de nuestro país. Para la caracterización se trabajó con 12 aislamientos: Xcc A306 (cepa de referencia), Xcc 1330, 4-L16H, 6-L16H, 3-L16H, 12-P16F, LE 11-2, L1 29-1, 20-L17F, 25-L17R, 30-L17F y Xv5-4a, crecidos durante 72 h en oscuridad a 27°C en medio Agar Lima Bean (ALB). La velocidad y diferenciación de crecimiento fueron determinadas mediante la técnica de dilución en microplaca, leyendo la DO de cultivos líquidos cada 8 horas. Para la cuantificación de *biofilm* se empleó el método de O'Toole y Kolter (1998) ($\lambda = 580$ nm). El ensayo se realizó por triplicado, con 8 repeticiones por aislamiento. Los datos fueron analizados mediante modelos mixtos empleando el paquete InfoStat. Los resultados mostraron diferencias de crecimiento entre los aislamientos siendo LE 11-2 y 25-L17R los de mayor crecimiento, mientras que 12-P16F, 20-L17F y 4-L16H mostraron los valores más bajos. Además, 3 aislamientos (LE 11-2, 25-L17R, y 6-L16H) se diferenciaron por alcanzar el máximo crecimiento en el menor tiempo de cultivo. El análisis de producción de *biofilm* permitió formar 3 "cluster" bacterianos en los que no se observó una clara asociación entre la velocidad de crecimiento y producción de *biofilm*. Los aislamientos 12-L16F y Xcc 1330 se destacaron como los de mayor producción y 30-L17F, 20-L17F y 4-L16H presentaron la menor producción. A partir de los resultados obtenidos se planea evaluar estrategias de control frente a grupos bacterianos altamente agresivos para el cultivo y lograr obtener relaciones entre los diferentes parámetros evaluados.

BIOPROTECCIÓN DE LA TOXICIDAD POR ARSÉNICO POR BACTERIAS DEL GÉNERO *Bacillus* EN MODELO ANIMAL, *Caenorhabditis elegans*, Y VEGETAL, MAÍZ.

Marco Bartolini (1)*, Sebastián Cogliati (1), Cecilia Leñini (1), Carlos Bauman (1), Federico Argañaraz (1), Marcos Francisco (1), Victoria Boselli (1), Celina Bolains (1), Roberto Grau (1)

(1) Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Bioquímica y Farmacia, CONICET, Rosario, Argentina.

El arsénico es un compuesto cancerígeno que está altamente distribuido en todo el medio ambiente. La exposición a altos niveles de arsénico inorgánico puede deberse a diversas causas, como el consumo de agua contaminada o su uso para la preparación de comidas, para el riego de cultivos alimentarios y para procesos industriales, así como al consumo de tabaco y de alimentos contaminados. En los ecosistemas suele haber una intrínseca interacción entre los metales pesados contaminantes y los microorganismos nativos. Estos microorganismos suelen desarrollar mecanismos de resistencia que le permiten sobrevivir y, en algunos casos, remover/reducir las concentraciones de los contaminantes del medio ambiente que los rodea. En este trabajo analizamos la habilidad de diferentes cepas de bacterias del género *Bacillus spp.* de colonizar superficie y de formar biofilm en presencias de altas concentraciones (10 mM) de As(III). Se seleccionaron las mejores cepas y se utilizaron para estudiar la bioprotección a la exposición crónica de arsénico en el modelo animal *Caenorhabditis elegans* comparada con *Escherichia coli* OP50 y la cepas de referencia de *Bacillus subtilis* JH642. Para este ensayo se colonizó el intestino de individuos adultos (L4) del nematodo alimentándolo durante 72 horas con las cepas bajo estudio y someterlos luego a la exposición con As(III) en comparación con individuos colonizados por *E. coli* OP50. Se observó que cuando el intestino de *C. elegans* era colonizado con las bacterias resistentes a arsénico había una bioprotección del 47% comparada con *E. coli* OP50 y del 23% con *Bacillus subtilis* JH642. También se utilizaron las cepas resistentes a arsénico de *Bacillus sp.* para analizar el efecto PGPR en plantas. Para ello semillas, previamente sanitizadas, de trigo se pusieron en contacto con el metal para evaluar su poder germinativo y de desarrollo temprano. Las diferentes cepas de *Bacillus sp.* fueron capaces de colonizar la superficie de las semillas y permitieron la germinación de las mismas por encima de un 30% comparando con el control de semillas sin inocular con *Bacillus sp.* Estos resultados muestran el potencial biotecnológico de *Bacillus spp.* en la bioprotección contra metales pesados en sistemas bióticos animales y vegetales.

EFFECTO DE DIFERENTES ESPECIES DE *Fusarium* SOBRE LA CALIDAD DEL GLUTEN EN TRIGO PAN

Francisco Bellesi (1), Mauro Martínez (2)*, Agustín Arata (3), Sebastián Stenglein (1,2), Laura Lázaro (3), María Inés Dinolfo (1,2)

(1) Facultad de Agronomía, UNCPBA, Azul, Buenos Aires, Argentina. (2) Laboratorio de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB-Azul), Facultad de Agronomía, UNCPBA, Azul, Buenos Aires, Argentina. (3) Cátedra de Cereales y Oleaginosas. Laboratorio de Valoración de Calidad Industrial de Trigo. Facultad de Agronomía, UNCPBA, Azul, Buenos Aires, Argentina.

La infección de granos de trigo con diferentes especies del género *Fusarium* y la consecuente producción de proteasas por parte del hongo lleva a la degradación del gluten, deteriorando la funcionalidad de la masa y su calidad panadera. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *Fusarium* spp. sobre la calidad del gluten. Se utilizaron 23 *Fusarium* spp.: *F. pseudograminearum*, *F. cerealis*, *F. subglutinans*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, 11 especies del complejo *F. graminearum* (*F. graminearum sensu stricto*, *F. austroamericanum*, *F. asiaticum*, *F. boothii*, *F. mesoamericanum*, *F. acaciae-mearnsii*, *F. vorosii*, *F. brasilicum*, *F. meridionale*, *F. cortaderiae* y *F. gerlachii*) y 3 aislamientos del complejo *F. cf. incarnatum*. Se usaron 2 cultivares de trigo pertenecientes a grupos contrastantes de calidad: Klein Proteo (GC1) y K. León (GC3), de los cuales se emplearon 5 g de granos molidos, dispuestos en recipientes estériles. Para la inoculación, se colocó un “plug” de cada aislamiento crecido en medio APG al 2% por 7 días con 12 h luz día/noche por triplicado. En cuanto a la humedad, se testearon dos tratamientos: en el primero se adicionaron 4 ml de agua estéril y se incubaron por 30 días en las condiciones previamente mencionadas, mientras que en el segundo se adicionaron 0,5 ml y se incubaron por 7 días. Los testigos con la correspondiente adición de agua se hicieron por triplicado. Para evaluar la fuerza del gluten se utilizó el test de sedimentación en SDS. El análisis estadístico se realizó con INFOSTAT. El primer tratamiento si bien mostró una notable disminución en los valores de sedimentación, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos testigos e inoculados. En el segundo tratamiento, los tratamientos inoculados mostraron diferencias significativas con los testigos. Todas las especies causaron una disminución en el volumen de sedimentación siendo las más notables *F. pseudograminearum* y *F. graminearum sensu stricto* con una disminución en el volumen de sedimentación en comparación a sus controles en K. León del 61% y 50%, respectivamente y en K. Proteo del 57% y 54%, respectivamente. El presente estudio revela que todas las especies afectaron la calidad del gluten, sin embargo, restaría conocer qué fracciones de las proteínas de reserva serían las más afectadas durante la digestión del gluten por parte de las proteasas de los aislamientos evaluados.

DIVERSIDAD DE SISTEMAS DE QUORUM SENSING EN *Agrobacterium tumefaciens* 6N2

Elisa V. Bertini (1)*, Lucía I. Castellanos de Figueroa (1, 2), Kok Gan Chan (3), Yves Dessaux (4), Kar Wai Hong (3), Teik Min Chong (3), Carlos G. Nieto Peñalver (1,2)

(1) PROIMI-CONICET, San Miguel de Tucumán, Argentina. (2) Instituto de Microbiología, UNT, San Miguel de Tucumán, Argentina. (3) University of Malaya, Malasia. (4) Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, Gif-sur-Yvette, Francia.

Los sistemas de *Quorum Sensing* (QS) permiten la regulación de la fisiología microbiana mediante la utilización de moléculas señal. En muchas Proteobacterias estas señales son acil-homoserina-lactonas (AHLs). Este mecanismo ha sido muy caracterizado en la bacteria fitopatógena *Agrobacterium fabrum* (*A. tumefaciens*) C58, donde interviene en la regulación de la transferencia horizontal del plásmido oncogénico Ti. Sin embargo, es poco lo que se conoce sobre estos sistemas en otros microorganismos de este género. El objetivo de este trabajo es la caracterización molecular y funcional del sistema de QS de *A. tumefaciens* 6N2, aislamiento endofítico y no patógeno de la caña de azúcar. Las AHLs se identificaron por cromatografía líquida y espectrometría de masas. La secuencia genómica se obtuvo mediante la tecnología PacBio y la anotación se hizo con las plataformas RAST y MaGe. La actividad del sistema de QS se realizó clonando los promotores de los genes intervinientes en el vector pRU1099 y midiéndose la fluorescencia por citometría de flujo. Los resultados muestran que *A. tumefaciens* 6N2 produce al menos 3 AHLs diferentes: 3OHC8-HSL, 3OHC10-HSL y 3OHC12-HSL. Su genoma está formado por un cromosoma circular y un cromosoma lineal. A diferencia de *A. fabrum* C58, en este último se encuentran codificados dos sistemas de QS con una topología similar en *A. arsenijevicii* KFB330, *A. tumefaciens* 5A, P4, S33 y S2, *Agrobacterium* genomosp. 7 NCPPB1641 y RV3, *A. radiobacter* DSM30147 y *Agrobacterium* sp. SUL3. El análisis genómico muestra un tercer sistema incompleto exclusivo de 6N2 resultante de la duplicación de uno de los otros sistemas. En el cromosoma circular se pudo identificar otro gen que codifica una proteína receptora de AHLs y que no se encuentra asociado a un gen que codifique otra AHL sintasa. La actividad del sistema de QS se modificó en función de las condiciones de cultivo. En particular, la presencia de glucosa o sacarosa disminuyeron su actividad, lo que permite concluir que las condiciones ambientales podrían regular la actividad de su sistema de QS. Considerándose que *A. tumefaciens* 6N2 se encontró en tejidos internos de la planta de caña de azúcar, es posible que el hospedero regule el mecanismo de QS de *A. tumefaciens* 6N2, similar a lo reportado por otros investigadores en *A. fabrum* C58. Los sistemas de QS del género *Agrobacterium* son más complejos que lo reportado hasta el momento, aun en microorganismos no patógenos como *A. tumefaciens* 6N2

LA LUZ AMBIENTAL PRODUCE CAMBIOS EN EL PATRÓN DE EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DE *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Analía Carrau (1)*, Marcia R. Soares (2), Julián Nannini (1), Leandro M. Moreira (3), Elena G. Orellano (1)

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario-CONICET. Fac. de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Univ. Nac. de Rosario, Rosario, Argentina. (2) Dep. de Bioquímica, Inst. de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. (3) Dep. de Ciências Biológicas e Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

Xanthomonas citri subsp. *citri* (Xcc) es la bacteria responsable de la cancrrosis de los cítricos tipo A, enfermedad que provoca daños importantes en los cultivos de cítricos. La luz es una importante señal medioambiental para todos los organismos los cuales la perciben a través de proteínas fotorreceptoras. Entre los fotorreceptores que captan luz azul se encuentran las proteínas con dominio BLUF (*Blue-Light Using FAD*) y las proteínas con dominio LOV (*Light, Oxygen or Voltage*). Estos participan en la regulación de diversos procesos fisiológicos asociados a la virulencia. El genoma de Xcc contiene tres genes que codifican para receptores de luz azul, dos proteínas con dominio BLUF y una con dominio LOV. El proteoma celular constituye la totalidad de proteínas expresadas en una célula particular bajo condiciones específicas. Nos propusimos estudiar el efecto de la luz sobre el proteoma de Xcc. Se crecieron las cepas salvaje, las cepas mutantes en los fotorreceptores $\Delta bluf2$ y Δlov en medio mínimo XVM2 y se incubaron en agitación durante 28 h a 28°C en oscuridad o en luz blanca. Se realizó la extracción de proteínas utilizando fenol y luego se sometieron a tripsinización. Los péptidos obtenidos se separaron por cromatografía y se analizaron en un espectrómetro de masas. Primeramente se compararon las proteínas de todas las cepas crecidas en oscuridad con las proteínas de todas las cepas crecidas en luz blanca y se seleccionaron aquellas que presentaron una razón de cambio mínima de 1,5. Posteriormente se realizaron todas las comparaciones posibles entre cepa salvaje y mutantes en presencia o ausencia de luz. De estos análisis, cuatro proteínas mostraron un aumento de expresión en oscuridad con respecto a la luz blanca, la α -L-Fucosidasa (114x), dos proteínas no caracterizadas XAC2731 (6x) y XAC3776 (3x), y la proteína PilW (2x). La α -L-Fucosidasa participa en la metabolización de derivados de la pared celular vegetal durante la colonización de la planta hospedadora y es considerada un determinante de patogénesis. Para comprender mejor los mecanismos moleculares que subyacen al potencial biológico de las proteínas presentes en Xcc frente a la luz, realizamos un enriquecimiento funcional utilizando el algoritmo STRING, que nos permitió construir redes de interacción proteína-proteína con las proteínas diferencialmente expresadas en las distintas condiciones de iluminación. Estos resultados permiten concluir que la luz modifica el proteoma de Xcc.

Clostridium perfringens* COLONIZA Y EXPRESA SUS TOXINAS EN EL INTESTINO DEL NEMATODO *Caenorhabditis elegans

Sebatían Cogliati (1)*, Marcos Francisco (1), Victoria Boselli (1), Celina Lobais (1), Victoria Clementi (1), Roberto Grau (1)

(1) Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Rosario, Argentina.

Clostridium perfringens es el agente etiológico de muchas enfermedades animales y humanas. Produce las toxinas *C. perfringens* enterotoxina (CPE) asociada a la intoxicación de alimentos contaminados y las toxinas perfringolisina O (PFO) y fosfolipasa C (PLC), que inician el desarrollo de la gangrena gaseosa. Hasta el momento, se utilizan mamíferos como modelos para el estudio de las enfermedades producidas por *C. perfringens*. Por lo tanto, debido a las obvias desventajas y a las implicancias bioéticas, nos planteamos como objetivo analizar la capacidad del nematodo transparente *Caenorhabditis elegans* como modelo animal para el estudio de infecciones clostridiales. Para determinar si *C. perfringens* coloniza el intestino de *C. elegans*, el nematodo se co-cultivó con el patógeno en medio líquido y a diferentes tiempos se realizó el recuento de células vegetativas y de esporas intestinales. Para obtener el número de esporas, el homogenado (interior del gusano) fue calentado a 80°C por 15 m para matar a las células vegetativas. A partir del homogenado, se midió la actividad de las toxinas PFO y PLC, utilizando sangre humana y yema de huevo, respectivamente. Por consiguiente, se alimentaron gusanos con *Clostridium* portadores de fusiones transcripcionales reporteras (*cpe-gusA*, *pfo-gusA* y *plc-gusA*) y se midió la expresión génica (actividad β -glucuronidasa). Finalmente, para determinar el efecto patógeno de *C. perfringens* sobre *C. elegans*, 50 gusanos se depositaron sobre un pasto del patógeno y todos los días se contaron gusanos vivos y muertos y se calculó la vida media del nematodo. Se observó un aumento significativo de las unidades formadoras de colonias de células viables y de esporas de *Clostridium* en función del tiempo, lo que indica la capacidad de *C. perfringens* de colonizar a *C. elegans*. Dentro del gusano se detectó actividad PFO y PLC y aumento de la actividad β -glucuronidasa en función del tiempo. Estos resultados se relacionan con la colonización intestinal del patógeno. La sobrevida de *C. elegans* alimentados con *C. perfringens* fué 5 veces menor a la sobrevida de *C. elegans* alimentados con el control *Escherichia coli* OP50. Más aún, los gusanos infectados con el patógeno observados por microscopia de contraste de fases presentaron diferencias morfológicas significativas comparado con los gusanos alimentados con OP50 (ej. inflamación del intestino). *C. elegans* podría ser un promisorio modelo para el estudio de las infecciones producidas por *C. perfringens*.

CONTROL BIOLÓGICO DEL PATÓGENO DE SUELO *Phytophthora cinnamomi* CON BACTERIAS AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PLANTAS LEGUMINOSAS PARA SU APLICACIÓN EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN SILVOPASTORILES

Belén Colavolpe (1), Vanina Maguire (1)*, Marcia Castro Silva (2), Andrés Gárriz (1), María Marina (1), Helena Machado (2), Adesh Saini (3), Isabel Videira e Castro (2), Oscar Ruiz (1)

(1) Inst. Tecnológico de Chascomús (INTECH) (UNSAM-CONICET), Chascomús, Argentina. (2) Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Oeiras, Portugal. (3) Faculty of Applied Sciences and Biotechnology, Shoolini University of Biotechnology and Management Sciences, Bajhol, Solan, HP, India.

Uno de los patógenos de árboles más destructivos es *Phytophthora cinnamomi*, un Oomycete que posee aproximadamente 25% de celulosa en sus paredes celulares. Es transmitido por el suelo y causa la pudrición de la raíz. Los pastos naturales, bajo la capa del dosel de los árboles en los sistemas de producción silvopastoriles, son típicamente improductivos y generalmente están en peligro por la invasión de arbustos, lo que origina que a menudo la persistencia de la especie sembrada no exceda los dos años. En este contexto, la mejora de los pastos es necesaria dentro de las prácticas agronómicas. La inoculación con *Rhizobium* spp. representa una fuente ambiental de nitrógeno con gran importancia en suelos pobres. Esta práctica puede ser útil en plantas leguminosas junto con la incorporación de una gran diversidad de cepas bacterianas antagonistas de *P. cinnamomi*. Es por esto que el objetivo del trabajo fue identificar bacterias antagonistas de dicho patógeno previamente aisladas de la rizósfera de plantas leguminosas. Los aislamientos bacterianos fueron realizados a partir de plantas de *Lotus corniculatus* provenientes de campos de Entre Ríos (Argentina). Se evaluó la solubilización de fósforo inorgánico, actividad celulasa, se realizaron pruebas de antagonismo con *P. cinnamomi*. Asimismo, se hicieron ensayos in vitro con plántulas de *Trébol subterraneum* y *Lotus tenuis* inoculadas con las bacterias que resultaron antagonistas (OD: 0.01 y 10 µl en cada plántula) y que también fueron inoculadas con una pequeña porción de micelio de *P. cinnamomi*. Como resultado de esta evaluación se obtuvo que la cepa B2Ri29 y B-AU4i fueron antagonistas de *P. cinnamomi*. Además se observó que la cepa bacteriana B8Ri302 y B-AU4i presentaron marcada actividad celulasa, mientras que todas las cepas bacterianas evaluadas resultaron ser solubilizadoras de fósforo inorgánico, siendo B-AU4i y B8Ri302 las que tuvieron mayor solubilización (37.5 y 25.7 µg P/µg de proteína). Los ensayos in vitro mostraron que las plántulas inoculadas con las bacterias antagonistas se infectaron menos que las plántulas que sólo tenían *P. cinnamomi*. Este trabajo exploratorio puede contribuir a la generación de bioinoculantes con el agregado de bacterias antagonistas a *P. cinnamomi* que además tengan capacidad de mejorar los suelos en sistemas de producción silvopastoriles.

**MICORRIZAS ARBUSCULARES Y HONGOS SEPTADOS OSCUROS NATIVOS EN YACÓN
(*Smallanthus sonchifolius*) EN CATAMARCA, ARGENTINA**

Gabriela Di Barbaro (1)*, Horacio Andrada (1), Valeria González Basso (1), Ana Lilia Alurralde (1), Eleodoro Del Valle (2), Celia Brandán de Weht (3)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. San Fernando del Valle de Catamarca. Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Litoral. Esperanza - Santa Fe. Argentina. (3) Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán. Argentina.

El cultivo de yacón (*Smallanthus sonchifolius* [(POEPPIG & ENDLICHER) H. ROBINSON]) es de gran interés público y de la comunidad científica en particular debido a sus efectos benéficos y promisorios para la salud y nutrición humana. Esta planta produce un tipo particular de azúcar, los fructooligosacáridos (FOS) de baja digestibilidad que aporta pocas calorías al organismo y por lo cual pueden ser consumidos por personas diabéticas porque no elevan el nivel de glucosa en sangre. Los microorganismos del suelo destinados al uso en agricultura están ganando cada vez mayor importancia por los resultados positivos de su aplicación en el desarrollo y sanidad de los cultivos, se considera de gran importancia el conocimiento de la contribución de los microorganismos del suelo en la promoción del crecimiento de las plantas en general y en particular el estudio de hongos del suelo capaces de constituir una simbiosis con las raíces de una planta; esta asociación en la que ambos participantes obtienen beneficios, se denominan micorrizas. Los hongos reciben compuestos carbonados de la planta; como contraparte los hongos promueven el crecimiento de las plantas al suministrar nutrientes del suelo, especialmente los pocos móviles como fósforo, y agua. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue determinar si el cultivo de yacón puede establecer asociaciones micorrícicas naturalmente. Para caracterizar y valorar la infección fúngica radical, se estudió la colonización por simbiosis fúngicos nativos en raíces de yacón cultivado en el Valle Central de la provincia de Catamarca, región semiárida del Noroeste Argentino. Se realizaron observaciones microscópicas de estructuras fúngicas teñidas dentro de la raíz. La cuantificación de la infección se efectuó mediante metodologías de clarificación y conteo sobre cuadrícula bajo lupa. Se observaron estructuras típicas de endomicorrizas, tales como: presencia de hifas continuas finas y gruesas, algunas de ellas con lípidos en rosario en su interior; arbusculos y vesículas del tipo vesículo arbuscular (MVA). La observación en microscopio óptico también mostró la presencia de hongos endofíticos septados oscuros (ESO) con hifas tabicadas, melanizadas y con numerosos microesclerocios. Se determinó un alto nivel de colonización fúngica (88,57%) con ocurrencia simultánea de MVA y hongos ESO. En este estudio se describe por primera vez la asociación micorrícica en yacón (*S. sonchifolius*) cultivado en el Valle Central de la provincia de Catamarca.

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA ENTOMOPATÓGENA DE
Photorhabdus luminescens OBTENIDA A PARTIR DE UNA POBLACIÓN NATIVA DE
Heterorhabditis bacteriophora (Nematoda)**

Daiana Eliceche (1), Leopoldo Palma (2), Walter Ferrari (1), Nanci López (3), Fernanda Achinelly (1)*, Mariano Belaich (4), Daniel Ghiringhelli (4), Graciela Benintende (3), Diego Sauka (3)

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, CEPAVE, La Plata. Argentina. (2) Univ. Nac. de Villa María, Inst. A.P. de Ciencias Básicas y Aplicadas, Villa María, Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Hurlingham, Argentina. (4) Lab. de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular, UNQ, Bernal, Argentina.

El género *Photorhabdus* (Enterobacteriaceae) incluye bacterias gram-negativas móviles que mantienen una asociación simbiótica con nematodos parásitos de insectos de la familia Heterorhabditidae. Una vez que el juvenil infectivo del nematodo (JI) invade un insecto, las bacterias son liberadas produciendo toxinas y metabolitos secundarios que pueden matar al hospedador por septicemia dentro de las 48 h. El objetivo de este trabajo fue caracterizar un aislamiento de *Photorhabdus* spp. asociado a una población nativa de entomonematodos. La bacteria se aisló a partir del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* cepa SP, obtenido de muestras de suelo colectadas en un establecimiento hortícola de La Plata (Buenos Aires). Larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* se utilizaron como hospedador cebo para la obtención de los nematodos a partir de las muestras de suelo. Los cadáveres de los insectos infectados (48 h post mortem) se esterilizaron por inmersión en etanol 70% y se punzaron con microjeringa por los intersegmentos para obtener la bacteria. Una gota de hemolinfa se sembró en medio NBTA y se mantuvieron a 29°C durante 48 h. La caracterización de la cepa se realizó por secuenciación de su ADN genómico total (Illumina), análisis de espectrofotometría de masas (MALDI-TOF), y pruebas bioquímicas API 20E, API20 NE y API 50CH. La patogenia fue evaluada en larvas de *T. molitor* por microinyección de bacterias en la hemolinfa. Para el ensamblado de las lecturas crudas de la secuenciación genómica se utilizó el software Geneus R10. Se generaron 334 contigs con un tamaño total de 5.294.507 bp y un porcentaje de G+C de 42,5%. La anotación genómica se llevó a cabo utilizando el servidor RAST obteniéndose 5.165 secuencias codificantes (CDs), de los cuales 25 mostraron homología con genes de toxinas insecticidas ya descritos y que serían los responsables de la actividad insecticida de esta cepa contra *T. molitor*. Los resultados por MALDI-TOF (2.13) y el análisis de secuencia de los genes de 16s rRNA, *gyrB*, y *glnA* indicaron un 99,7 % de similitud con la cepa de referencia TTO1 *P. luminescens* subsp. *laumondii*. Sin embargo, presentó diferentes caracteres fenotípicos que nos hace pensar que esta cepa nativa de *P. luminescens* podría constituir una nueva subespecie. Estudios fenotípicos y genotípicos complementarios podrán o no confirmar esta hipótesis.

INTERACCIÓN ENTRE BACTERIAS DE SUELO Y NEMATODOS DE VIDA LIBRE

Walter Ferrari (1), Daiana Eliceche (1)*, Matías Rusconi (1), Matías Rosales (1), Florencia Alvarez (2), Fernanda Achinelly (1)

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, CEPAVE (CCT-La Plata CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. (2) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, IBBM-CONICET - UNLP, La Plata, Argentina.

Muchos nematodos se alimentan de bacterias, mientras que otros establecen interacciones tales como simbiosis, foresis, parasitismo entre otras. En este sentido, la enterobacteria *Photorhabdus* spp. presenta una relación simbiótica con entomonematodos de la familia Heterorhabditidae siendo responsable de la patogenicidad en insectos. Sin embargo, la frecuencia de aparición de nematodos bacteriófagos de vida libre en cadáveres de insectos infectados con *Photorhabdus* spp. en muestras de suelo, nos hace suponer la existencia de una asociación entre este grupo de bacterias entomopatógenas y nematodos de vida libre. El objetivo de este trabajo fue determinar la existencia de dicha asociación. Los nematodos se obtuvieron de cadáveres de *T. molitor* infectados con *Photorhabdus* spp., colectados en muestras de suelo provenientes de un cultivo de tomate en la Plata, Buenos Aires. Cuatro ejemplares se maceraron utilizando un mortero. El producto obtenido se suspendió en 100 µl de solución fisiológica estéril. Se realizó un sembrado en superficie en placas de Petri con medio NBTA y se registró el crecimiento de colonias a las 48 h identificándose por espectrometría de masa (MALDI-TOF). Los nematodos se determinaron morfológicamente y molecularmente por análisis de secuencia del gen ribosomal 18S (secuencia parcial), los espaciadores transcritos internos (ITS 1, ITS 2) y los fragmentos 5.8S y 28S mostrando 99% de similitud con *Micoletzkyia vidalae* (Diplogasteridae), un nematodo bacteriófago y parásito facultativo de insectos. Sin bien *Photorhabdus* spp. no se registró en *M. vidalae*, el análisis de las colonias bacterianas reveló la presencia de dos bacterias de suelo, *Methylobacterium organophilum* (score: 1,849) y *Brevundimonas aurantiaca* (score: 1,551). Ambos géneros pueden incluir especies promotoras del crecimiento vegetal por lo cual sus propiedades deberían ser determinadas. La influencia positiva de los nematodos bacteriófagos en procesos mediados por bacterias como la mineralización de la materia orgánica y ciclo de nutrientes es ampliamente aceptada. Hasta el momento no se determinó si las bacterias son alojadas a nivel del intestino o transportadas a nivel cuticular pero podrían ser diseminadas por estos y otros nematodos de vida libre. Debido a la capacidad de *M. vidalae* de provocar mortalidad en insectos durante su etapa parásita, no descartamos exista una asociación con *Photorhabdus* spp. u otra bacteria entomopatógena responsable de la patogenicidad.

DESARROLLO DE PORTAINJERTOS DE CÍTRICOS TRANSGÉNICOS QUE EXPRESAN PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

Victoria Gardella (1)*, Carina Andrea Reyes (1)[#], Nicolas Furman (2), Gabriela Conti (3), Alberto Martín Gochez (4), Claudio Gomez (5), Ken Kobayashi (2), Esteban Hopp (3), Blanca Isabel Canteros (4), María Laura García (1)

(1) Inst. de Biotecnología y Biología Molecular, CCT-La Plata, CONICET-UNLP, La Plata, Argentina. [#] ambos autores contribuyeron de igual forma al trabajo. (2) Lab. de Agrobiotecnología, Inst. de Biodiversidad y Biología Experimental Aplicada (IBBEA-CONICET-UBA), Dep. de Fisiología, Biología Molecular y Celular, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (3) Inst. de Biotecnología, CICVyA-INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (4) Citrus Pathology, EEA INTA Bella Vista, Argentina. (5) Estación Experimental Agropecuaria, INTA, Concordia, Argentina.

El cultivo de cítricos en Argentina se extiende en dos regiones: el Noroeste (NOA), donde se producen naranjas, pomelos y limones y el Noreste (NEA), donde predominan los cultivos de naranjas y mandarinas. En el mundo, la Argentina es el octavo productor de cítricos y primer productor mundial de limones. Las enfermedades bacterianas más importantes en cultivos cítricos son las causadas por *Xanthomonas axonopodis* pv. citri, *Xylella fastidiosa* y *Candidatus Liberibacter asiaticus*, produciendo la cancrrosis de los cítricos, la clorosis variegada de los cítricos y el Huanglongbing (HLB), respectivamente. Estas enfermedades causan una grave disminución en la producción, llevando eventualmente a la muerte de los árboles infectados, con un sustancial impacto económico. Se proponen diferentes estrategias para la generación de resistencia a estas enfermedades y la expresión mediante transgénesis de péptidos antimicrobianos se plantea como muy promisorio. El objetivo del presente trabajo es la obtención de portainjertos transgénicos que expresen el péptido antimicrobiano Lisozima (LYZ). Para el desarrollo del trabajo se utilizó la siguiente metodología: Se verificó la construcción genética (vector binario) que lleva el *cassette* de expresión del gen *LYZ* mediante secuenciación y se transformó la cepa EHA105 de *Agrobacterium tumefaciens*. Se optimizó la metodología de transformación genética del portainjerto *Citrange troyer* incluyendo condiciones de crecimiento *in vitro*, composición de medios, selección de explantos de partida, etc. Se transformaron segmentos internodales seccionados de plántulas crecidas *in vitro* y se regeneraron también *in vitro* brotes transformados los cuales fueron evaluados por visualización de la proteína GFP, presente en la construcción. Se injertaron *in vitro* los brotes positivos en pies etiolados para su crecimiento y posterior multiplicación. Así se obtuvieron un grupo de 30 plántulas que se están analizando por PCR. Las líneas transgénicas generadas serán posteriormente multiplicadas y desafiadas con las bacterias patógenas en cuestión. Si los portainjertos resultan resistentes se podrán utilizar como pie para variedades cítricas de interés a las que podrían potencialmente transmitir la resistencia o tolerancia.

PROBIÓTICOS CONTRA ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS: *Bacillus subtilis* PREVIENE EL AGREGADO DE A-SINUCLÉINA Y EXTIENDE LA VIDA MEDIA SALUDABLE EN MODELO DE PARKINSON *Caenorhabditis elegans*

Francisco Marcos (1)*, Crespo Cira (1), Villalba Juan Manuel (1), Cogliati Sebastian (1), Roberto Grau (1)

(1) Lab. de Microbiología. FBIOYF-UNR-CONICET. Rosario, Santa Fe, Argentina.

La enfermedad de Parkinson es un trastorno neurodegenerativo que afecta a más de 7 millones de personas en todo el mundo. Existe una asociación clara entre los cambios en la microbiota y el inicio y la progresión del Parkinson. Se sabe que las bacterias probióticas producen efectos beneficiosos sobre la salud del huésped y nos preguntamos si este también podría ser el caso para prevenir o tratar la enfermedad de Parkinson. Utilizamos *Bacillus subtilis*, una bacteria probiótica consumida desde hace siglos por el pueblo japonés. Las cepas de *B. subtilis* utilizadas fueron el aislamiento salvaje NCIB3610, y sus derivados isogénicos afectados en el quorum sensing y producción de biofilm, mutantes $\Delta phrC$ y $\Delta bslA$, respectivamente. Se utilizó *Echerichia coli* OP50 como alimento y control de la colonización intestinal por una bacteria no probiótica. Como modelo animal utilizamos el nematodo *Caenorhabditis elegans*, ya que comparte vías y mecanismos celulares que regulan el envejecimiento en mamíferos, incluido los humanos. Las cepas silvestres de N2 (Bristol), la cepa reportera de Parkinson NL5901 (que expresan YFP fusionadas a α -sinucleína humana) y la cepa VC1024 (afectadas en la síntesis de Pdr1, un homólogo de PARK2 humano) se obtuvieron de CGC. Se evaluó el cambio en la vida media de gusanos VC1024 y NL5901 alimentados con NCIB3610 y OP50 respectivamente observando la viabilidad de los mismos cada 2 días. Mediante microscopia de fluorescencia se observó la formación de agregados de α -sinucleína en gusanos NL5901 alimentados con el probiótico y la bacteria control a las 24, 120 y 168 horas de su llegada al estadio adulto. Se determinaron los parámetros de comportamiento locomoción, quimiotaxis, censado de alimento, fecundidad y defecación que son extrapolables a seres humanos con enfermedad de Parkinson. Luego de 7 días la producción de agregados de α -sinucleína en gusanos NL5901 disminuyó en más de un 75% en comparación con los gusanos control como aquellos alimentados con bacterias $\Delta bslA$ o $\Delta phrC$. El análisis de vida media de los gusanos VC1024 y NL5901 mostró un aumento de 26% y un 22% respectivamente en la supervivencia del gusano cuando se alimentaron con NCIB3610 en comparación con los gusanos alimentados con OP50. La caracterización del comportamiento de los gusanos (la locomoción, quimiotaxis, el censado de alimento, la fecundidad y la defecación) confirmaron la idoneidad del probiótico para mejorar el pronóstico de la enfermedad.

LA PROTEÍNA SMc04042, REQUERIDA PARA LA COLONIZACIÓN EFICIENTE DE LA RIZOSFERA DE ALFALFA POR *Ensifer meliloti*, PODRÍA CODIFICAR PARA LA ENZIMA HISTIDINOL-FOSFATO FOSFATASA

Ezequiel G. Mogro (1)*, Eugenia Salas (1), Antonio Lagares (1), Mauricio J. Lozano (1)

(1) Inst. de Biotecnología y Biología Molecular, CCT-La Plata – UNLP – Fac. Cs. Exactas., La Plata, Argentina.

Ensifer meliloti es una alfa-proteobacteria del suelo capaz de establecer una simbiosis fijadora de nitrógeno con plantas leguminosas del género *Medicago*. Sin embargo, existe en el suelo una diversidad de rizobios que compiten eficazmente por la colonización rizosférica, sin ser simbiotes eficientes. Este hecho limita, muchas veces, la eficiencia de los productos bioinoculantes. En nuestro laboratorio hemos identificado cientos de genes cuya mutación provoca un déficit en la colonización rizosférica. Entre ellos, el gen *SMc04042*, codificante de una probable Inositol-1-monofosfatasa (involucrada en la utilización de inositol-fosfato como fuente de carbono) o de una histidinol-fosfato fosfatasa (requerida para la biosíntesis de histidina). El objetivo fue determinar la función de la proteína SMc04042. Los análisis bioinformáticos se realizaron utilizando los siguientes programas: blastp, FFAS03, y HHpred para la búsqueda de homólogos; Jackhammer, para la búsqueda de HMMs de Histidinol fosfato fosfatasa en el genoma de *S. meliloti*; T-Coffee, Clustalw o Muscle para los alineamientos secuenciales; Phylml o IQ-TREE para la realización de los árboles filogenéticos; los modelos estructurales fueron obtenidos con Modeller; y la visualización de los alineamientos, árboles filogenéticos y modelos se realizó con Jalview, FigTree y UCSF Chimera respectivamente. El gen *SMc04042* demostró estar involucrado en la competitividad por la colonización rizosférica en nuestros ensayos STM (M<-4), y en ensayos de coinoculación en proporciones 1::1 (Salvaje::mutante). Este déficit parece deberse a una menor capacidad de crecimiento de la cepa mutante en el entorno rizosférico, posiblemente debida a una auxotrofia (el crecimiento en medios definidos - EVANS - se vio gravemente afectado). El rol de SMc04042 como una posible Inositol-1-monofosfatasa o como una posible histidinol-fosfato fosfatasa podrían en parte explicar este déficit en la colonización. Sin embargo, tanto nuestros estudios bioinformáticos, como la recuperación de la capacidad crecimiento en medio EVANS suplementado con histidina, indican que SMc04042 es probablemente una histidinol-fosfato fosfatasa.

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS INSECTICIDAS BINARIAS Vip1/Vip2 DE LA CEPA NATIVA *Bacillus thuringiensis* INTA Fr7-4

Analía Pedarros (1), Laura Navas (2,1), Carlos Leiva (2, 3), Pablo Chacana (3), Victoria Alfonso (2,4), Oscar Taboga, (2,4), Diego Sauka (2,1), Marcelo Berretta (2,1)*, Graciela Benintende (1)

- (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola. Bs.As., Argentina. (2) CONICET. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Patobiología. (4) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Biotecnología.

Algunas cepas de *Bacillus thuringiensis* producen proteínas insecticidas solubles, secretadas durante la fase vegetativa, conocidas como proteínas Vip (*vegetative insecticidal proteins*). Las proteínas Vip1 y Vip2 son componentes de una toxina binaria con toxicidad específica contra coleópteros. En un trabajo previo, obtuvimos la secuencia del genoma de la cepa *B. thuringiensis* INTA Fr7-4 y reportamos la presencia de un megaplásmido (pFR260) conteniendo genes codificantes de proteínas coleopterocidas, asociados en una isla de patogenicidad, en particular dos pares de genes *vip1/vip2*. En este trabajo, analizamos el patrón de expresión de estos genes y la funcionalidad del componente Vip2. En el plásmido pFR260 cada par de genes *vip1/vip2* se dispone en tándem formando un operón. La secuencia que codifica la porción secretada de cada Vip de uno de los operones (operón 04), se clonó en un vector para su expresión en *Escherichia coli*, obteniéndose productos de los pesos moleculares esperados. Vip2(04) se obtuvo como proteína soluble mientras que Vip1(04) se obtuvo como cuerpos de inclusión. Se produjeron anticuerpos contra ambos tipos de proteínas, los cuales se utilizaron en ensayos de inmunoblot para estudiar la cinética de expresión de las mismas en cultivos de la cepa INTA Fr7-4. Se observó un nivel de acumulación de ambos tipos de proteínas en el sobrenadante del cultivo en fase estacionaria temprana, siendo menor en medio específico para esporulación. Asimismo, se evaluó la toxicidad de cultivos de INTA Fr7-4 en fase estacionaria temprana para larvas neonatas del picudo del algodón, *Anthonomus grandis* (Coleoptera). Los sobrenadantes de cultivo evidenciaron niveles moderados de toxicidad (27%), mientras que los mismos se duplicaron (62%) utilizando el cultivo completo en los bioensayos. La toxicidad de Vip1/2 en los insectos susceptibles depende de la unión específica de Vip1 a la célula intestinal y su mediación en la translocación de Vip2 al interior de la célula, donde esta última inhibe la polimerización de la actina. Para analizar la actividad de Vip2(04), transfectamos un plásmido que expresa la proteína en células de insecto Sf9, a su vez infectadas con un baculovirus AcMNPV marcado con GFP. Dado que la replicación viral requiere la integridad del citoesqueleto de actina, la falta de propagación del virus en las células transfectadas evidenció, en forma indirecta, la actividad inhibitoria de Vip2(04) en la polimerización de la actina.

PLASMAS NO TÉRMICOS: INNOVANDO EN EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD DE SEMILLAS

María Cecilia Pérez Pizá (1)*, Leandro Prevosto (2, 3), Carla Zilli (1), Ezequiel Cejas (3), Héctor Kelly (3), Karina Balestrasse (1)

(1) UBA, CONICET, Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA), FAUBA, Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET, Grupo de Descargas Eléctricas, Venado Tuerto, Santa Fe, Argentina. (3) UTN, Facultad Regional Venado Tuerto, Santa Fe, Argentina.

La producción de soja (*Glycine max*) y de sus derivados es actualmente una de las actividades más dinámicas de la economía Argentina. Dado que el buen estado de la semilla garantiza la implantación y posterior crecimiento y desarrollo del cultivo, la disponibilidad de semillas de buena calidad es uno de los factores más importantes para la actividad. El complejo fúngico Diaporthe/Phomopsis (D/P) se compone de un grupo de hongos endémicos en las principales zonas productoras de soja y de gran importancia económica. El curado de las semillas antes de la siembra, permite eliminar patógenos asociados a las mismas y prevenir enfermedades en el campo. Los agroquímicos utilizados en el control de enfermedades poseen una marcada incidencia ambiental y pueden conducir a la aparición de resistencias. Las descargas eléctricas a presión atmosférica y baja corriente sobre gases o mezclas de gases producen plasmas no-térmicos o fríos (PNT) cuyos agentes activos reaccionan con las biomoléculas (toxinas y microorganismos patógenos) destruyéndolas o convirtiéndolas en agentes inofensivos, sin dejar residuos. El objetivo de este trabajo fue investigar la utilización de PNT para controlar el complejo D/P y mejorar la calidad de semillas de soja. Se emplearon semillas con alta incidencia de D/P, las cuales fueron tratadas con PNT provenientes de un prototipo desarrollado en forma conjunta con la Universidad Tecnológica Nacional, Regional Venado Tuerto (Santa Fe) y la Facultad de Agronomía (Universidad de Buenos Aires). Se realizaron distintos tratamientos combinando diferentes gases (N_2 y O_2) y tiempos de exposición (1, 2 y 3 min). Los resultados fueron positivos respecto al poder germinativo, el vigor y la reducción de la incidencia de los patógenos del complejo. A partir de análisis realizados sobre semillas embebidas durante 12 h, se observó una modificación de las defensas antioxidantes con una mejora en el perfil hormonal (ácido absícico y ácido indol acético) revirtiendo el daño oxidativo causado por la presencia del patógeno. Estos ensayos se acompañaron con el análisis de peroxidación y composición lipídica. Los resultados obtenidos conforman un panorama alentador en cuanto a la implementación de PNT como curasemilla y como mejorador de la calidad de semillas antes de la siembra. Dicha práctica agronómica espera reflejar beneficios productivos en el cultivo de soja y contribuir a la disminución de la contaminación ambiental por el uso de agroquímicos.

EFFECTOS DEL INHIBIDOR DE PROTEASA TIPO GERMINA (IPG) SOBRE LA FORMACIÓN DE *BIOFILM* BACTERIANOS EN PLÁNTULAS DE TOMATE

Simón Rodríguez (1), Carlos Norberto (1)*, Débora Necessian (1), Julieta Renée Mendieta (1)

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas (IIB), Universidad Nacional de Mar Del Plata-CONICET, Mar del Plata, Argentina.

Los *biofilms* son comunidades de células multi-específicas organizadas en cúmulos y adheridas mediante polímeros extracelulares. En éstas, los microorganismos pueden especializarse y adoptar características bioquímicas ausentes en su forma planctónica, lo que explica fenómenos como la patogenicidad e interacciones benéficas entre microorganismos y plantas. En nuestro laboratorio estudiamos una proteína de trigo llamada IPG (Inhibidor de Proteasa tipo Germina), la cual posee múltiples actividades enzimáticas y un posible rol en la defensa ante microorganismos patógenos. Dada la importancia de la formación de *biofilm* para la interacción entre plantas y microorganismos, decidimos estudiar el efecto de IPG sobre la formación de *biofilms* de dos especies de bacterias: la bacteria fitopatógena *Pseudomonas syringae* y la bacteria simbiótica *Sinorhizobium meliloti* en raíces de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Plántulas de 10 días se trataron con cultivos de *P. syringae* o de *S. meliloti* en presencia o ausencia de dos concentraciones de IPG (10 µg/ml y 100 µg/ml). La interacción bacteria-plántula se estimó mediante la cuantificación de UFC obtenidas tras lavar las raíces con agua destilada en agitación y realizar diluciones seriadas. Los datos obtenidos indican que IPG favorece el crecimiento de *S. meliloti* pero no de *P. syringae*. Para conocer los efectos de IPG y las bacterias en las plántulas, se evaluaron parámetros de crecimiento (longitud de la raíz principal y peso fresco de cotiledones y raíces). Estos no se vieron afectados negativamente frente a IPG. Los pesos frescos de cotiledones y raíces disminuyeron (27% y 24% respectivamente) con el tratamiento de *S. meliloti* respecto al control. El tratamiento de *S. meliloti* con el agregado de ambas concentraciones de IPG restauró los valores respecto al control. La longitud de la raíz principal no varió en las plántulas tratadas con *S. meliloti* y el tratamiento con esta bacteria e IPG causó un aumento de 2,2 veces respecto al control. La presencia de *P. syringae*, limitó el crecimiento longitudinal y el agregado de IPG lo recuperó de manera dosis dependiente. Los resultados obtenidos indican que IPG promueve la formación de *biofilms* de la bacteria benéfica *S. meliloti*, sin afectar el crecimiento de plántulas de tomate, lo cual la convierte en un buen candidato para profundizar su estudio en el mecanismo de acción como alternativa natural en las formulaciones de fertilizantes biológicos con aplicación en agricultura.

ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL DEL GEN Smc03140 DE *S. meliloti*, UN REGULADOR TRANSCRIPCIONAL NEGATIVO DEL TIPO GntR CUYA MUTACIÓN GENERA EFECTOS NEGATIVOS PARA LA COLONIZACIÓN DE ALFALFA, PERO NO DE ARVEJA

Eugenia Salas (1), Mauricio J. Lozano (1)*, Ezequiel G. Mogro (1), Anke Becker (2),
Antonio Lagares (1)

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CCT-La Plata, UNLP, Fac. Cs. Exactas, La Plata, Argentina. (2) Faculty of Biology and LOEWE Center for Synthetic Microbiology, Philipps-Universität Marburg, Germany.

Sinorhizobium meliloti es una α -proteobacteria capaz de establecer asociaciones simbióticas con plantas de los géneros *Medicago*, *Melilotus* y *Trigonella*. Esta asociación es el resultado de un complejo diálogo molecular entre los simbiositos, que se diferencian a lo largo de la interacción para dar lugar a un nódulo fijador de nitrógeno. El nicho simbiótico accesible a los rizobios está naturalmente limitado, y resulta ocupado por aquellas cepas que muestran ser más competitivas. La competitividad es un fenómeno complejo, en el que son particularmente relevantes los procesos que tienen lugar en la vida rizosférica temprana. En nuestro laboratorio hemos trabajado anteriormente en la búsqueda de determinantes genéticos de *S. meliloti* involucrados en etapas tempranas de colonización radicular a través del screening a gran escala de mutantes etiquetados (STM). Producto de este análisis y la posterior validación, hemos identificado que la mutación en el gen SMC03140, codificante de un factor de transcripción de la familia GntR, genera efectos negativos en la colonización de la rizosfera de plantas de la familia Trifoliae. Con el objetivo de identificar los genes regulados por esta proteína hemos realizado ensayos de transcriptómica diferencial de un mutante por inserción de mTn5 en el gen Smc03140 y la bacteria salvaje (sin mTn5) crecidos en medio mínimo Vincent con Manitol como fuente de carbono, utilizando microarreglos Sm6kOligo que permitieron analizar todas las regiones codificantes de *S. meliloti* (6208 genes). El análisis de los arreglos fue realizado utilizando la plataforma ArrayLims y Emma. Los resultados obtenidos indican que el producto del gen Smc03140 es capaz de auto-regular su propia transcripción (m-value -3,96, p -value 9,16E-08) y a su vez es capaz de regular el operón vecino (Smc03139, Smc03138) (m-value -6,02, -3,57; p -value 8,77E-08, 1,00E-07, respectivamente), posiblemente involucrado en la fosforilación de azúcares.

ESTUDIOS BIOINFORMÁTICOS SOBRE SMc03140, UN FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN INVOLUCRADO EN LA COMPETITIVIDAD POR LA COLONIZACIÓN ESPECÍFICA DE LA RIZOSFERA DE PLANTAS DE LA TRIBU *TRIFOLIAE*

Eugenia Salas (1), Ezequiel G. Mogro (1), Antonio Lagares (1), Mauricio J. Lozano (1)*

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CCT-La Plata – UNLP – Fac. Cs. Exactas, La Plata, Argentina.

Ensifer meliloti es una alfa-proteobacteria del suelo capaz de establecer una simbiosis fijadora de nitrógeno con plantas leguminosas del género *Medicago*. Sin embargo, existe en el suelo una diversidad de rizobios que compiten eficazmente por la colonización rizosférica, sin ser simbiosiontes eficientes. Este hecho limita, muchas veces, la eficiencia de los productos bioinoculantes. En nuestro laboratorio, hemos identificado cientos de genes cuya mutación provoca un déficit en la colonización rizosférica. Entre ellos, el gen *SMc03140*, codificante de un factor de transcripción de la familia GntR, involucrado específicamente en la competitividad por la colonización de la rizosfera de plantas de la familia *trifoliae*. En este trabajo se realizaron diversos estudios bioinformáticos orientados a esclarecer la función de la proteína SMc03140. Los análisis bioinformáticos se realizaron utilizando los siguientes programas: blastp, FFAS03, y HHpred para la búsqueda de homólogos; T-Coffee, Clustalw o Muscle para los alineamientos secuenciales; PhymI o IQ-TREE para la realización de los árboles filogenéticos; los modelos estructurales fueron obtenidos con Modeller; DMINDA2, Melina2 para la búsqueda de motivos secuenciales y predicción de posibles sitios de unión; y la visualización de los alineamientos, árboles filogenéticos y modelos se realizó con Jalview, FigTree y UCSF Chimera respectivamente. SMc03140 es una proteína de la familia GntR (subfamilia HutC) de reguladores transcripcionales. Presenta un dominio wHTH de unión a ADN y un dominio UTRA de unión de pequeñas moléculas. El análisis filogenético de estos dominios por separado reveló que el dominio wHTH presenta una mayor similitud con las proteínas LldR y PdhR de la subfamilia FadR con un dominio consenso de unión TKGTT-NNN-ACMA, el cual pudo ser encontrado en secuencias río arriba de los genes SMc03140 y SMc03139. El análisis filogenético del dominio UTRA, junto al análisis bioinformático de las proteínas adyacentes SMc03139 y SMc03138, sugieren que SMc03140 podría estar involucrada en la regulación del metabolismo de amino azúcares, siendo el efector algún intermediario fosforilado.

ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DEL GEN *katE* EN *Ralstonia solanacearum*: PARTICIPACIÓN EN LA RESPUESTA A ESTRÉS OXIDATIVO Y EN LA INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO

M. Laura Tondo (1), Agustina Vandecaveye (1)*, Marc Valls (2), Elena G. Orellano (1)

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas-UNR, Rosario, Argentina. (2) Centre de Recerca en Agrigenòmica (CRAG-SCIC), Bellaterra, España.

Ralstonia solanacearum es una β -proteobacteria gram-negativa del suelo que produce la enfermedad conocida como "marchitez bacteriana" en más de 200 especies de plantas, incluyendo numerosos cultivos de interés agronómico. La producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) constituye una de las primeras respuestas de defensa de las plantas a la infección por microorganismos, por lo que las bacterias fitopatógenas deben superar condiciones de estrés oxidativo para lograr establecerse de manera exitosa en su hospedador. Análisis de la secuencia genómica de *R. solanacearum* GMI1000 reveló la presencia de múltiples genes que codifican para enzimas de detoxificación de EROs, entre los que se encuentra el gen *RSp1581*, el cual codifica para la catalasa monofuncional KatE. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la respuesta de *R. solanacearum* al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y caracterizar el rol fisiológico de KatE, evaluando su participación en el proceso de infección de cultivos susceptibles. Empleando una estrategia de mutagénesis por delección se generó una cepa de *R. solanacearum* *katE*⁻, la cual fue caracterizada fisiológicamente. La cepa mutante exhibió una cinética de crecimiento similar a la cepa salvaje en medio líquido BG, y morfología de colonia normal en placas de agar suplementadas con cloruro de trifeniltetrazolio. Por otra parte, la cepa mutante *katE*⁻ exhibió mayor sensibilidad al H_2O_2 que la cepa parental salvaje y presentó una respuesta adaptativa notablemente atenuada ante este oxidante. Además, utilizando cepas marcadas con la proteína fluorescente verde, se observó que la mutante *katE*⁻ posee una reducida capacidad de formación de biofilms. El análisis de extractos proteicos solubles de las cepas salvaje y mutante en geles de poliacrilamida nativos revelados para actividad catalasa permitió identificar la banda correspondiente a la enzima KatE, demostrando además que su actividad se incrementa en cultivos crecidos en medio mimetizador del ambiente vegetal. En adición, se determinó que la expresión del gen *katE* disminuye en una cepa mutante para HrpG, el regulador central de *R. solanacearum* en respuesta al contacto directo con las células vegetales. En conjunto, estos resultados sugieren que KatE cumpliría un rol durante la colonización de la planta hospedadora, probablemente ayudando a la bacteria a superar el estrés oxidativo durante las etapas iniciales de la infección.

CARACTERIZACIÓN PATOGENICA DE 21 AISLAMIENTOS DE *Macrophomina phaseolina* EN PLANTAS DE FRUTILLAS cv. 'Pájaro'

Josefina Viejobueno (1), Constanza M. Aguirre (1)*, Olga M. Baino (2), Ana C. Ramallo (2), Daniel S. Kirschbaum (1), Gustavo M. Martínez Zamora (3), Sergio M. Salazar (1,2)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Famaillá, Tucumán, Argentina. (2) Facultad de Agronomía y Zootecnia (UNT), Tucumán, Argentina. (3) Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO; CONICET-UNT), Tucumán, Argentina.

Macrophomina phaseolina, agente causal de la podredumbre carbonosa de corona y raíz en frutilla, fue detectado en Tucumán en 2007 afectando numerosos cultivares. El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenicidad de 21 aislamientos previamente caracterizados, utilizando como hospedante plantas de frutilla cv. 'Pájaro'. Se trabajó con 13 aislamientos de frutilla (Fru), uno de arándano (Ar), uno de soja (Soj), uno de poroto (Por) y 5 de girasol (Gi). Se cultivaron 4 días en placas de Petri con APG al 2% en oscuridad, a 28°C. Las plantas se inocularon mediante la técnica de escarbadientes de Edmunds (1964) y se incubaron a 30°C con fotoperíodo 16/8 h (4 plantas por tratamiento más el control sin inocular). Se determinó manifestación de la enfermedad (aparición de síntoma y planta muerta) e incidencia ($I\% = N^\circ$ de hojas afectadas/total de hojas de la planta*100) durante 30 días. Los datos se analizaron con InfoStat 2014, mediante Análisis de Varianza (ANOVA) y el Test DGC para comparación de medias. Fru-SWA fue el primero que manifestó síntoma y produjo la muerte de las plantas a los 10 y 19 dpi respectivamente. Gi-P65A25 y Gi-ACA 885 no mostraron síntomas ni causaron la muerte de las mismas. La I% a los 10 días fue de 35% para Fru-SWA diferenciándose del resto de los aislamientos (<10%). A los 20 días, Fru-SWA alcanzó el 95% mientras que Gi-ACA 885, Gi-P65A25 y Ar-Sb tuvieron 0%. A los 30 días, Fru-For, Fru-Alb, Fru-Sab, Fru-SWA y Fru-Fes obtuvieron el 100% y Gi-ACA 885, Gi-P65A25 y Por-Lea presentaron porcentajes menores al 20%. Las diferencias encontradas entre los tratamientos podría deberse a que los aislamientos obtenidos de un determinado hospedante son más agresivos cuando se inoculan en el mismo huésped de donde fue aislado. Resultados similares fueron reportados previamente. Los datos indican una preferencia del aislamiento por el cultivo del cual fue aislado, resultando los aislamientos de frutilla más virulentos que los de otros hospedantes. Además, los resultados indicaron una fuerte interacción cultivar / cepa del patógeno, donde cada genotipo representante de una especie de *Macrophomina* (aún aislados de frutilla) afecta al cultivar 'Pájaro' con diferente grado de severidad.

SESION DE POSTERS B

ÁREA TEMÁTICA

Monitoreo y biorremediación de ambientes
contaminados

COMPARACIÓN ENTRE DOS INDICADORES MICROBIOLÓGICOS PARA ESTUDIAR CONTAMINACIÓN FECAL EN AGUAS DEL RÍO NEGRO: NMP DE *Escherichia coli* Y UFC POR FILTRACIÓN DE MEMBRANA DE *Enterococcus spp.*

Sergio Abate (1,2,3)*, Marina Winter (2,3)

(1) Fundación Barrera Zoofitosanitaria Patagónica (Funbapa), Viedma, Argentina. (2) Universidad Nacional de Río Negro (UNRN), Viedma, Argentina. (3) Centro de Investigaciones y Transferencia (CIT) UNRN-CONICET, Viedma, Argentina.

En la provincia de Río Negro, la mayoría de la población vive sobre la costa del río homónimo. Existen diversos organismos responsables de minimizar y auditar el impacto antrópico sobre el río Negro. Para evaluar la degradación por desechos cloacales históricamente la provincia de Río Negro, adoptó el análisis microbiológico mediante dilución seriada de tubos para determinar el número más probable (NMP) de coliformes y *Escherichia coli*. Este método, se caracteriza por presentar una demanda no menor a 7 días de trabajo (demora de resultados), lo que se traduce en un elevado costo. Asimismo, los resultados obtenidos se expresan en unidades que corresponden a una inferencia estadística, cuya interpretación está sujeta a su intervalo de confianza muchas veces no considerado. En las últimas décadas, en el mundo se incorporaron nuevos indicadores microbiológicos como el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus spp.* por método de filtración de membrana. Este método presenta menor incertidumbre de medición, menor demanda de tiempo operativo, menor costo y ofrece resultados de mayor precisión. El objetivo de este trabajo fue entonces, determinar la correlación entre resultados de análisis microbiológicos obtenidos por los métodos NMP de *E. coli* y UFC de *Enterococcus spp.*, en muestras del río Negro con diferente grado de contaminación fecal. Entre mediados de 2015 y fines de 2017 se analizaron 123 muestras del río Negro, tomadas en envases estériles y remitidas al laboratorio de la red de SENASA LR:0016, antes de las 24 h. Las muestras fueron procesadas siguiendo métodos estandarizados basados en el Standard Methods (APHA, 12^o ed). Se determinó el coeficiente de correlación entre ambos según Pearson, utilizando InfoStat/P, obteniéndose un coeficiente de 0,71 con un $p < 0,0001$. Los resultados obtenidos muestran una correlación positiva que justificaría la adopción de UFC de *Enterococcus spp.* para evaluar la degradación del río Negro por desechos cloacales. Además de las características metodológicas mencionadas, el género *Enterococcus* ofrece ventajas sobre *E. coli* como indicador de contaminación dada su mayor supervivencia ambiental. Los resultados demuestran que la determinación de UFC de *Enterococcus spp.* constituye una herramienta de gran valor para la gestión de los recursos hídricos y la toma de decisiones.

CONTAMINACIÓN FECAL EN EL ESTUARIO DEL RIO NEGRO: DATOS PARA LÍNEA DE BASE DEL AGUA DE INGRESO AL ESTUARIO Y ESTADO DE SITUACIÓN DE BALNEARIOS DE LA COMARCA VIEDMA PATAGONES EN DICIEMBRE DE 2017

Sergio Abate (1,2,3)*, Marina Winter (2,3)

(1) Fundación Barrera Zoofitosanitaria Patagónica (Funbapa), Viedma, Argentina. (2) Universidad Nacional de Río Negro (UNRN), Viedma, Argentina. (3) Centro de Investigaciones y Transferencia (CIT) UNRN-CONICET, Viedma, Argentina.

El estuario del río Negro sustenta la producción de agroalimentos, actividades recreativas y competencias deportivas de alcance internacional. Influenciado por las mareas, invierte el sentido del curso de sus aguas dos veces al día. Las ciudades de Carmen de Patagones y Viedma, ubicadas en las riberas norte y sur respectivamente, han crecido significativamente, no así la tecnología para tratar sus aguas residuales vertidas río abajo a pocos kilómetros de ambas ciudades. Actualmente se atraviesa un estado de emergencia hídrica que implica una disminución significativa del caudal del río. El objetivo de este trabajo fue estudiar dos indicadores microbiológicos de contaminación fecal en dos sitios de zona balnearia de la ribera norte del estuario del río Negro, en plena zona urbana. Para conocer el riesgo para la salud pública y obtener datos que aporten a una línea de base para futuros estudios ambientales, entre noviembre y diciembre de 2017 se tomaron n=12 muestras de agua en el sitio A (-40.815441°/-62.976903°) y n=12 en el sitio B (-40.795040°/-63.009427°). Para ambos sitios 6/12 muestras se tomaron en bajamar y 6/12 en pleamar con máximo refluo del agua proveniente de la zona de descargas cloacales. Se determinó NMP de coliformes y *Escherichia coli* con 3 series de 5 tubos y UFC de *Enterococcus* spp. por filtración de membrana, según Standard Methods 12^{ed}. En pleamar los promedios de resultados del sitio A fueron: NMP *E. coli* = 461/100 ml y UFC *Enterococcus* spp. = 62/100 ml. Los del sitio B: NMP *E. coli* = 46/100 ml y UFC *Enterococcus* spp. = 61/100 ml. Considerando valores guía para el uso seguro de agua recreativa según la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación: NMP *E. coli* <126/100 ml y UFC *Enterococcus* spp. <33/100 ml, el punto A mostró en pleamar elevado riesgo para la salud pública por ambos indicadores, mientras que el punto B solamente por UFC de *Enterococcus* spp. Con bajamar los indicadores se mostraron por debajo de los valores guía. Resultados similares fueron comunicados a las autoridades de la Municipalidad de Carmen de Patagones. Estos resultados difieren de datos oficiales, pudiendo atribuir estas diferencias a los métodos de muestreo y analíticos. La información obtenida debe alertar sobre el estado de situación de dos zonas balnearias de elevada concurrencia por los habitantes de Viedma y Carmen de Patagones en período estival, y justifica continuar con estos estudios a lo largo del año, en el marco de la emergencia hídrica declarada.

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE CEPAS DE *Penicillium* spp. DE UTILIZAR EL GLIFOSATO COMO NUTRIENTE PARA SU CRECIMIENTO

Melisa Aluffi (1)*, Cecilia Carranza (1), Nicolás Benito (1), Carina Magnoli (1), Carla Barberis (1)

(1) Universidad Nacional de Río Cuarto, CONICET, Río Cuarto, Argentina.

Los herbicidas, y particularmente el glifosato (GP), constituyen el segmento de mayor consumo del mercado Argentino de Fitosanitarios. Debido al impacto del GP y de los herbicidas que contienen GP en el microecosistema del suelo, en la agricultura y en la salud humana, es importante identificar métodos para mejorar la degradación y la remediación biológica en los suelos. El metabolismo microbiano es probablemente el proceso más importante implicado en la degradación de pesticidas y constituye la base de la biorremediación. Determinar en ensayos “*in vitro*” los parámetros de crecimiento de cepas fúngicas aisladas de suelos agrícolas en medios suplementados con GP como fuente de carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P), en condiciones óptimas de crecimiento. Se utilizaron cepas de *Penicillium* spp. tolerantes a glifosato, aisladas de suelos agrícolas de campos del sur la provincia de Córdoba. Se realizó una suspensión de conidios, luego se inocularon centralmente placas de Petri conteniendo el medio Czapek Dox (CZD) sustituyendo las fuentes de C, N y P por diferentes concentraciones de GP: 10 mM; 1,5 mM; 1 mM, respectivamente. Se incluyeron ensayos controles en medio CZD sin herbicida y en agar agua (AA). Las placas se incubaron a 28°C, durante 30 días. Se calculó la velocidad de crecimiento radial (mm/día) y se determinó la fase de latencia (horas). Se observó que todas las cepas evaluadas tardan menos tiempo en salir de la fase de latencia en la condición en la que el GP es fuente de P del medio (24,83-37,22 h), con respecto al control (32,89-40,7 h) y a las demás condiciones ($p < 0,05$). Las velocidades de crecimiento máximas se observaron en los tratamientos en las que el GP se utilizó como fuente de P (2,54 mm/d) y N (2,53 mm/d), siendo la velocidad máxima en el control de 2,43 mm/d ($p < 0,05$). Todas las cepas evaluadas fueron capaces de crecer en medios en los que se sustituyó la fuente original de C, N y P por glifosato, utilizando los átomos de la molécula de este herbicida como nutriente para su desarrollo. La entrada en fase exponencial para todas las cepas, se induce más rápidamente cuando el GP es fuente de P y la velocidad de crecimiento se incrementa con respecto al control cuando las cepas utilizan el GP como fuente de N y P. Las cepas ensayadas son potenciales conformadoras de un consorcio microbiano capaz de degradar el herbicida glifosato.

ESTUDIO DE LA RELACIÓN DE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DE CRECIMIENTO DE *Populus deltoides* Y MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS ASOCIADOS EN SUELOS CONTAMINADOS CON COMBUSTIBLE DIESEL

Esteban Badariotti (1)*, Eduardo Beyrne (1) Adriana Palacios (1), María Gabriela Molina (1,2), Pamela Sayago (1,3), Roberto Canullo (4)

(1) Universidad Católica de Córdoba, UCC, Córdoba, Argentina. (2) Universidad Nacional de Córdoba, UNC, Córdoba, Argentina. (3) CONICET, Córdoba, Argentina. (4) Università di Camerino, UNICAM, Camerino, Italia.

Los contaminantes derivados del petróleo han tomado relevancia en la investigación debido a su persistencia en la naturaleza. La fitorremediación como técnica, se basa en el uso de vegetales y sus microorganismos asociados a nivel rizosférico, para extraer, secuestrar, detoxificar, degradar, contener o tornar inocuos a los contaminantes. El objetivo del presente estudio fue evaluar el desarrollo de poblaciones bacterianas en suelos contaminados con hidrocarburos y la expresión de parámetros fisiológicos de crecimiento, obtenidos en cultivo de álamos (*Populus* sp.) con potencial fitorremediador. Se cultivaron 200 esquejes de álamos a los que se les incorporó combustible diesel como contaminante (1000 mg diesel / kg suelo seco). Se diseñaron tratamientos que incluyeron el inóculo bacteriano aislado y cultivado previamente perteneciente al género *Gordonia* sp., junto con las poblaciones naturales presentes. Se evaluó el comportamiento del inóculo en relación con las poblaciones bacterianas totales mediante el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). Se determinaron parámetros fisiológicos de crecimiento de raíz y de tallo a través de la medición de la materia seca (MSR y MST) y de la eficiencia fotoquímica del fotosistema 2 (PSII), a los 110 días del inicio ensayo. Los tratamientos fueron: inóculo bacteriano, álamo e hidrocarburo (T1); álamo e hidrocarburo (T2); inóculo bacteriano y álamo (T5); y cultivo de álamo únicamente (T6). Los datos fueron analizados a través del análisis de la varianza y posteriormente del test LSD de Fisher. Para todas las variables se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). En los suelos contaminados con diesel, se observó una mayor presencia de microorganismos del tipo carbonoclásticos y mayores valores en PSII. Para estos tratamientos los resultados sugerirían un efecto favorable en la actividad bacteriana a nivel rizosférico. En el suelo contaminado, la producción de materia seca total (raíz y tallo) fue en promedio 70% menor a la del cultivo en suelo libre de contaminantes. La mayor presencia de microorganismos y la mayor actividad fotoquímica resultante en el cultivo en los suelos contaminados con derivados del petróleo, sugeriría que el álamo es una especie con potencial para uso y evaluación de procesos de fitorremediación.

MONITOREO DE COLIFORMES EN AGUA SUPERFICIAL DE MALLINES URBANOS

Graciela M. Calabrese (1)*, Paula González Velásquez (1)

(1) Universidad Nacional de Río Negro, Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural IRNAD, Grupo de Manejo y Conservación de Recursos Naturales MyCReNa, San Carlos de Bariloche, Argentina.

Los mallines son reservorios de agua y biodiversidad, en áreas urbanas deberían conservarse por sus recursos y para uso y disfrute de la población. Su uso y manejo inadecuado, así como el avance de las urbanizaciones, puede provocar el deterioro de la vegetación y el suelo, afectando la calidad del agua. El objetivo del trabajo es monitorear la calidad del agua superficial de mallines urbanos en S. C. de Bariloche durante la pretemporada y temporada de verano 2017/18, utilizando parámetros microbiológicos, contrastándolos con datos de 2014. Se estudiaron 4 mallines, 2 en el centro de la ciudad: a) Barrio el Mallín, próximo a un establecimiento educativo, b) Elordi, frente a una estación de servicio; uno hacia el oeste: c) Bahía Serena, vinculado a una playa de gran afluencia de población local y turistas durante el verano, y uno hacia el este: d) Ñireco, entre dos barrios ubicados sobre el propio mallín. En cada mallín se realizaron 4 muestreos en un lapso de 30 días, en noviembre y en enero/febrero. Las muestras se colectaron en recipientes estériles de 250 ml y trasladadas refrigeradas al laboratorio. Se determinaron coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *Escherichia coli* (NMP/100ml) por método de fermentación en tubos múltiples con 3 repeticiones y repique de muestras (+) en EC-MUG. Los resultados revelan que no existen diferencias significativas entre los valores hallados en nov. y en ene/feb., excepto en el mallín de B. Serena, en el que se incrementó *E. coli* de 65 a 460. El mallín más contaminado resultó el del Bo. El Mallín, arrojó valores promedio de CT > 1100, CF > 1100, *E. coli* 780, seguido del mallín de B. Serena (CT 387, CF 197, *E. coli* 197), Elordi (CT 254, CF y *E. coli* <3) y Ñireco (CT 11, CF 6, *E. coli* 6). Contrastados con los valores de 2014 se evidencia un incremento significativo en la contaminación del agua en los dos primeros, posiblemente debido al avance de las urbanizaciones y la falta de obras de saneamiento. El mallín de B. Serena está rodeado de viviendas y dos cervecerías, las filtraciones de los pozos ciegos y la presencia de caballos podrían explicar los valores hallados. El Bo. El Mallín posee cloacas, sin embargo los vecinos reclaman por los depósitos de basura y falta de limpieza de desagües. La proximidad de éste a una escuela primaria, y la playa junto al mallín de B. Serena, deben encender alertas sobre la necesidad de un plan de acción para evitar mayor deterioro y por las posibles implicancias en la salud.

APLICACIÓN DE SURFACTANTES EN BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PAH: BIOESTIMULACIÓN VS. BIOAUMENTO

Martina Cecotti (1)*, Bibiana M. Coppotelli (1), Roberto Grau (2), Irma S. Morelli (1,3)

(1) CINDEFI, La Plata, Argentina. (2) Facultad de Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. (3) CIC-PBA, Argentina.

La sorción de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) al suelo (por su naturaleza hidrofóbica) es un factor limitante en la biodegradación de los mismos. Los surfactantes, moléculas anfipáticas, se han propuesto como estrategia de bioestimulación para aumentar la biodisponibilidad (BDP) de PAH. Asimismo, el bioaumentación con cepas productoras de biosurfactantes podría optimizar la degradación de los PAH. El presente trabajo tuvo como objetivo comparar el efecto de un surfactante no-iónico contra el de la inoculación de una cepa productora de biosurfactante sobre la biodegradación de PAH y la comunidad microbiana de un suelo contaminado. Estas estrategias se combinaron con la inoculación de una cepa degradadora de PAH (*Sphingobium* sp. AM). Se prepararon microcosmos de 500 g de suelo seco (ss) en 4 condiciones por triplicado: (C): atenuación natural; (AM): 10^8 UFC/g ss de AM; (AM/T): 19 mg/g ss (concentración micelar crítica) de Triton X-100 (TX-100) y 10^8 UFC/g ss de AM; y (AM+B): $0,5 \times 10^8$ de AM y de *Bacillus subtilis* sp. productora de surfactina. Se incubaron 6 meses (24 °C, 50% de la capacidad de retención de agua), se trataron con Nitrofoska® (NPK) y se incubaron otros 28 días. Se analizó la concentración de PAH (GC-FID), su BDP (XAD-2 Amberlite) y la secuenciación por Illumina de amplicones de genes 16S rARN a partir del ADN del suelo. Si bien a los 63 días de incubación se observó una significativa disminución en la BDP de PAH para los microcosmos C y AM con respecto a AM/T y AM+B, 4 meses después sólo AM presentó eliminación de PAH (43%) significativamente diferente a C (12%). Al aplicarse NPK, mientras que el sistema AM+B no mostró diferencias significativas con C, se alcanzó una eliminación significativamente superior en AM (60%) y AM/T (77%). No obstante, AM mostró una comunidad microbiana cercana a C en el análisis de correspondencia, caracterizada por *Brevibacterium*, *Janibacter* y *Alcanivorax* y la eliminación de PAH fue exclusivamente a expensas de fenantreno y fluoreno; mientras que AM/T evidenció grandes cambios en la comunidad, representada por *Brevibacterium*, *Galbibacter* e *Idiomarina*, logrando eliminación en todos los PAH. La adición de TX-100 y NPK produjo un efecto estimulador sobre la eliminación de PAH y una dinámica de la comunidad; posiblemente al promover otras interacciones entre AM y la comunidad nativa debido a mayor BDP de compuestos presentes en el sistema y/o a la utilización de TX-100 como fuente de carbono alternativa.

LOS SEDIMENTOS COMO RESERVORIO DE PARÁSITOS EN AGUAS RECREACIONALES

Lucía Chávez Díaz (1,3), María M. Juárez (1,2), Dolores Gutiérrez Cacciabue D (1,2)*,
Verónica B. Rajal (1,2)

(1) Laboratorio de Aguas y Suelos, Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI), CONICET, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina. (2) Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.

Los ríos y embalses son ambientes utilizados ampliamente con fines recreativos. Dependiendo de su calidad, pueden convertirse en un riesgo para la salud, principalmente por la presencia de microorganismos patógenos causantes del 80% de las enfermedades de origen hídrico. Además, los monitoreos, solo incluyen el agua, dejando de lado los sedimentos que podrían actuar como reserva y fuente de patógenos. El objetivo del trabajo fue evaluar la contaminación parasitológica en aguas y sedimentos de dos ambientes recreativos en Salta, Argentina, para determinar la importancia de sedimentos como potencial reservorio. Se colectaron muestras de aguas y sedimentos (3 réplicas por muestreo) durante Diciembre 2015-Septiembre 2016 de dos ambientes acuáticos: Río Wierna (RW1, RW2, RW3, RW4, RW5) y Embalse General Belgrano (GB1, GB2, GB3, GB4, GB5, GB6). Se concentraron las muestras de agua 400 veces por ultrafiltración. En el caso de sedimentos, se realizó una desorción con 1% de Tween 80 y 15 min de agitación manual. Se detectaron y cuantificaron protozoos y helmintos por microscopía óptica en ambas fases (aguas y sedimentos). En 27 de 33 muestras de agua y 25 de 33 de sedimentos se detectó al menos una especie de parásito. El rango osciló entre 20-260 elementos/ml y 5×10^4 - 1×10^6 elementos/g, respectivamente. No se observaron patrones estacionales. Solo en la muestra RW2 no se detectaron parásitos. Los quistes y trofozoitos de ameba y quistes de *Giardia lamblia* fueron los más frecuentes en ambas fases. En general, si estaban presentes en agua, también se detectaban en sedimentos; a excepción de las muestras GB3 y RW3 en las que sólo se encontraron en los sedimentos. No se detectaron quistes de *Acanthamoeba* spp. en muestras de sedimentos y no se encontró *Enterobius vermicularis* en ninguna muestra. Se detectaron huevos de *Taenia* spp. /*Echinococcus* spp. solo en muestras de GB, alcanzando las concentraciones más altas en agua (180-260 elementos/ml) luego de una lluvia. Se encontraron larvas de nemátodo en aguas y sedimentos de GB2, y en agua de RW5. Solo se observaron huevos de *Ascaris* spp. en sedimentos de RW3, RW4 y GB5 y huevos de *Hymenolepis nana* en GB2. Los resultados evidenciaron altas concentraciones de parásitos en sedimentos con una eventual reaparición en el agua luego de resuspensión debida a eventos naturales o antropogénicos. Se concluye que sería importante analizar los sedimentos al realizar los monitoreos ambientales de ambientes recreativos naturales.

EFFECTO DEL TRATAMIENTO COMBINADO CON PERSULFATO DE AMONIO Y HONGOS LIGNINOLÍTICOS SOBRE UN RESIDUO PETROQUÍMICO

Natalia A. Di Clemente (1)*, Marina Peluffo (1), Mario C. N. Saparrat (2), María T. Del Panno (1)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), La Plata, Argentina. (2) Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), La Plata, Argentina.

La generación de barros oleosos derivados de la actividad industrial es una problemática vigente en el tratamiento de residuos petroquímicos. Estos barros son una emulsión compleja de hidrocarburos del petróleo (HCP), agua, metales pesados y partículas sólidas. Los HCP son generalmente clasificados en alifáticos, aromáticos, resinas y asfaltenos. Dada su complejidad, difícilmente una sola tecnología de remediación podría ser efectiva en su tratamiento. Recientemente la oxidación química se ha equiparado en uso a la biorremediación, requiriendo menor tiempo de tratamiento y generando productos usualmente más biodegradables. Intentando acoplar a continuación un tratamiento biológico, fueron seleccionados dos hongos ligninolíticos eficaces en la transformación y detoxificación de compuestos aromáticos mediante complejos enzimáticos oxidativos. Se analizó el efecto de la incorporación de rastrojo de avena previamente colonizado axénicamente con los hongos *Corioloopsis rigida* LPSC#232 y *Grammothele subargentea* LPSC#436 a un barro petroquímico API, antes y después del tratamiento con persulfato de amonio (PSA), en microcosmos de barro y arena (1:3) en forma estéril y no estéril. Transcurridos 30 y 60 días de incubación se estimaron la concentración de HCP (IR) y las fracciones de alifáticos y aromáticos (GC-FID) junto con la actividad lacasa y deshidrogenasa. En microcosmos de barro sin tratamiento oxidativo y en condiciones axénicas, ambos hongos evidenciaron una significativa colonización del rastrojo, con marcada actividad lacasa y un incremento de la fracción de alifáticos y aromáticos. En presencia de la microbiota del barro, solo la inoculación con LPSC#436 redujo los HCP. El tratamiento oxidativo del barro con PSA redujo un 50% la concentración de la microbiota autóctona. En microcosmos de barro previamente tratados, la inoculación de ambos hongos, en ausencia o presencia de microbiota autóctona, se correspondió con la actividad lacasa. Bajo condiciones axénicas, la inoculación con LPSC#436 evidenció un aumento de la fracción alifática. Solo en presencia de la microbiota autóctona resiliente se detectó una significativa eliminación de alifáticos y aromáticos. Estos resultados plantean el interrogante sobre el rol del bioaumento con hongos ligninolíticos capaces de transformar las fracciones más recalcitrantes del barro API y la relevancia de tratamientos químicos oxidativos previos para incrementar la biodisponibilidad de resinas y asfaltenos.

**APTITUD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA PARA USO RECREATIVO EN DOS PLAYAS
PRÓXIMAS A LA PLANTA DE PRETRATAMIENTO DE EFLUENTES CLOACALES
(MAR DEL PLATA)**

María Soledad Domínguez (1) *, Karina Soledad Esquiús (1), Alicia Mabel Folabella (1), Julieta Inés Pérez Guzzi (1), Alicia Haydée Escalante

(1) FCEyN, UNMdP – IIMyC, Mar del Plata, Argentina.

La ciudad de Mar del Plata es el centro vacacional estival más importante del país y sus playas son muy concurridas durante los meses de verano. Entre las principales fuentes de contaminación del agua de mar se encuentran los vertidos cloacales. El sistema cloacal de la ciudad se deriva a una Planta de Pretratamiento (PP) de efluentes para luego tener una disposición final a través de un Emisario Submarino (ES) de reciente construcción, que descarga mar adentro, a una distancia de 4.100 m en línea recta desde la costa. Las diluciones de los líquidos cloacales allí vertidos pueden ser arrastradas por las corrientes que se desplazan paralelas a la costa, razón por la cual es importante verificar los posibles efectos de éstos en la calidad de las aguas. El grupo de investigación "Biodiversidad en Aguas" de la Universidad Nacional de Mar del Plata evalúa, desde hace 20 años, las condiciones bacteriológicas del agua de mar en playas marplatenses. En los últimos años, el estudio se ha orientado a las playas aledañas a la PP, evaluando posibles cambios en la calidad del agua a partir del funcionamiento del ES. El objetivo del presente estudio fue determinar la balneabilidad en las dos playas adyacentes a la PP durante los veranos de 2016 y 2017. Siguiendo la normativa provincial vigente (2006), se realizaron cinco muestreos de agua de mar durante el mes de febrero en las playas Félix U. Camet y Sun Rider, analizadas también en 2011 previo a la puesta en marcha del ES. Se cuantificaron bacterias coliformes termotolerantes (CTt), *Escherichia coli* presuntiva (ECP) y estreptococos fecales (EF), mediante el método de fermentación en tubos múltiples. Complementariamente se registraron datos de temperatura del agua y del aire, cantidad de bañistas, índice UV, nubosidad y viento predominante. Se evaluó estadísticamente la significancia de las diferencias obtenidas entre playas y entre períodos de cada uno de los indicadores bacterianos analizados. En las dos playas se detectó, durante el período analizado, la presencia de CTt, ECP y EF. Los valores de recuentos no presentaron diferencias significativas entre las playas y tampoco entre los años 2016 y 2017. En base a las normativas vigentes, que consideran a los CTt (OMS) y a los EF (U. S. EPA) como indicadores de contaminación, las playas Félix U. Camet y Sun Rider no resultaron aptas para uso recreativo con contacto primario durante los años evaluados.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS POTENCIALMENTE DEGRADADORAS DE HIDROCARBUROS A PARTIR DE LODOS INDUSTRIALES

Dana B. Loureiro (1,2)*, Camila Olivera (1), Ma. Sol Herrero (1,3), C. Daniela Bergara (1,3), Stella Maris Andretich (3), Lucas M. Salvatierra (1,2), Leonardo M. Pérez (1,2)

(1) Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA) Rosario, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Argentina. (3) SOLAMB S.R.L, San Lorenzo, Argentina.

La descarga de hidrocarburos (HC) al ambiente, ya sea de forma accidental o producto de las actividades humanas, es una fuente importante de contaminación de suelos y acuíferos. Las tecnologías comúnmente utilizadas para la remediación de HC incluyen bioventilación, filtrado, incineración, entre otros métodos de bombeo. Las mismas son costosas y muchas veces no consiguen remover completamente estos contaminantes. Una alternativa efectiva y más rentable, y con la ventaja de poder ser aplicada a grandes áreas, es la biorremediación *in situ* utilizando microorganismos para degradar los HC aprovechando sus capacidades metabólicas. Existen principalmente dos estrategias: la bioestimulación, en la cual los microorganismos indígenas son estimulados con el agregado de nutrientes y co-sustratos, y la bioaumentación, consistente en la inoculación de un consorcio microbiano mixto enriquecido. En estudios previos realizados en nuestro laboratorio utilizando lodos activados provistos por una empresa santafesina tratadora de residuos industriales, se determinó la capacidad de estos lodos para degradar diferentes sustratos orgánicos. En vistas de estos resultados preliminares, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la presencia de microorganismos potencialmente degradadores de HC. Debido a que la persistencia ambiental de los HC suele asociarse con aquellos compuestos de cadena larga y de alto peso molecular, se utilizó diésel comercial para los ensayos. Se emplearon botellas de vidrio de 125 ml de capacidad como biorreactores, dentro de las cuales se colocaron 30 ml de medio Bushnell Hass (BH) regulado a pH 7,00, 1 ml del lodo biológico y diésel al 1 % v/v como única fuente de carbono. Los sistemas se incubaron durante 15 días en un baño termostático a 37°C con agitación (130 rpm). Al cabo de ese período, se tomaron alícuotas de cada sistema las cuales fueron convenientemente diluidas con solución fisiológica. Se sembraron 10 µl de cada dilución en placas de Petri conteniendo medio PCA y las mismas fueron incubadas a 37°C durante 24 h. Se aislaron 6 cepas potencialmente degradadoras de HC: *Acinetobacter radioresistens*, *Citrobacter koseri*, *Ochrobactrum intermedium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas citronellolis* y *Pseudomonas stutzeri*, las cuales fueron identificadas a través de pruebas bioquímicas y mediante el análisis del perfil proteico utilizando la técnica de MALDI-TOF.

BIORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CRÓNICAMENTE CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS MEDIANTE BIOESTIMULACIÓN CON RESIDUO PETROLERO (FONDOS DE TANQUE)

Julieta Naser Murat (1), Verónica Mora (1)*

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), Facultad de Ciencias Exactas-UNLP, CCT-La Plata, CONICET, La Plata, Argentina.

La refinación del petróleo, así como las operaciones de traslado y almacenamiento del mismo, generan considerables volúmenes de residuos (lodos, fondos de tanque). Estos residuos constituyen mezclas complejas de sustancias hidrofóbicas, principalmente alcanos, compuestos aromáticos, nitrogenados, sulfurados, oxigenados y fracciones asfálticas. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la posibilidad de estimular los procesos de biodegradación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos, ya sometidos a procesos de biorremediación, con el agregado de fondo de tanque como aporte de compuestos fácilmente asimilable, nutrientes y una alta carga microbiana (determinada a través de recuento de bacterias heterótrofas cultivables log UFC/g_{Suelo Seco} 9.8). De este modo se lograría el tratamiento simultáneo de dos líneas de residuo. Para ello se prepararon dos microcosmos por triplicado, uno de control el cual solo tenía el suelo crónicamente contaminado, LF; y otro que estaba compuesto por este suelo y un 7.5% de residuo de fondo de tanque, FT. Se incubaron a 30°C durante 127 días y se mantuvo la humedad en 22%. Semanalmente se determinó el pH, potencial redox, la actividad microbiana a través de la medida de la actividad de enzimas deshidrogenasas y lipasas, recuento de bacterias heterótrofas cultivables en medio R2A, de degradadoras de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, y se midió la concentración de hidrocarburos por CG-FID (concentración inicial de LF 4761 ± 400 ppm y FT 6500 ± 500 ppm). A los 6 días del agregado de fondo de tanque (sistema FT) se observó un aumento del número de bacterias degradadoras de alifáticos y de aromáticos, con respecto al sistema LF. Luego, a partir de los 15 días, el número de bacterias degradadoras de alifáticos en LF es mayor que en FT y los valores de las degradadoras de aromáticos se igualan. También se registró un aumento de la actividad de la enzima deshidrogenasas a los 15 días y de lipasas a los 15 y 43 días. El aumento de la actividad lipasas, asociada al metabolismo de hidrocarburos, se correspondió con un aumento de la eliminación de los hidrocarburos en ambos sistemas, pasando del 37 ± 3% (día 43 de incubación) al 70 ± 3% (día 57 de incubación). Si bien el porcentaje de eliminación de hidrocarburos (80 ± 5%) fue similar para los dos sistemas al cabo de 127 días, en términos reales la eliminación de hidrocarburos fue mayor en el microcosmo FT (5000 ppm) que en el LF (3900 ppm).

PRODUCCIÓN DE LACASA POR HONGOS DE PODREDUMBRE BLANCA: *TRAMETES VILLOSA*, *FUNALIA GALLICA* Y *GANODERMA SP.* COMO SISTEMA DE RESPUESTA EN CONDICIONES DE ESTRÉS CAUSADAS POR HERBICIDAS

Graciela B. Pergassere (1), Mariana de Elías (1) *, Florencia Grasso (1,2), Patricia Montoya (1,2), Gerardo L. Robledo (1,3,4), María E. Rodríguez (1)

(1) BIO_{tec}A³ - FCA - UNC, Córdoba, Argentina. (2) ICTA - FCEFyN - UNC2, Córdoba, Argentina. (3) Fundación Fungicosmos, Córdoba, Argentina. (4) IMBIV - CONICET, Córdoba, Argentina.

Los hongos de podredumbre blanca pueden degradar plaguicidas, asociado a su sistema enzimático ligninolítico. Estos hongos juegan un rol importante en la disipación de pesticidas en biocamas, un sistema efectivo para minimizar la contaminación ambiental que se produce en la manipulación de agroquímicos durante el llenado de los equipos de pulverización. Sin embargo, se necesitan más estudios para utilizar especies alternativas de hongos con capacidad degradativa de estos contaminantes. En este trabajo se evaluó el crecimiento fúngico y producción enzimática de lacasa (U/ml) de las especies *Trametes villosa* CCC32, *Funalia gallica* y *Ganoderma sp.*, en medios de cultivo líquido en presencia de herbicidas. Se llevaron a cabo con 150 ml de medio de cultivo de Kirk y 5 discos de inóculo de las tres cepas. Se colocaron en incubación durante 7 días a 28 °C y posteriormente se añadieron los herbicidas. Los pesticidas usados fueron de grado técnico: atrazina, 2,4-D y glifosato, a 3 concentraciones 500, 1000 y 1500 mg/l. Los tratamientos se colocaron en estufa a 28°C durante 46 días. Se tomaron muestras cada 3 días. Además se realizó un ensayo control sin plaguicidas. Se determinó la actividad enzimática de lacasa mediante la oxidación de ABTS. Se observó en todos los medios preparados con atrazina y glifosato un abundante crecimiento fúngico de las tres cepas. La cepa *T. villosa* mostró valores máximos enzimáticos de lacasa de 54 U/ml en los medios preparados con atrazina en concentraciones de 500 mg/l, luego de 39 días de crecimiento, siendo este valor superior al control. En presencia de 2,4 D la máxima actividad detectada fue de 12 U/ml a los 46 días, en concentraciones de 1500 mg/l. En ningún caso con glifosato no se detectó producción enzimática. Para las especies *F. gallica* y *Ganoderma sp.*, se detectó presencia de lacasa en todos los ensayos mostrando valores inferiores comparadas a los controles. *Ganoderma sp.* presentó escasa producción enzimática comparada a las otras especies en estudio. *F. gallica* produjo valores máximos de lacasa en los tratamientos con 2,4 D y glifosato, a los 24 y 39 días respectivamente. Estos resultados demuestran que las tres especies se desarrollan y producen enzima en presencia de los pesticidas experimentados y sugieren su posible degradación. Sin embargo *F. gallica* y *T. villosa* tienen una mayor capacidad de adaptación frente a condiciones de estrés causadas por los herbicidas atrazina, 2,4 D y glifosato.

BACTERIAS DE IMPORTANCIA SANITARIA EN LA ARENA DE DOS PLAYAS URBANAS CON INCIDENCIA PLUVIAL DE LA CIUDAD DE MAR DEL PLATA, ARGENTINA

María Marta Pérsico (1)*, Valeria Saicha (1), Mónica Espinosa (1), María Laura Patat (2),
Marcelo Lucero (1)

(1) Facultad Regional Mar del Plata, Universidad Tecnológica Nacional, Mar del Plata, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina.

La zona costera de Mar del Plata, Argentina, presenta descargas de agua de la escorrentía urbana. El objetivo del presente trabajo fue determinar la calidad sanitaria de la arena de dos playas recreativas con descarga pluvial a partir del análisis de indicadores bacteriológicos de contaminación fecal. Los muestreos se realizaron entre enero 2016- octubre de 2017 en las playas Puerto y La Perla en superficie y a 20 cm de profundidad, luego de ocurrencia de lluvia. Los análisis realizados fueron: Coliformes totales (CT), *Escherichia coli* y Enterococos (ENT), UFC/g, por el método de filtración por membrana (USBA soil SURVEY Laboratory Methods Manual 1996). Se aplicaron los siguientes test no paramétricos: Mann Whitney, según playa y nivel; Kruskal-Wallis, para probar grado de asociación entre las variables bacteriológicas y precipitaciones caídas previas a los muestreos o temperatura media mensual; análisis multivariado mediante el cálculo del Coeficiente de Spearman. Se utilizaron valores guía internacionales del estándar portugués, cuyos máximos permisibles en arena son para CT 100 UFC/g; *E. coli* 20 UFC/g y ENT 20 UFC/g. No se registraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medianas de CT, *E. coli* y ENT entre las dos playas y entre los niveles de toma de las muestras. Las medianas de CT, *E. coli* y ENT presentaron diferencias significativas respecto a la lluvia caída y temperatura media mensual. Se halló fuerte correlación positiva entre CT y *E. coli*. Las concentraciones de CT, *E. coli* y ENT superaron en varias muestras los valores guía. La mayor concentración de CT se obtuvo en octubre 2017: 3 millones UFC/g en La Perla y 800000 UFC/g en Puerto. Se obtuvieron altos valores de ENT en ambas playas, alcanzando 1 millón de UFC/g (agosto y octubre 2017). Los menores valores de concentración de CT, *E. coli* y ENT correspondieron a muestras de julio 2016. La concentración de CT, *E. coli* y ENT (UFC/g) en arena de ambas playas recreativas fue similar durante el periodo de monitoreo. Los valores superaron las concentraciones guía internacionales tomadas como referencia en varias muestras de arena. Al determinarse contaminación de origen fecal en los puntos de descarga sería necesario incluir los análisis de indicadores de contaminación fecal en arena de playas, además de la del agua de mar, especialmente en zonas de clima templado.

DETOXIFICACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) UTILIZANDO BIOESTIMULACIÓN Y BIOAUMENTACIÓN

Marcela Alejandra Sadañoski (1)*, Ana Silvia Tatarin (1), Mónica Lucrecia Barchuk (1), Pedro Darío Zapata (1), Laura Noemí Levin (2), Laura Lidia Villalba (1)

(1) Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones, FCEQyN, UNaM, Posadas, Misiones, Argentina. (2) Laboratorio de Micología Experimental, Dpto. de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEN, UBA, INMIBO (CONICET), CABA, Argentina.

Los PCBs son compuestos organoclorados recalcitrantes que pueden ser eliminados mediante biorremediación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la detoxificación de suelo contaminado con PCBs utilizando un tratamiento de bioestimulación y bioaumentación con co-cultivo de *P.sanguineus* LBM 023 y *P.sajor caju* LBM 105. Para el tratamiento de bioaumentación se mezcló suelo no estéril con *P. sanguineus* LBM 023, *P. sajor-caju* LBM 105 o el co-cultivo inmovilizados en bagazo de caña de azúcar (3:1 p/p). Para el tratamiento de bioestimulación se mezcló suelo con sustrato lignocelulósico no inoculado (3:1 p/p). Los controles consistieron en suelo con y sin PCBs. Las mezclas se incubaron en condiciones no estériles, a 24°C por 60 días. Se extrajeron muestras destructivas los días 14, 42 y 60 de incubación de cada tratamiento por triplicado a las cuales se determinó el pH y la fitotoxicidad con semillas de *Lactuca sativa* (lechuga). Se sembraron veinte semillas en 30 g de suelo contenido en placas de Petri y se incubaron a 24°C en oscuridad por 120 h. Luego, se determinó el porcentaje de germinación (%G), la longitud de la radícula (Lr), la longitud del hipocótilo (Lh) y el índice de vigor (IV). Los resultados se analizaron usando Kruskal-Wallis ANOVA y la comparación de medias con el test LSD (Statgraphics Centurion). No se observó germinación de semillas en los controles con PCBs. En cambio, para los distintos tratamientos, se observaron variaciones en el %G, la Lh, la Lr y el IV. El tratamiento de bioestimulación presentó el valor más elevado de Lr a los diferentes días, siendo significativamente menor al control (suelo sin PCBs). En cuanto a la Lh, se observó que tanto el tratamiento de co-cultivo como el de bioestimulación presentaron valores elevados, no observándose diferencias estadísticas significativas con respecto al control el día 60 de cultivo para ambos tratamientos. El valor de IV fue más elevado para el tratamiento de bioestimulación para todos los tiempos evaluados y para el co-cultivo del día 60. El pH del suelo fue moderadamente ácido para el suelo control sin PCBs (5,7-5,9), levemente ácido para el suelo control con PCBs y para el suelo bioestimulado (6-6,5). Para los demás tratamientos, el pH del suelo fue fuertemente ácido. En conclusión, los distintos tratamientos de bioestimulación y bioaumentación disminuyeron la toxicidad y modificaron el pH del suelo contaminado, siendo el tratamiento de bioestimulación la estrategia más efectiva.

**ESTUDIO DE LA FACTIBILIDAD DE LA RECUPERACIÓN NATURAL MONITOREADA COMO
TECNOLOGÍA PARA EL SANEAMIENTO DE SEDIMENTOS DE CURSOS DE AGUA DULCE
CON DIFERENTE HISTORIA DE IMPACTO AMBIENTAL**

Viviana Starevich (1), Martina Zulueta (1), Marina Granada (1), Bibiana Coppotelli (1), Maria Elena Oneto (2), Nuria Vidal (2), Maria Teresa Del Panno (1), Laura Madueño (1)*, Irma Morelli (3)

(1) CINDEFI CONICET UNLP, La Plata, Argentina; (2) Y-TEC, La Plata, Argentina; (3) CIC-PBA, La Plata, Argentina.

La Recuperación Natural Monitoreada (RMN) es una tecnología de biorremediación *in situ* no invasiva, efectiva e innovadora que combina procesos físicos, químicos y biológicos, con el fin de lograr una solución permanente en el ecosistema afectado. El objetivo de este trabajo fue comparar la comunidad microbiana de los sedimentos de dos cursos de agua dulce (C y D) que presentan diferente historia de impacto ambiental, con el fin de evaluar la aplicación de RMN. Se tomaron 9 muestras de agua y sedimento mediante la herramienta Pistón Core tipo Hammer. Se midió la concentración de oxígeno disuelto en agua, hidrocarburos totales y pH en agua y sedimentos. Se cuantificaron bacterias heterótrofas aerobias y anaerobias, reductoras de sulfato, degradadoras de hidrocarburos alifáticos y aromáticos. A partir de las muestras de sedimento se extrajo el ADN total y se amplificó el gen 16S rRNA para evidenciar por DGGE diferencias en la diversidad. Las muestras de agua en D mostraron alta concentración de oxígeno disuelto, pHs alcalinos y valores de recuentos de bacterias heterótrofas indicativos de un sistema oligotrófico con actividad fotosintética. Las muestras de agua de C presentaron bajos valores de oxígeno disuelto y mayor número de bacterias heterótrofas, característicos de cursos hipóxicos y donde la energía proviene de pulsos de materia orgánica fácilmente asimilable. En concordancia con las bajas concentraciones de hidrocarburos detectadas en ambos cursos de agua y en los sedimentos superficiales, los recuentos de degradadoras de aromáticos y alifáticos estuvieron por debajo o cercanos al límite de detección. La concentración de hidrocarburos en los horizontes profundos de D fue incrementándose con la profundidad, a diferencia de C donde se observó de manera heterogénea e independiente de la profundidad. Solamente los recuentos de degradadoras de aromáticos y alifáticos en los horizontes profundos de D mostraron correlación con la concentración de hidrocarburos. Los resultados de DGGE mostraron, en D, horizontes superficiales más diversos que sus horizontes profundos, siendo en cambio en C, similares en todos los horizontes, lo que podría asociarse a su historia de dragado. El ambiente oligotrófico y fotosintético, los sedimentos superficiales muy diversos y el confinamiento de los hidrocarburos en los estratos más profundos detectados en D, determinan que la RNM sería una estrategia potencial de saneamiento para este curso de agua.

CONTAMINACIÓN POR HIDROCARBUROS Y SU RELACIÓN CON LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE SUELOS Y SEDIMENTOS MARINOS DE LA ZONA COSTERA DE CALETA POTTER, ANTÁRTIDA

Susana Vazquez (1)*, Julia Villalba Primitz (1), Roberto Pepino Minetti (2), Stefan Neuhaus (3), Deborah Colman (4), Stephan Frickenhaus (3), Elisabeth Helmke (3), Walter Mac Cormack (4,1)

(1) NANOBIOTEC UBA-CONICET, CABA, Argentina. (2) CIQA, UTN Regional Córdoba, Córdoba, Argentina.
(3) Alfred Wegener Institut Helmholtz Zentrum für Polar und Meeresforschung, Bremerhaven, Alemania. (4) Instituto Antártico Argentino, Buenos Aires, Argentina.

Los problemas de contaminación por hidrocarburos (HC) y otros compuestos orgánicos tóxicos en zonas terrestres en Antártida presenta una amenaza para el equilibrio ecológico de los ecosistemas. La base antártica argentina Carlini (Is. 25 de Mayo, Shetland del Sur) se sitúa en el margen de la Caleta Potter y en las proximidades de la ZAEP N°132, y posee los tanques de almacenamiento de combustible cerca de la costa, zona que se ve afectada por las maniobras de reabastecimiento de gasoil y manejo de combustible de la base, llevadas a cabo de forma permanente desde hace más de 30 años. En 2010 se cavaron dos pozos de 1 m de profundidad, con la finalidad de reparar la estructura del laboratorio. Se detectó combustible en el agua subterránea circulante, por lo que se tomaron muestras en vertical en ambos pozos más una muestra control en un sitio alejado. Se realizaron también muestreos de sedimentos de la caleta para evaluar si la contaminación había llegado al mar. Se midió la concentración de HC y el contenido total de C y N y se observó la estructura de las comunidades bacterianas por DGGE en todas las muestras y por pirosecuenciación de amplicones (16S rDNA) en suelos y tres muestras de sedimentos. La DGGE mostró comunidades bacterianas con un alto número de poblaciones minoritarias, cuya estructura está determinada más por el nicho específico que habitan que por su localización o los parámetros ambientales. El impacto por HC produjo una drástica disminución en la diversidad, con dominancia de *Polaromonas*, seguida de *Lutibacter* y *Pseudomonas*. El perfil de HC fue indicativo de contaminación crónica, con fracciones remanentes de alto nC. No se midieron cantidades relevantes de HC en los sedimentos, aunque la concentración fue algo superior frente a la zona terrestre contaminada. La situación descrita es alentadora en cuanto pone de manifiesto la presencia de comunidades bacterianas con alta riqueza y por lo tanto, funcionalmente versátiles, capaces de reaccionar ante fluctuaciones ambientales y situaciones de estrés. Sin embargo, debe servir de alarma ya que muestra que los HC persisten en estos suelos por mucho tiempo y se movilizan, reduciendo la diversidad bacteriana y, por ende, la capacidad de respuesta frente a situaciones de estrés. Los HC no solo pueden afectar a los macro y microorganismos que habitan los suelos, sino que al moverse pueden llegar al mar y alterar la estructura y funcionalidad de las comunidades acuáticas.

SESION DE POSTERS B

ÁREA TEMÁTICA

Ecología microbiana

DETECCIÓN DE CEPAS DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA Shiga (STEC) EN SISTEMA DE TRATAMIENTO DE EFLUENTES DE TAMBOS DEL SUDOESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Jessica Basualdo (1)*, Gastón A. Iocoli (1), Celina Zabaloy (1), Daniel Fernández (2), Nora Padola (2), Marisa Gómez (1)

(1) Dpto. Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. (2) Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, CICPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina.

La región sudoeste de la provincia de Buenos Aires forma parte de una nueva cuenca lechera en Argentina, lo cual ha llevado a un aumento en la intensificación de los sistemas lecheros acompañado de un mayor volumen de desechos y efluentes. En varios establecimientos, se ha implementado un sistema de lagunas para el tratamiento de residuos, donde puede ser aprovechado como generador de enmiendas usadas como insumos en la actividad agrícola. El manejo de la aplicación de este tipo de enmiendas tiene como riesgo introducir patógenos entéricos, como STEC, que pueden contaminar el cultivo y/o mantener una carga bacteriana alta en el rodeo, generando además un riesgo para la salud humana. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de cepas STEC en sistemas de tratamiento de efluentes del tipo lagunas, en dos tambos de la cuenca lechera del partido de Villarino. Mediante PCR múltiple, con diferentes genes de virulencia (*stx1*, *stx2*, *eaeA*, *hlyA* y *saaD*) como blanco, se analizaron 180 muestras de diferentes tipos (agua, sedimento y estiércol) y sitios del sistema (corral, canal y lagunas) en dos épocas del año (invernal y estival). En estas muestras se determinó la presencia de diferentes combinaciones de los genes para toxina Shiga (*stx1+stx2*, *stx1* y *stx2*). La mayoría de las muestras *stx+* se amplificaron junto al factor de virulencia *hlyA*. Se observaron diferencias en la detección de genes STEC respecto a la época del año (invernal vs. estival) y entre establecimiento. La metodología usada permitió la detección de cepas STEC en la comunidad microbiana, confirmando la presencia en los ambientes evaluados mediante la amplificación de diferentes factores de virulencia. La identificación de cepas STEC alerta sobre el potencial problema sanitario y ambiental derivado de la utilización de los efluentes como enmiendas y agua para riego. Por tal motivo, será necesario evaluar la persistencia de estas cepas en el ambiente. Al respecto, se encuentran en desarrollo nuevos estudios que incluyen la detección de cepas STEC en el rodeo y la persistencia en el ambiente.

NUEVOS DETERMINANTES MOLECULARES QUE REGULAN LA TRANSFERENCIA DE PLÁSMIDOS EN RIZOBIOS

Lucas Castellani (1)*, Juliet Nilsson (1), Susana Brom (2), Mariano Pistorio (1), Gonzalo Torres Tejerizo (1)

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CONICET - Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (2) Programa de Ingeniería Genómica, Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 1001, Cuernavaca, Morelos, CP 62210, México.

El nitrógeno (N) suele ser una limitación en el rendimiento de los cultivos agrícolas. Si bien el N se encuentra en grandes cantidades en el aire, la forma en la que está presente (N_2) no puede ser asimilada por las plantas. Por este motivo, la introducción de rizobios en los suelos de cultivo es una práctica común para aumentar el rendimiento de los cultivos debido a la interacción simbiótica donde el rizobio es capaz de fijar N_2 . En muchas ocasiones, además del cromosoma los rizobios contienen uno o varios plásmidos. La transferencia horizontal de genes es una de las mayores fuerzas que contribuyen a la diversificación y adaptación bacteriana, por lo que la introducción de bacterias con múltiples plásmidos dentro de una comunidad bacteriana podría afectar el germoplasma de la misma. Por este motivo, es importante comprender de qué manera se regula la transferencia conjugativa (TC) de plásmidos, y bajo qué condiciones la TC se induce o se reprime. La TC de numerosos plásmidos de rizobios es regulada por *quorum sensing*, donde las moléculas señal (acil homoserin lactonas, AHLs) y el regulador *traR* (reconoce AHLs y activa la TC) son esenciales para dicho fenómeno. 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. Con el objetivo de comprender los mecanismos que regulan la TC de pLPU83a, hemos comenzado la caracterización molecular de dicho fenómeno. Mediante estudios de genómica comparativa y mutagénesis hemos identificado dos genes que están involucrados en la regulación de la TC. Dichos genes están organizados en una estructura de operón y codifican para proteínas hipotéticas. Llamativamente, un gen es indispensable para la TC (pLPU83a_0148) mientras que el otro reduce la TC (pLPU83a_0146). Para continuar con la caracterización molecular, se realizó un análisis transcriptómico (RNAseq) de cada mutante. Los resultados del RNAseq indican que en el mutante en el gen pLPU83a_0146 se produjo un aumento en la expresión de genes normalmente involucrados en la conjugación, mientras que pLPU83a_0148 no actúa a nivel transcripcional. Estos resultados indican la existencia de nuevos genes involucrados en la regulación de la TC, tanto a nivel transcripcional como en otros niveles aún desconocidos. La comprensión de estos mecanismos ayudará a entender los límites del intercambio de plásmidos en bacterias.

DINÁMICA DE POBLACIONES PROCARIÓTICAS IMPLICADAS EN LA NITRIFICACIÓN Y DESNITRIFICACIÓN EN SUELOS TRATADOS CON ENMIENDAS ORGÁNICAS DE ORIGEN AGROPECUARIO

Gastón A. Iocoli (1,2), M. Emilia Rinland (1,2), Luciano Orden (3), Jessica Basualdo (1)*, Marisa A. Gómez (1,2), Celina Zabaloy (1,2)

(1) Dpto. Agronomía, Univ. Nac. del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. (2) Centro de Recursos Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS, UNS-CONICET), Bahía Blanca (3) EEA Hilario Ascasubi, INTA, Argentina.

La incorporación al suelo de residuos orgánicos agroindustriales afecta los procesos de mineralización-inmovilización modificando la disponibilidad de nutrientes, principalmente del N. Los grupos procarióticos nitrificadores y desnitrificadores poseen genes funcionales que han sido caracterizados y validados intensivamente como marcadores, en particular los genes *amoA* de bacterias y arqueas oxidadoras de amoníaco (BOA y AOA), *nirS* y *nirK* de bacterias reductoras de nitritos (BRN). El objetivo fue evaluar los cambios en abundancia de AOA, BOA y BRN al tratar el suelo con diferentes enmiendas orgánicas de origen agropecuario. Se evaluaron tres digeridos anaeróbicos (purín de cerdo [DC], efluente de tambo [DT] y residuos de cebolla en codigestión con estiércol vacuno [DCE]), un compost (residuos de cebolla con estiércol vacuno) y un control (sin enmienda) utilizando microcosmos con 100 g de suelo. Se muestreó al momento de aplicación (día 0) y a los 3, 7, 21 y 119 días post-aplicación. Las muestras se analizaron mediante PCR en Tiempo Real utilizando los genes *target* 16S ARNr y *amoA* (bacterias y arqueas), y *nirS* y *nirK* (bacterias); y se analizó el contenido de NH_4^+ y NO_3^- . Se utilizó un diseño completamente aleatorizado bifactorial con tres repeticiones. Los datos se analizaron a través de un ANOVA doble y las comparaciones de medias se realizaron mediante DMS de Fisher al 5%. Se observó mayor número de copias del gen *amoA* de BOA que de AOA, sin embargo, ambos grupos estuvieron dentro del mismo orden de magnitud. Los tratamientos sólo generaron cambios en el número de copias del gen *amoA* de BOA. El incremento en el contenido de NH_4^+ estimuló a ambos grupos, mientras que el incremento del nitrato redujo su abundancia. En cuanto al proceso de desnitrificación, se observó mayor abundancia del gen *nirK* que *nirS*, indicando mayor participación de bacterias sintetizadoras de la enzima Cu-Nir, sin detectarse diferencias entre tratamientos. DCE tuvo mayor abundancia de *nirS* a los 7 d de incubación, mientras que DC y DCE tuvieron la mayor abundancia de este gen al finalizar la incubación, sugiriendo que los tratamientos generaron mayor influencia sobre las bacterias portadoras de la enzima *cd₁-Nir*. Se concluye que las enmiendas aplicadas tuvieron mayores efectos sobre los grupos microbianos nitrificadores, principalmente las BOA, y que, para los grupos desnitrificantes, el gen *nirS* fue más sensible a los tratamientos que *nirK* aunque se encontró en menor abundancia.

ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO SOBRE INTERACCIONES ENTRE CEPAS DEGRADADORAS DE PAH EN UN CULTIVO MIXTO

Esteban Nieto (1)*, Sabrina Festa (1), Marianela Macchi (1), Irma Morelli (1,2),
Bibiana Coppotelli (1)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina. (2) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina

El ensamblaje de dos genotipos microbianos puede mostrar dinámicas complejas, que podrían no ser observables en cultivos puros, develando funcionalidades y comportamientos de los mismos extrapolables a nivel comunitario. El objetivo de este trabajo es evaluar las interacciones que se establecen entre dos cepas degradadoras de fenantreno y cómo las mismas afectan su degradación. Se preparó un co-cultivo de dos cepas degradadoras de fenantreno, *Sphingobium* sp. AM y *Burkholderia* sp. Bk, aisladas de un consorcio natural degradador de PAH, en una proporción 65:35 debido a que en el consorcio natural la abundancia relativa de la cepa AM fue mayor. A partir de este co-cultivo, en medio mineral líquido (MML) con 200 ppm de fenantreno como única fuente de carbono y energía, se determinaron en el tiempo la cinética de degradación del fenantreno y la producción de ácido 1-hidroxi 2-naftoico (AHN) (HPLC-UV) y la estructura del cultivo mixto (recuentos en placa R2A) y se analizó la expresión de genes catabólicos de la cepa AM con primers específicos dirigidos a genes que codifican enzimas dioxigenasas de la vía alta (*ahdA1c*, *ahdA1f*, *ahdB*, *ahdC*) y baja (*ahdA1d*, *ahdA3*, *xylE*) de degradación de fenantreno (RT-qPCR) (2, 8 y 72 hs). Los datos se analizaron mediante el método de $\Delta\Delta C_t$ (gen de referencia: gen ribosomal 16S). Como condición de referencia se utilizó las 2 h de incubación. Ya al día 4 el cultivo mixto mostró una degradación del 89%, valor intermedio entre los obtenidos en la cepa AM (75%) y en la cepa Bk (92%) en cultivos puros. Se observó una acumulación de AHN entre los días 2 y 4, mientras que este intermediario ya no se detectó a partir del día 7. Al estudiar la estructura se observó una mayor proporción de la cepa AM durante los primeros 4 días mientras que a partir del día 7 esta relación se invirtió manteniéndose hasta el final del ensayo. En el análisis por RT-qPCR, en el cultivo mixto se encontró sub-expresión de los genes *adhC* a las 8 h de incubación y de los genes *ahdA1f*, *adhA1d* y *xylE* a las 72 h, con respecto al cultivo puro. Según se desprende de los recuentos y los ensayos de RT-qPCR, estos resultados estarían indicando que ambas cepas se complementan en la degradación de fenantreno; la cepa AM lo atacaría inicialmente, pero tendría un menor protagonismo en la degradación de compuestos intermediarios de la vía baja, donde intervendría la cepa Bk.

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE AGUAS DE POZO EN DISTINTAS ESTACIONES CLIMÁTICAS DEL AÑO

Joaquín Perez Escalante (1), Yolanda Andreoli (1), Marino Puricelli (1), Claudia Castellari (1)*, Karina Cirone (1), Facundo Marcos Valle (1)

(1) Unidad Integrada Balcarce (FCA, UNMdP – EEA Balcarce, INTA) Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

El agua puede convertirse en un vehículo para transmitir diversas enfermedades al ser humano. En la región Pampeana, la fuente de agua más frecuente es la subterránea. Con el objetivo de determinar la calidad bacteriológica de aguas de consumo humano en el cinturón frutihortícola de Sierra de los Padres (partido de General Pueyrredón, Buenos Aires, Argentina) se analizaron 48 muestras de agua de pozo, correspondientes a 12 sitios en las cuatro estaciones climáticas del año. Se realizaron las determinaciones bacteriológicas que establece el Código Alimentario Argentino (CAA) para determinar la potabilidad de aguas para consumo humano: Coliformes Totales (CT, determinados por fermentación en tubos múltiples en caldo Lactosado Verde Brillante Bilis incubados a 37°C durante 48 h); presencia de *Pseudomonas aeruginosa* (determinada en medio agar cetrimida e incubada a 37°C durante 24 h) y *Escherichia coli* (confirmada por la producción de indol a partir del triptofano a 44,5°C) en 100 mL de agua y recuento de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT, determinadas por recuento directo de colonias en placa de Petri con medio de cultivo PCA e incubadas a 37°C durante 48 h). Además, se investigó la presencia de *Mycobacterium* spp. por siembra en medios de cultivo específicos y observación microscópica luego de la coloración de Ziehl-Neelsen. En general, el 64,58% de las muestras de agua resultaron no aptas para consumo humano según las exigencias bacteriológicas del CAA. La carga bacteriana y la aptitud bacteriológica de las muestras analizadas varió respecto a la estación climática. En otoño e invierno fue de 25% mientras que en primavera y verano se observaron valores de aptitud del 50% y 41,6%, respectivamente. Los parámetros que determinaron la no potabilidad del agua según la estación climática fueron: CT en la totalidad del año, BAMT en otoño e invierno y *P. aeruginosa* en otoño. No se aislaron especies del género *Mycobacterium* en las muestras analizadas. Según estos resultados, se concluye que es necesario realizar análisis bacteriológicos periódicos del agua de pozo para conocer la aptitud para consumo humano. En el caso de resultar no apta, la desinfección es, en muchos casos, el único tratamiento que puede evitar la transmisión de muchas enfermedades infecciosas de carácter agudo que afectan a la población cuyo único acceso al agua es a través de perforaciones subterráneas.

DETECCIÓN Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS CELULOLÍTICAS ANAEROBIAS DEL RESIDUO DE LA PRODUCCIÓN DE CEBOLLA

María Emilia Rinland (1,2), Marisa Anahí Gómez (1,2)*

(1) Dpto. Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca – Argentina. (2) CERZOS, Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, Bahía Blanca – Argentina

En la naturaleza los materiales celulósicos son degradados mediante la cooperación de diferentes bacterias celulolíticas. Las combinaciones de microbios varían en función del sustrato y de los factores ambientales. El residuo de cebolla puede utilizarse como sustrato en la generación de biogás. El agregado al biorreactor de microorganismos con superior capacidad de degradar la catáfila de cebolla podría acelerar los procesos hidrolíticos. Los objetivos fueron analizar la presencia de cultivos con actividad celulolítica en anaerobiosis en el residuo de cebolla, estudiar la capacidad de los cultivos en la degradación de la catáfila y aislar e identificar las bacterias pertenecientes a los cultivos con mejor capacidad degradadora. Se procedió a la obtención de cultivos con capacidad celulolítica en anaerobiosis a partir de 15 muestras de distintas fuentes donde la cebolla se estaba degradando. Se sembraron diluciones en placas de Petri con el medio para el aislamiento de bacterias celulolíticas anaeróbicas (MCA). Luego se colocó un disco de papel *tissue* en la superficie de las cajas y se incubó en anaerobiosis durante 14 días a 28°C. Se comprobó la aparición de halos de degradación en el papel y a partir de ellos se realizaron sucesivos enriquecimientos en caldo MCA con una tira de papel *tissue*. Los cultivos que degradaron el papel se inocularon en caldo MCA con catáfila en reemplazo del papel y se incubaron en anaerobiosis durante 60 días a 28°C. Se aislaron las cepas de los distintos cultivos degradadores y se las identificó taxonómicamente. Inicialmente se recuperaron 39 halos de hidrólisis. Luego del último enriquecimiento, 9 cultivos fueron capaces de degradar completamente el papel. Estos cultivos también degradaron la catáfila, sin embargo presentaron diferentes maneras de degradación. Cuatro cultivos la degradaron completamente, mientras que el resto presentó una degradación parcial. Se obtuvieron en total 44 cepas y se diferenciaron hasta cuatro morfologías de colonias en cada cultivo. Las cepas identificadas se distribuyeron dentro las familias *Bacillaceae*, *Lachnospiraceae* y *Clostridiaceae*. Se comprobó que las bacterias nativas del residuo fueron capaces de realizar la degradación de la catáfila, actuando en su mayoría en consorcios degradadores. Se identificaron cuatro especies bacterianas diferentes en los cultivos degradadores, particularmente, *Desulfotomaculum guttoideum* es una especie clave en la degradación anaeróbica de la catáfila de cebolla.

CARACTERIZACIÓN DE COLECCIONES PREEXISTENTES DE BACTERIAS CON CAPACIDAD CELULOLÍTICA

Marcela Rörig (1)*, Analía Rodríguez (1), Claudia Huechumil (1), Daniel Grasso (1)

(1) Instituto de Suelos. INTA-Castelar, Buenos Aires, Argentina

La hidrólisis enzimática de carbohidratos de la planta se ha convertido en la tecnología más destacada para la degradación de biomasa. Los microorganismos aislados originalmente de su ambiente natural y conservados en colecciones de cultivos constituyen una fuente de variabilidad genética con gran potencial biotecnológico. Por lo tanto, generar información sobre potenciales microorganismos que sean capaces de degradar la biomasa lignocelulósica resulta fundamental para el aprovechamiento de este recurso. Estudios previos han mostrado que la actividad celulolítica está sometida a regulación. Hemos observado que tanto la composición del medio como las condiciones de cultivo pueden afectar la expresión de la actividad. Resulta de interés entonces el intentar obtener a futuro microorganismos que expresen desreguladamente estas actividades. Por ello en esta primera etapa de investigación se planteó como objetivo seleccionar microorganismos con una fuerte actividad celulolítica a partir de una colección de microorganismos preestablecida en el Instituto de Suelos (INTA, Castelar). La actividad celulolítica de los aislamientos de la colección se verificó en medio mínimo (MM) suplementado con CMC como única fuente de carbono. La actividad CMCasa de los aislamientos fue identificada por la formación del halo de degradación, revelado por tinción con rojo Congo. Los aislamientos puros fueron sometidos a análisis taxonómico mediante secuenciación del gen 16s rDNA y REP-*fingerprinting*. A partir de una colección de 96 aislamientos se logró verificar que 37 aislamientos presentaban una fuerte actividad celulolítica. Sin embargo, luego de 3 años de conservación, solo 17 aislamientos expresan capacidad para degradar celulosa. El análisis de rep-PCR mostró la diversidad de individuos que posee la colección y permitió agrupar a los aislamientos de acuerdo con su similitud. Los aislamientos identificados pertenecen a los géneros *Pantoea* spp., *Rahnella* spp., *Raoultella* spp., *Xanthomonas* spp., *Paenibacillus* spp. y *Bacillus* spp. El conocimiento taxonómico de los aislamientos nos permitirá buscar en los genomas disponibles en las bases de datos de microorganismos relacionados, secuencias codificantes de glicosilhidrolasas (GH) para amplificar los genes responsables de su actividad.

APROXIMACIÓN BIOELECTROQUÍMICA AL ESTUDIO MICROORGANISMOS REDUCTORES DE SULFATO

Juan I Solchaga (1)*, Diego Massazza (2), Lisandro Escalada (2), Silvia Simison (2), Juan P. Busalmen (2)

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas, UNMdP- CONICET, Mar del Plata, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, UNMdP- CONICET, Mar del Plata, Argentina.

El desarrollo de métodos para el cultivo electroquímico de biofilms ha permitido ampliar la cantidad de herramientas disponibles para estudiar la influencia microbiológica sobre el proceso corrosivo. En este trabajo se muestra que utilizando una muestra de agua proveniente de un pozo de producción secundaria de petróleo es posible enriquecer sobre un electrodo de grafito polarizado, un consorcio quimiolitotrófico reductor de sulfatos, capaz de generar una corriente catódica que se vincula con la actividad metabólica de las células. El análisis voltamétrico de los electrodos colonizados muestra al menos dos pares redox de diferente potencial que evolucionan con el tiempo de cultivo, hacia un proceso de catálisis reductiva presumiblemente mediado por el biofilm en crecimiento. Dicha evolución es contemporánea con una marcada disminución de la resistencia a la polarización en muestras de acero 1018 expuestas al consorcio en el mismo reactor, indicando una vinculación entre la producción de corriente catódica y el aumento de la corriente de corrosión, que determina el avance del proceso corrosivo. Nuestros resultados sugieren que la utilización del hierro como dador de electrones sería una forma de acelerar la corrosión, pero no es posible por el momento definir si dicha utilización ocurre por un mecanismo directo, o mediado por el hidrógeno catódico o los depósitos de FeS.

SELECCIÓN DE HONGOS ANTAGONISTAS PARA EL CONTROL DEL NEMATODO FITOPARÁSITO *Nacobbus aberrans*

Ana Laura Sosa (1)*, Laura Rosso (2), Fabricio Salusso (3), Miriam Etcheverry (1),
María A. Passone (1)

(1) CONICET – Lab. de Ecología Microbiana Ambiental (ECOMA), Univ. Nac. de Río Cuarto (UNRC), Río Cuarto, Argentina. (2) CNR – Ist. per la Protezione Sostenibile delle Piante, Sede di Bari, via G. Amendola, Bari, Italia. (3) Cátedra de Horticultura, Univ. Nacional de Río Cuarto (UNRC), Río Cuarto, Argentina.

Nacobbus aberrans es un endoparásito sedentario que produce agallas en las raíces de los cultivos con síntomas de plantas enanas y follaje clorótico, causando desde la reducción de la capacidad fotosintética de la planta hasta el detenimiento total del desarrollo del cultivo. Diversos estudios han reportado la presencia de *N. aberrans* en cultivos de tomate, pimiento, acelga y remolacha en quintas ubicadas en el cinturón verde de la ciudad de Río Cuarto. El manejo de esta plaga se basa principalmente en la esterilización del suelo con bromuro de metilo (BM), prohibido por la ley provincial de agroquímicos N° 9164. El objetivo del presente estudio fue evaluar mediante ensayos *in vitro* la capacidad antagónica de 18 hongos aislados de suelos del agroecosistema hortícola sobre J2 de *N. aberrans*. Los hongos fueron seleccionados en base a un ensayo previo sobre J1 dónde evidenciaron porcentajes de infección superiores al 70% y correspondieron a *Purpureocillium lilacinum* (10), *Metarhizium* sp. (5), *Plectosphaerella plurivora* (1), *Bionectria* sp. (1) y *Chrysosporium lobatum* (1). El porcentaje de J2 infectados se calculó bajo microscopio óptico luego de 7 días de incubación en agar-agua a 30 °C, el ensayo se realizó por quintuplicado. Se analizó el mecanismo utilizado por el hongo para adherirse a J2. Del total de hongos ensayados (18) en el T1, 5 fueron seleccionados para repetir el ensayo dos veces más (T2 y T3). Los aislamientos con mayor capacidad antagónica fueron: *P. lilacinum* (SR7, SR14 y SR38), *Metarhizium* sp. (SR51) y *P. plurivora* (SRA14); mostrando porcentajes de infección que variaron entre 59- 64% a T1, disminuyendo en el orden de 31% a T2. Mientras que, en el último período evaluado (T3), el porcentaje de larvas infectadas por los aislados fúngicos incrementó a niveles similares a T1, los cuales variaron entre 49-78%. El aislado fúngico SRA14 fue el único capaz de mantener su capacidad antagónica en el orden de 63,16% en los tres períodos ensayados. El mecanismo de adherencia utilizado por los aislados SR7, SR14, SR38 y SR51 fue el de “hifas envolventes”, mientras que el utilizado por SRA14 fue “conidios adhesivos”. Los resultados de este estudio nos permiten seleccionar 5 aislados fúngicos que presentaron actividad biocontroladora, siendo capaces de infectar larvas de *N. aberrans* con valores superiores al 50% a fin de continuar ensayando su actividad nematófaga en condiciones de invernadero.

EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN PROBIÓTICA EN LA FLORA INTESTINAL DE CABRITOS PARA CARNE

Natalia Taboada (1), Alicia Córdoba (2), Rodolfo Renolfi (2), Silvia N. González (3), Soledad López Alzogaray (1)*

(1) Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero, Argentina. (2) INTA-Santiago del Estero, Argentina. (3) Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

En Argentina, la provincia de Santiago del Estero es el principal productor de cabritos para carne, siendo el destete una etapa crítica por el recambio de flora intestinal y la susceptibilidad a enfermedades. La administración de probióticos se ha incrementado como una terapia alternativa que evita el uso de antibióticos, reduciendo la aparición y la propagación de bacterias resistentes a los antimicrobianos empleados y disminuyendo la presencia de antibióticos residuales en la carne; los probióticos pueden incluir uno o varios microorganismos, los géneros más utilizados son *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. El objetivo de este trabajo fue evaluar, en cabritos destetados, el efecto del probiótico en el contenido intestinal y heces. El ensayo se realizó por un periodo de 68 días, con cabritos destetados de 75 días de edad y un peso promedio de $(9,5 \pm 0,33)$ kg, raza Criolla (INTA-Santiago del Estero), distribuidos en dos grupos con 10 animales cada uno, el grupo Tratamiento (GT) se alimentó (en sistema silvo-pastoril) con pasturas (~24% materia seca y ~10% proteína bruta) + suplemento probiótico y el grupo Control (GC), con pasturas + la misma leche sin cultivo probiótico. Las cabras de cada grupo fueron criadas en corrales separados. Se empleó una formulación probiótica, desarrollada en UNT: *Enterococcus faecium* DDE39, *Bifidobacterium bifidum* DDBA, *Lactobacillus reuteri* DDL19 y *Lactobacillus alimentarius* DDL48; la dosis de suplemento probiótico (10^5 - 10^6 UFC/ml) por cabra y por día se administró oralmente empleando leche vacuna estéril como vehículo de administración. Hisopados rectales individuales fueron realizados al inicio del ensayo y después de cada toma probiótica, para determinar carga microbiana fecal a lo largo del ensayo. La administración del probiótico produjo cambios beneficiosos en la flora fecal en comparación con el Control, ya que la disminución de enterobacterias y de microbios aerobios mesófilos totales fue acompañada por un aumento de bacterias lácticas, con mayor concentración de bacterias pertenecientes a los géneros incluidos en la mezcla probiótica. Tres cabras del GC experimentaron diarrea por 5-6 días, mientras que sólo 2 cabras del GT experimentaron diarrea por 2 días. No se produjo la muerte de ningún animal. El probiótico aportó al equilibrio de la microflora intestinal propia de un animal sano, evitando las diarreas y contribuyendo a la salud de los animales.

SESION DE POSTERS B

ÁREA TEMÁTICA

Tratamiento microbiano de residuos sólidos y líquidos

ACTIVIDAD LACASA DE *Pycnopus* sp. INMOVILIZADO EN ESPUMA DE POLIURETANO, DURANTE EL TRATAMIENTO DE VINAZA DE CAÑA DE AZÚCAR

Pablo Miguel Ahmed (1)*, Carlos Horacio Gusils (1), Lucía Inés Castellanos (2,3), Hipólito Fernando Pajot (2)

(1) Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Tucumán, Argentina. (2) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET), Tucumán, Argentina. (3) Cátedra de Microbiología Superior, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

La vinaza es el principal efluente líquido de la industria sucroalcoholera. Se caracteriza por tener bajos valores de pH (3,5-4,5), DBO entre 35.000 y 60.000 mg/l, DQO entre 70.000-150.000 mg/l, potasio y compuestos fenólicos. Además, es de color marrón oscuro y reduce la penetración de luz cuando es volcada a cuerpos de agua, lo que afecta el proceso de fotosíntesis y lleva a la eutrofización de los mismos. Debido a su composición química, la vinaza puede ser usada como sustrato en la producción de metabolitos de interés comercial. Algunos hongos ligninolíticos producen durante el tratamiento de vinazas, enzimas oxidativas extracelulares, entre las que se destacan las lacasas, catalizadores muy utilizados por ejemplo en la industria textil. Estas enzimas se obtienen comúnmente a partir de cultivos sumergidos. Sin embargo, la inmovilización microbiana da resistencia a las células frente a cambios fisicoquímicos y permite la obtención de mayores niveles de actividad enzimática. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la producción de lacasas durante el tratamiento de vinaza, utilizando cultivos de *Pycnopus* sp. sumergidos e inmovilizados en espuma de poliuretano. Para analizar la detoxificación de la vinaza en ambas condiciones, se evaluaron la decoloración y remoción de fenoles así como la actividad lacasa, mientras que en los cultivos inmovilizados se determinó además carga orgánica (DQO, DBO₅) y toxicidad. En medio líquido, los máximos títulos de actividad lacasa fueron inferiores a 20/UL, mientras que la decoloración y reducción de los compuestos fenólicos alcanzaron valores de alrededor del 20%. En los ensayos con micelio de *Pycnopus* sp. inmovilizado, la actividad lacasa aumentó significativamente conforme incrementó el tiempo de tratamiento, alcanzando valores máximos de 735/UL. En esta condición se lograron un 35% y 45% de remoción de color y de fenoles, respectivamente. Al analizar la carga orgánica, se observó una disminución de la DQO del 69% y de 73% de la DBO₅. En base a estos resultados se podría plantear la estrategia de utilizar cultivos inmovilizados de *Pycnopus* sp. con un doble propósito, económico y ambiental, lo que contribuiría a una mejor gestión en el manejo y disposición de las vinazas.

PRIMER REPORTE SOBRE EL AISLAMIENTO DE UNA CEPA DE *Pseudomonas aeruginosa* AUTÓCTONA DE LA CIUDAD DE SANTA FE, CON CAPACIDAD DE BIODEGRADAR POLIPROPILENO BIORIENTADO

María F. Argaraña (1)*, Juan M. Battagliotti (1), Macarena Luque (1), María C. Lurá (1), María G. Latorre Rapela (1)

(1) Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

El polipropileno biorientado (BOPP) es una de las poliolefinas más demandadas para su consumo. Sin embargo, debido a su demora en degradarse, es responsable de gran parte de los residuos que se acumulan en la naturaleza. La biodegradación de este tipo de materiales plásticos, por enzimas similares a las hidroxilasas de alcanos, surge como una opción segura y económica para su tratamiento. *Pseudomonas aeruginosa*, se caracteriza por poseer una amplia variedad de enzimas, que le permiten utilizar una gran diversidad de fuentes de carbono. Entre estas enzimas se encuentran las hidroxilasas de alcanos, siendo una de ellas, la alcano 1-monooxigenasa (AlkB), codificadas por el gen *alkB*, e involucrada en la degradación del BOPP. Los objetivos de este trabajo fueron: a) detectar, en el relleno sanitario de la Ciudad de Santa Fe, la presencia de *P. aeruginosa* con capacidad degradativa sobre el BOPP y b) verificar la presencia del gen *alkB*. Se estudiaron cepas de *P. aeruginosa*, aisladas de diferentes zonas del relleno sanitario y capaces de crecer utilizando BOPP como única fuente de C. La degradación del BOPP se determinó con un método gravimétrico cuantitativo y con el análisis de los cambios estructurales y moleculares aplicando Espectrometría de Reflexión Total Atenuada (ATR-FTIR) y microscopía electrónica de barrido. La detección del gen *alkB* se llevó a cabo mediante PCR. Para el diseño de los oligonucleótidos se utilizó la secuencia codificante del gen de *P. aeruginosa* CCBH4851 (KT454971.1) utilizando el algoritmo BLAST (PrimerBlast www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast). Doce aislamientos de *P. aeruginosa* degradaron el BOPP. La PCR se llevó a cabo con la cepa que manifestó mayor capacidad de degradación, obteniéndose un fragmento de 1000 pb aproximadamente, que se derivó para su secuenciación. La secuencia obtenida se comparó con aquellas disponibles en la base de datos *GenBank*, verificándose 100% de identidad con la correspondiente al gen *alkB*. La presencia de este gen en cepas autóctonas, se considera promisorio, por cuanto permitiría obtener microorganismos recombinantes con el fin optimizar el proceso de degradación de contaminantes ambientales tales como el BOPP.

EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE ESTIÉRCOL OVINO

María Eugenia Beily (1)*, Gabriel Morici (2), Diana Crespo (1), Javier Schapiro (2)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – INTA. Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), Hurlingham, Argentina. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA, Instituto de Patobiología, Hurlingham, Argentina.

La producción ovina representa un rubro importante dentro del sistema agropecuario argentino, con un stock de 14.860.000 cabezas (SENASA, 2017). La gestión de deyecciones animales debe garantizar la eliminación de riesgos para la salud humana, veterinaria y ambiental. La digestión anaeróbica (DA), es un sistema de tratamiento para obtener un valor agregado a estos residuos. El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial bioquímico de metano (BMP) del estiércol ovino y estudiar la remoción de patógenos en el digerido al finalizar el proceso anaeróbico. El ensayo consistió en someter una muestra de estiércol ovino a un proceso de DA en una relación sustrato/inóculo (S/I) de 0,5 g sólidos volátiles (SV)/gSV. El inóculo utilizado presentó una actividad metanogénica específica de 0,10 g demanda química de oxígeno (DQO)/g sólidos suspendidos volátiles (SSV)*día. El BMP fue realizado por triplicado con un blanco control en reactores de 500 ml. Al inicio y al final del ensayo se determinaron parámetros fisicoquímicos y microbiológicos por métodos de referencia. La determinación de huevos de nematodos gastrointestinales (NGI) se realizó mediante una técnica de recuperación de huevos basada en el uso de tamices. El último paso, consistió en un lavado con solución hipertónica de cloruro de sodio y lectura mediante una cámara de recuento de McMaster. El volumen de biogás generado se midió mediante un transductor de presión y la calidad por cromatografía gaseosa. Al finalizar el BMP el pH se mantuvo en $7,1 \pm 0,0$; los ácidos grasos volátiles disminuyeron el 37% y la alcalinidad total aumentó un 20%. Se monitoreó el amonio (NH_4^+) por ser una de las sustancias inhibitorias de la DA, observándose un aumento del 50% en su concentración. Con respecto a la remoción de materia orgánica, la demanda química de oxígeno soluble (DQO) disminuyó un 67%. La producción acumulada de biogás y metano fue de 634 ml y 402 ml, respectivamente. El rendimiento de metano fue de 0.12 l CH_4/gSV agregado. Al comienzo del ensayo se registraron 460, 150 y 93 número más probable (NMP) para coliformes totales (CT), fecales (CF) y *E. coli*, respectivamente. La cantidad de huevos de NGI al inicio del ensayo fue de de 6600 h/l. Al finalizar el proceso de BMP, los conteos de huevos de NGI, CF y *E. coli* fueron negativos mientras que los CT fueron removidos en un 93. Se concluye que la DA es un método viable para darle valor agregado al estiércol ovino y su digerido no representa riesgo sanitario.

POTENCIAL CAPACIDAD PARA DEGRADAR POLÍMEROS NATURALES Y ARTIFICIALES POR ACTINOBACTERIAS AISLADAS DEL SUELO DEL VERTEDERO DE BARILOCHE

Micaela Boenel (1)*, Mariana Solans (2), Gernot Vobis (1)

(1) Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche, Argentina. (2) INIBIOMA, UNComahue, CONICET, S. C. Bariloche, Argentina.

Las actinobacterias juegan un papel importante en el reciclaje de carbono orgánico ya que son capaces de degradar biopolímeros complejos (ej: celulosa, hemicelulosa, lignina, etc.). Hoy los distintos polímeros artificiales forman parte fundamental de nuestra vida, constituyendo un gran problema de contaminación ambiental, ya que no existen métodos eficientes para la eliminación segura de los mismos. Sin embargo, existen indicios de que las actinobacterias son capaces de degradar polímeros sintéticos. Por tal motivo, en este trabajo preliminar, se evaluó la potencial capacidad para degradar polímeros naturales y artificiales como el polipropileno (PP) por actinobacterias aisladas del suelo del vertedero de San Carlos de Bariloche. Mediante diversos métodos de aislamiento se obtuvieron las colonias de actinobacterias que fueron cultivadas durante 4 semanas a 37°C. Luego, se realizó la caracterización morfológica de las mismas y su identificación a nivel de género. Para las pruebas fisiológicas se realizaron los siguientes ensayos de degradación: a) de polímeros naturales como el almidón, celulosa y hemicelulosa, en medio basal con los diversos sustratos a testear; b) del polímero sintético (PP), utilizando láminas de 1 x 1 cm, en medio líquido y agar. Ambos ensayos fueron inoculados con las cepas y cultivados durante 6 semanas a 37°C. Luego se observaron halos de actividad y se midieron parámetros como pérdida de peso en las láminas y colonización de la superficie del PP. Los datos fueron analizados con ANOVA y test de Tukey. En total se aislaron 35 cepas, y el 88% correspondió al género *Streptomyces*, aunque también se hallaron representantes de otros géneros como *Saccharomonospora*, *Actinomadura* y *Pseudonocardia*. El 63% de las cepas degradó almidón; mientras que para la celulosa el 88% (endoglucanasas) y 34% (exoglucanasas), y el 86% para la hemicelulosa. Se observaron diferencias significativas en la pérdida de peso del polipropileno por parte de las cepas *Streptomyces* sp. MP32 y *Actinomadura* sp. MP5. A nivel de microscopía electrónica, ambas mostraron gran colonización de la superficie del PP con desarrollo de hifas y/o esporas. Estos resultados preliminares muestran el potencial que tienen las actinobacterias en degradar diversos polímeros, como el polipropileno, y su posible capacidad para ser utilizadas en bioremediación de ambientes contaminados.

ESTUDIO DE APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN ASISTIDA SOBRE LIXIVIADOS GENERADOS EN LAS ESTACIONES DE SERVICIOS

Luciana Cambarieri (1)*, Adrián Acuña (1)

(1) Grupo de Estudios Ambientales (GEA), Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Santa Cruz, Río Gallegos, Santa Cruz, Argentina.

La biorremediación asistida es una técnica biológica ampliamente utilizada para la descontaminación de aguas y suelos. Consiste en el empleo de microorganismos para la degradación de contaminantes, transformándolos en compuestos inocuos o menos tóxicos. Para aumentar la eficiencia de la técnica, pueden incorporarse nutrientes (bioestimulación) o inocular microorganismos especializados (bioaumento). El objetivo de este trabajo fue estudiar la factibilidad de biodegradación sobre suelos los lixiviados generados en estaciones de servicio del sur de Santa Cruz. Para ello se tomaron muestras de lixiviados de una estación de servicio de una empresa en la ciudad de Río Gallegos. Se utilizaron frascos de vidrio de 1 l para la recolección del lixiviado presente en las cámaras de almacenaje de los mismos. Las muestras se sometieron a una separación física utilizando ampollas de decantación, para separar la fase acuosa de la líquida no acuosa. Una vez obtenida esta última fase, se procedió a analizar su composición por cromatografía gaseosa con detección por espectrometría de masas. Se efectuaron ensayos de biorremediación asistida en microcosmos a base de suelo no contaminado. La relación C:N:P: empleada fue 100:2,5:0,25, 10% de humedad y se añadió 3% del residuo de interés. Los sistemas se incubaron 100 días a 28 °C. Se monitorearon por cuantificación de dióxido de carbono generado por la mineralización de hidrocarburos, cada dos días. Muestras de suelos fueron tomadas a 0, 21, 41, 63, 80 y 100 días para determinar contenido de hidrocarburos por GC/FID, conteo de bacterias aerobias totales (BAT) y bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH). La fase no acuosa del residuo presentó una composición de hidrocarburos cuyos componentes mayoritarios fueron n-alcanos comprendidos entre dodecano y pentacosano, mostrando un perfil de hidrocarburos similar al de gasoil. Por otro lado, se evidenció que la mineralización alcanzó un valor máximo de 14.000 mg CO₂ por kilo de suelo y un porcentaje de biodegradación cercano al 80%. En referencia al número de BAT y BDH, presentaron valores máximos de 2,48E+10 y 6,20E+09 UFC/g_{suelo} a los 41 días de la experiencia. A partir de los resultados obtenidos, concluimos que la aplicación de la técnica de biorremediación asistida es factible para la degradación de los hidrocarburos presentes en el lixiviado estudiado, siendo este método biológico una alternativa eficaz y sustentable para su tratamiento.

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE UN RESIDUO PECUARIO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN EL SUDESTE BONAERENSE

Claudia Castellari (1)*, Facundo Marcos Valle (1), Walter Glessi (1), Mercedes Echarte (1,2), Yolanda Andreoli (1)

(1) Unidad Integrada Balcarce (FCA, UNMdP – EEA Balcarce, INTA), Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET.

El biogás, como fuente de energía renovable, juega un rol vital en el suministro sostenible de energía y la mitigación del cambio climático. La producción de biogás mediante digestión microbiana de la materia orgánica, permite convertir residuos animales y vegetales en CH₄ (50-70%), CO₂ (30–50%) y un digestato rico en nutrientes. En el Sudeste Bonaerense, gran cantidad de comunidades rurales tiene acceso limitado a la energía, dependiendo así de una matriz energética compleja. Simultáneamente, estas comunidades desarrollan actividades agrícolas y/o ganaderas que en ocasiones contaminan su ambiente y que, por otra parte, son potenciales materias primas para la generación de biogás. El objetivo del trabajo fue determinar la carga microbiana de una mezcla de residuos de gallinas:cerdos (4:1), sin renovación, incubado en baño termostático a 30 y 40°C durante 812 h. Se determinaron bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT), coliformes totales (CT) y hongos filamentosos y levaduras (HFyL) a través del recuento de colonias en placa de Petri con medios de cultivo específicos para cada grupo. Los recuentos disminuyeron conforme avanzó la incubación independientemente de la temperatura. El recuento inicial de BAMT fue de 8,3 log₁₀ UFC/ml y luego de 812 h la población se redujo a 5,78 y 5,88 log₁₀ UFC/ml a 30°C y 40°C, respectivamente. El recuento inicial de CT fue de 6,9 log₁₀ UFC/ml y luego de 812 h se redujo a 0,3 y 1,08 log₁₀ UFC/ml a 30°C y 40°C, respectivamente. El hecho de que el recuento a 40°C sea superior al registrado a los 30°C sugiere la presencia de coliformes termotolerantes (ej. *E. coli*). El recuento inicial de HFyL fue de 5,02 log₁₀ UFC/ml y luego de 812 h se redujo a 2,87 y 3,48 log₁₀ UFC/ml a 30°C y 40°C, respectivamente. Se pudo observar que en la incubación a 30°C los recuentos disminuyeron de forma casi lineal hasta las 600 h y luego los valores se incrementaron en más de un orden lo que se atribuye a la presencia de levaduras. En cambio, cuando las muestras se incubaron a 40°C, los recuentos se mantuvieron sin variaciones hasta las 500 h y luego de una disminución, volvieron a aumentar. Este incremento podría estar asociado a un cambio en la composición de la biota fúngica dominada por hongos filamentosos. La cinética de digestión de la mezcla fue relacionada junto a otros parámetros con la producción de biogás con el fin de conocer el potencial de producción de los residuos disponibles para esta zona de la provincia de Buenos Aires.

EFFECTO DEL PRE-ENRIQUECIMIENTO DE MICROORGANISMOS A PARTIR DE MUESTRAS AMBIENTALES SOBRE LA EFICIENCIA DE DEGRADACIÓN DE EFLUENTES TEXTILES

María Belén Ceretta (1,3)*, Débora Nercessian (2,3), Jorge Froilán González (1,4), Erika Alejandra Wolski (1,3)

(1) Grupo de Ingeniería Bioquímica, Dep. de Ingeniería Química y Alimentos, Facultad de Ingeniería, UNMdP, Mar del Plata, Argentina. (2) Inst. de Investigaciones Biológicas, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP-CONICET, Mar del Plata, Argentina. (3) Consejo Nac. de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (4) Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC), Argentina.

Los efluentes textiles (ET) contienen azo colorantes, estos afectan la solubilidad del oxígeno en el agua, la penetración de la luz, la productividad primaria; causando severos problemas ambientales. Su degradación biológica es un proceso arduo en el que participan múltiples enzimas e intermediarios metabólicos, y difícilmente puede ser llevada a cabo por un único microorganismo. En efecto, el uso de comunidades microbianas donde coexisten diversas rutas metabólicas es una buena alternativa para su degradación. En el presente trabajo se estudió la degradación biológica de un ET, utilizando microorganismos tomados de un área contaminada con dicho efluente. Las muestras biológicas fueron pre-enriquecidas en caldos Luria Bertani (LB) o Papa-Glucosa (PG). Mediante cultivo en placa y tinción Gram, se comprobó la presencia de distintas morfologías bacterianas en dichos medios. El ET se inoculó con los microorganismos crecidos en LB o PG. Como control se utilizó ET sin inocular. Todos los tratamientos se incubaron en condiciones de microaerofilia, oscuridad y a 25°C, durante 96 h y se determinaron los siguientes parámetros: velocidad de decoloración, pH, DQO, aminas aromáticas, productos de degradación mediante HPLC y biomasa. En el control no se observaron cambios significativos para ninguno de los parámetros mencionados. El tratamiento LB presentó una velocidad de decoloración de $6,96 \pm 1,69$ ppm/h, mientras que para PG fue de $2,37 \pm 0,55$ ppm/h. Sin embargo, en este último el porcentaje de decoloración a tiempo final fue mayor: $69,76 \pm 6,63\%$ para LB y $88,0327 \pm 4,29\%$ para PG. Además, PG provocó una marcada disminución en el pH, de 8,35 (ET sin tratar) a 5,34. La DQO del ET sin tratar fue de $3300 \pm 443,8$ mgO₂/l; mientras que luego del tratamiento LB fue de $2632 \pm 169,7$ y de $594 \pm 132,9$ mgO₂/l para PG. Además, ambos casos presentaron un aumento en el contenido de aminas aromáticas de aproximadamente un 50%. Los perfiles cromatográficos exhibieron diferencias considerables entre ambos tratamientos, lo que indicaría diferencias sustanciales durante el proceso de degradación. Respecto a la biomasa, en LB se observó un aumento inicial que luego se conservó en torno a $0,64 \pm 0,05$ µgADN/ml; mientras que en PG, si bien se observó un aumento inicial, luego disminuyó, manteniéndose en $0,31 \pm 0,08$ µgADN/ml. Finalmente, consideramos que el consorcio bacteriano obtenido con el medio de cultivo PG presenta una mayor eficiencia para el tratamiento de ET que el obtenido en medio LB.

ESTUDIO DE ALTERNATIVAS BIOLÓGICAS PARA REDUCIR EL VOLUMEN DE EFLUENTES DE SENTINAS. ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD DEMULSIFICADORA Y DEGRADADORA DE HIDROCARBUROS DE MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS

Georgina Corti-Monzón (1)^{a*}, Melina Nisenbaum (1)^a, Mónica Espinosa (2), Fuad Ameen (3), Narjol Gonzalez-Escalona (4), Silvia Murialdo (1)

(1) Grupo de Ingeniería Bioquímica, FI, Univ. Nac. de Mar del Plata, INCIITA, CONICET, Mar del Plata, Argentina. (2) Centro de Análisis de Alimentos y Medio Ambiente, Fares Taie Inst. de Análisis, Mar del Plata, Argentina. (3) Dep. of Botany and Microbiology, College of Science, King Saud University, Saudi Arabia. (4) Molecular Methods & Subtyping Branch, Division of Microbiology, Office of Regulatory Science, Center for Food Safety and Applied Nutrition, FDA, College Park, USA. ^aEstos autores contribuyeron igualmente en este trabajo.

Las aguas de sentina son residuos oleosos-acuosos generados en los buques e importantes fuentes de contaminación marina por hidrocarburos (HC). Algunos barcos llevan a bordo un equipo que separa el agua de este residuo, liberándola mar si la concentración de HC es menor a 15 ppm (MARPOL), reduciendo así la cantidad de residuo a tratar en tierra. Estos equipos poseen baja eficiencia para tratar las emulsiones de los HC, lo cual incrementa el volumen de efluente a tratar. La bio-demulsificación y biodegradación son estrategias de bajo costo e impacto ambiental interesantes para el tratamiento de las sentinas. El objetivo de este trabajo es el estudio de la capacidad demulsificadora y degradadora de HC de microorganismos propios de aguas de sentina, a fin aumentar la eficiencia del equipo y disminuir el volumen de efluente a tratar. Capacidad degradadora: se analizó la habilidad de un consorcio microbiano autóctono de sentinas (CZ) de degradar HC de sentina en cultivos en batch (con baja agitación y sin cierre estanco para simular las condiciones de la sentina en el buque). Al día 33 se observó una remoción del 78% de HC totales, con una importante pérdida abiótica (60%); una mayor degradación de HC alifáticos que aromáticos y una remoción del 100% de HC poliaromáticos. No se detectó producción de surfactantes a lo largo del tiempo ni variación en los metales pesados presentes (Pb y Zn). Se está caracterizando la composición microbiana a través del proceso de degradación por Illumina. Se identificaron (sec. del 16S) cepas bacterianas cultivables: *Kocurea rosea*, *Kocuria* sp., *Dietzia maris*, *Pseudomonas* sp., *P. stutzeri*; y cepas de hongos (sec. del 18S): *Tritirachium* sp., *Meyerozyma guilliermondii*, *Alternaria atra*, *Cladosporium allicinum*, *Candida albicans*, *Penicillium polonicum*, *Fusarium* sp. Capacidad demulsificadora: se evaluó utilizando una emulsión modelo (OMI). El CZ no mostró capacidad demulsificante. Se testearon otros 7 consorcios aislados de distintas aguas de sentina, uno de los cuales mostró habilidad demulsificante y fue enviado a identificar. Se evaluó la capacidad de demulsificación del quitosano el cual actuó instantáneamente rompiendo la emulsión modelo. Los resultados obtenidos permitirán avanzar en la investigación para optimizar la biodemulsificación con quitosano y el consorcio biodemulsificante, así como para aumentar la capacidad degradadora del CZ empleando bioaumentación y bioestimulación.

ENUMERACIÓN DE COLIFECALES EN OPERACIONES DE LIMPIEZA DE MATERIALES DE CORRAL DE ENCIERRO

Lina Lett (1)*, Guido Rivero (1), Facundo Oliva (1), María Dublan (1), Rodrigo Galizio (1), Gabriela Portela (1), Silvia Mestelan (2)

(1) Lab. Integrado de Microbiología Agrícola y de los Alimentos (LIMAyA). Facultad de Agronomía, UNCPBA. Azul, Argentina. (2) Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía (LASFA). UNCPBA. Azul, Argentina.

La producción de carne bovina en feedlot ha ganado adeptos en la Argentina en estos años y la provincia de Buenos Aires registra el mayor número de establecimientos a nivel país. Una problemática asociada a esta producción es la contaminación generada por las deyecciones de los animales confinados, siendo el compostaje una alternativa que permite controlar los efectos adversos de la fracción sólida de los corrales. El compost es un material estable y seguro que permite ser liberado al medio ambiente; sin embargo, la operatoria de producción debe lograr un material orgánico libre de patógenos y sustancias tóxicas. Su control establece, entre otros indicadores, la enumeración de colifecales (CF) y mediciones de estabilidad generados bajo condiciones de descomposición microbiana controlada. El estudio consistió en analizar las operatorias de limpieza de corrales en tres establecimientos del centro provincial con distintas escalas productivas, F1, F2 y F3 con 15.000, 10.000 y 5.000 animales por año, respectivamente. Mientras que F1 y F2 acondiciona el material en trincheras fuera de los corrales, F3 acumula el residuo en corral y luego en pilas de compostaje. Para el recuento de CF se empleó el método NMP EPA 1680 y se cuantificó la evolución de CO₂ microbiana acumulada, el carbono soluble y la humedad. Los CF se correlacionaron con los indicadores de estabilidad. En adición, se monitoreó la presencia de los genes de virulencia *stx*₁, *stx*₂ y *eae*, representativos de *Escherichia coli* STEC, en 59 masas de EMB con PCR multiplex. F3 exhibió correlaciones $r \geq 0,80$, con alta carga de CF en materiales frescos y baja o nula en pilas estabilizadas. En cambio, F1 y F2 revelaron bajas correlaciones y sólo un 22% de los materiales fueron estables. El 43% de los materiales inestables de F1 exhibieron valores $\geq \log 3$ para el límite superior del intervalo, posiblemente favorecidos por condiciones de humedad con presencia de material arcilloso. En F2 sólo una trinchera alcanzó un $\log=2,5$ de CF. Las restantes trincheras inestables mostraron escasa carga. Por último, F1 obtuvo un 1,7% de muestras positivas para el gen *stx*₂ en una trinchera con bajo número de CF e inestable, mientras que no se verificaron amplificaciones para *stx*₁ y *eae*. Entre los diferentes manejos utilizados las trincheras revelaron menor capacidad de control de patógenos. Este estudio demuestra la necesidad de generar políticas públicas para el manejo de estos materiales y su liberación segura al medio ambiente.

REMOCIÓN DE CARGA ORGÁNICA Y AMONIO A TRAVÉS DE DIGESTIÓN ANAERÓBICA, AERÓBICA Y ANÓXICA DE AGUAS RESIDUÁRIAS DE LA PRODUCCIÓN BOVINA DE LECHE

Alexandra Moya (1)*, Renata Sampaio (1), Luciano Santos Rodrigues (2),
Roberto Alves de Oliveira (1)

(1) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, Brasil. (2) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

La disponibilidad de fuentes de alimento es vital para el desenvolvimiento y prosperidad de los países. La producción animal intensiva, como la producción bovina de leche, genera grandes residuos líquidos y sólidos. La digestión anaeróbica es el tratamiento de desechos comúnmente usado en esta producción pero origina un efluente con cargas elevadas de materia orgánica y amonio. Como alternativa para reducir estos contaminantes, el pos tratamiento aeróbico y anóxico fue implementado. Esta investigación analizó la remoción de materia orgánica mediante una digestión anaeróbica en dos reactores (R1 - 289,4 l ABR/ R2 - 162,5 l ABR) aplicando dos diferentes TDH, y la remoción de materia orgánica y amonio a través del pos tratamiento del efluente proveniente del sistema ABR utilizando un filtro aireado sumergido (FAS) (160,6 l) y un reactor de flujo ascendente con manta de lodo anóxico (USB_{nox}) (120 l). El desenvolvimiento de los reactores fue monitoreado a través de análisis de DQO, TS, TVS, NH₃-N y pH siguiendo los procesos establecidos en métodos estándares. Los datos se graficaron en función del tiempo de operación y TDH, además de proporcionar valores medios y CV (%). La remoción de DQO con TDH 60h fue de 74% mientras que un TDH 48h removió solamente el 44%. El sistema pos tratamiento FAS-USB_{nox} removió un 81% (CV 24%) de materia orgánica. El efluente proveniente de los reactores ABR_(TDH 48h) obtuvo una $\mu = 313$ mg/L NH₃-N y el sistema de pos tratamiento FAS-USB_{nox} generó una remoción de amonio del 63% con un CV de 24%. Se concluye que 1) un TDH de 60h dentro de un sistema anaeróbico de aguas residuárias de la producción bovina lechera remueve más materia orgánica que un TDH de 48h, 2) el tratamiento anaeróbico de aguas residuárias de la producción bovina de leche reduce materia orgánica pero aumenta residuos inorgánicos, y 3) el pos tratamiento FAS-USB_{nox} logró remover materia orgánica y amonio al mismo tiempo.

EVALUACIÓN DE UNA LACASA TERMOFÍLICA RECOMBINANTE EN LA DEGRADACIÓN DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

Laura Navas (1,2)*, María Eugenia Taverna (3,4), Verónica Nicolau (4), Diana Estenoz (3), Fernando Martínez (2), Eleonora Campos (1,5), Graciela Benintende (2), Marcelo Berretta (2,1)

(1) CONICET, Argentina. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Argentina. (3) Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química, INTEC (UNL-CONICET, Argentina). (4) GPol, UTN, Facultad Regional San Francisco, Argentina. (5) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Biotecnología, Argentina.

Existe una gran diversidad de enzimas con actividad sobre los principales componentes de la biomasa lignocelulósica que en la actualidad son objeto de intensa investigación para ser utilizadas en la producción de bioetanol de segunda generación. En los pretratamientos enzimáticos de dicha biomasa juegan un rol fundamental las lacasas, enzimas que degradan lignina, permitiendo mejorar el rendimiento de la sacarificación. Para dicha degradación, generalmente, se requiere la presencia de mediadores redox que actúan como transportadores de electrones entre la estructura de lignina y el sitio activo de la lacasa. En trabajos previos del grupo, se expresó en *Escherichia coli* una enzima lacasa termofílica (LAC_2.9) de un aislamiento bacteriano nativo, *Thermus* sp. 2.9. En este trabajo, se estudió la modificación de biomasa de *Eucalyptus grandis* luego del tratamiento con LAC_2.9. Las reacciones enzimáticas se realizaron a 60°C en presencia y ausencia de dos mediadores redox: 1-hydroxybenzotriazole (HBT) y p-hydroxybenzoic acid (pHBA). Los cambios estructurales producidos en la biomasa se analizaron utilizando espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y termogravimetría (TGA) bajo atmósfera inerte. Los espectros FTIR de biomasa de *E. grandis* muestran que las señales correspondientes a los grupos aromáticos de la lignina (1514, 1595/cm) y a los grupos carbonilos de la hemicelulosa (1732/cm) disminuyeron en las muestras tratadas con lacasa y mediadores. Las señales correspondientes a la celulosa (1240, 1150, 1090, 1050, 1020 y 897/cm) aumentaron ligeramente en muestras tratadas con LAC_2.9 sin mediadores, y más aún en muestras tratadas en presencia de mediadores. Los resultados del TGA correspondiente a la biomasa de *E. grandis* no tratada, muestran un 28% de residuo carbonoso ('char') y una pérdida de masa a 335°C debido a la descomposición de la celulosa. El tratamiento enzimático produjo un leve aumento de la temperatura de descomposición de la celulosa, disminuyendo el char; lo cual es indicativo de la ruptura de la estructura aromática de la lignina. Estos efectos fueron más evidentes en muestras tratadas en presencia de ambos mediadores redox. Como conclusión, la enzima LAC_2.9 demostró actividad en la degradación de lignina de biomasa de *E. grandis* utilizando mediadores redox en la reacción. Estos resultados resultan promisorios para su evaluación en la degradación de biomásas de diferente origen en el proceso de obtención de bioetanol.

PRODUCCIÓN DE DOS LACASAS TERMÓFILAS RECOMBINANTES CON APLICACIÓN EN DECOLORACIÓN DE COLORANTES SINTÉTICOS

Laura Navas (1,2)*, Fernando Martínez (2), Eliana Malignani (1,3), Laura Levin (1,3), Eleonora Campos (1,4), Graciela Benintende (2), Marcelo Berretta (2,1)

(1) CONICET. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola. (3) Laboratorio de Micología Experimental, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. (4) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Biotecnología.

Las lacasas son enzimas polifenol oxidasas de unión a cobre que catalizan la oxidación de una amplia gama de compuestos fenólicos. Poseen variadas aplicaciones industriales, entre ellas, el tratamiento de efluentes de la industria textil, que contienen colorantes sintéticos y pueden resultar tóxicos. El uso de lacasas capaces de degradar pigmentos de distinta naturaleza química es actualmente un área de intensa investigación. Además, por su resistencia a condiciones adversas, las enzimas provenientes de organismos extremófilos resultan de mayor atención. En trabajos previos identificamos genes con similitud a lacasas en el genoma de la bacteria termófila *Geobacillus* sp. T6, de crecimiento óptimo a 65°C, aislada de aguas termales por nuestro grupo de trabajo. En este trabajo se evaluaron dos lacasas, LAC63 y LAC69, en ensayos de decoloración de tres colorantes de diferente estructura química: naranja de metilo (azoico), azul de bromofenol (trifenilmetánico) e índigo carmín (indigoico). Los genes fueron clonados y se estandarizaron las condiciones de expresión en *Escherichia coli* para obtener las enzimas recombinantes activas frente al sustrato ABTS. Las enzimas se purificaron y ensayaron con los colorantes a 65°C. Del análisis de la secuencia aminoacídica puede predecirse que LAC63 presenta una organización estructural de 3 dominios mientras que LAC69 presenta sólo 2 dominios, los cuales alinean con alta similitud de secuencia, con los dominios 1 y 3 de LAC63. Se obtuvieron proteínas del peso molecular esperado (~59 y ~36 kDa para LAC63 y LAC69, respectivamente) en sus formas activas cuando se expresaron en presencia de cobre en el medio de cultivo. LAC63 se obtuvo en forma soluble, mientras que LAC69 mayormente en cuerpos de inclusión, posteriormente solubilizados. La mayor eficiencia en la decoloración se obtuvo con la enzima LAC69, degradando completamente el índigo carmín en una hora. Los porcentajes de decoloración del naranja de metilo y azul de bromofenol por la enzima LAC69 se encuentran en 60 y 35%, respectivamente, luego de 24 horas; y son levemente mayores que los obtenidos para LAC63. En conclusión, se dispone de dos lacasas termófilas con capacidad para decolorar colorantes de diferente estructura química con potencial para el tratamiento de efluentes textiles. La lacasa de dos dominios mostró mayor efectividad que la de tres, demostrando que las diferencias estructurales predichas conducen a diferencias en su actividad catalítica.

SESION DE POSTERS B

ÁREA TEMÁTICA

Hongos y levaduras ambientales

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE ESPECIES DE *Aspergillus* DE LA SECCIÓN *FLAVI* EN PRESENCIA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE GLIFOSATO

Nicolás Benito (1)*, Cecilia Carranza (1), Melisa Aluffi (1), Juan P. Regnicoli (1), Stella Chiacchiera (2), Carina Magnoli (1), Carla Barberis (1)

(1) Dpto. de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Fco.- Qcas. y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (2) Dpto. de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Fco.- Qcas. y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Dentro de las infecciones del maíz, la podredumbre de la mazorca por *Aspergillus flavus* es una de las más importante. Determinadas dosis de glifosato podrían aumentar la velocidad de crecimiento y disminuir la fase de latencia de cepas de *Aspergillus* sección *Flavi* afectando la severidad de la infección. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de glifosato sobre la fase de latencia y la velocidad de crecimiento de cepas de *A.* sección *Flavi* en granos de maíz, bajo diferentes condiciones de actividad de agua (a_w) y temperaturas. Tres cepas de *A. flavus* aisladas de campos maiceros de Argentina (AFM16, AFM78, AFM79) y una cepa de referencia de *A. parasiticus* fueron inoculadas por triplicado en placas conteniendo medio agar harina de maíz con 0 (Control), 30 y 300 mM de glifosato y a 0.92, 0.94, 0.96, 0.98 y 0.995 de a_w . Se incubaron a 15, 25 y 37°C durante 21 días. Se calculó la velocidad de crecimiento y la fase de latencia para cada una de las condiciones ensayadas. En los controles y con 30 mM a 0.995 y 0.92 de a_w , las velocidades de crecimiento de las cepas a 37°C se mantuvieron constantes ($p < 0,05$). Sin embargo, con 30 mM y a 0.995 de a_w , la cepa AFM16 presentó un incremento significativo (10.5%) con respecto al control. Con 30 mM y 0.92 de a_w , la cepa AFM78 mostró un aumento del 88% en su velocidad de crecimiento. A 25°C, entre 0.92 y 0.96 de a_w no existió diferencias significativas entre los controles y con 30 mM. A 0.98 de a_w , con 30 mM, la cepa *A. parasiticus* NRRL 2999 presentó un aumento significativo de la velocidad de crecimiento que alcanzó un 83%. En general a 15°C, las cepas mantuvieron constante sus velocidades de crecimiento a medida que aumentó la concentración del glifosato. Sin embargo, a 0.98 de a_w y con 30 mM, las cepas AFM 79 y AFM 16 mostraron un aumento significativo con respecto a los controles del 20% y 90.4%, respectivamente. En concordancia con los resultados obtenidos en la velocidad de crecimiento se determinó que a 37°C las fases de latencia se mantuvieron constantes o disminuyeron con 30 mM ($p < 0,05$). Por otro lado, a 25°C, las cuatro cepas mantuvieron constante o disminuyeron su fase de latencia con 30 mM y a todas las a_w ensayadas. A 15°C se pudo observar una tendencia de las cepas a disminuir significativamente su fase de latencia con 30 mM de glifosato. El glifosato adicionado en concentraciones similares a las utilizadas a campo favorece el desarrollo de estos hongos.

***Polymyxa graminis* EN CULTIVOS DE ARROZ EN ARGENTINA**

María A. Cúndom (1), Susana A. Gutiérrez (1)*, Carolina Peichotto (1,2), María F. Maurino (3),
Marcos G. Celli (3), María de la Paz Gimenez Pecci (4)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE, Corrientes, Argentina. (1,2) IBONE. (3) CONICET, Córdoba, Argentina. (4) Instituto de Patología Vegetal (IPAVE-CIAP-INTA), Córdoba, Argentina.

Durante la campaña 2016-2017, en cultivos de arroz en distintas localidades de la provincia de Corrientes y norte de Santa Fe, Argentina, se observaron plantas muertas que rebrotaban, desarrollando macollos deformados, retorcidos formando un tirabuzón, con láminas foliares de color verde más oscuro, bordes aserrados, nervaduras engrosadas, deformadas, o con áreas cloróticas con forma de bandas o líneas amarillentas dispersas, que evolucionaban a un color castaño rojizo a oscuro, con posterior necrosis. Panojas vanas compactas, totalmente deformadas. Esta sintomatología es compatible con la enfermedad conocida como entorchamiento del arroz, cuyo agente causal es *Rice stripe necrosis virus* (RSNV), transmitido exclusivamente por *Polymyxa graminis*, protista, no patógeno, pero parásito obligado de raíces de plantas como cebada, trigo y arroz. Ante esta situación, se realizó este trabajo para determinar la presencia del vector. Se extrajeron raíces de plantas de arroz con los síntomas mencionados; se realizaron cortes longitudinales a mano alzada, que fueron coloreados con fucsina y observados al microscopio óptico (400X). Se pudo detectar la presencia de cistosoros característicos de *P. graminis*. Los ácidos nucleídos totales de las raíces de una muestra fueron extraídos y mediante reacción de PCR utilizando los cebadores específicos "PxRealF y PxRealR" (Ward et al., 2005), se pudo amplificar un fragmento del tamaño esperado (127 pares de bases). De esta manera se concluye que *P. graminis*, vector del RSNV, está presente en cultivos de arroz muestreados en las provincias de Corrientes y norte de Santa Fe.

ASOCIACIÓN ENTRE ENDOFITOS *Epichloë* Y ESPECIES DE *Trichoderma* AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE *Bromus auleticus*

Eugenia Lanari (1)*, Maria Valeria Avanzato(2), Leopoldo Javier Iannone (3), María Victoria Novas (1)

(1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. CONICET, Instituto de Micología y Botánica (INMIBO), CABA, Argentina. (2) University of Arkansas-Fayetteville, Coker College, Hartsville, EEUU. (3) UBA, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química, CONICET, INMIBO, CABA, Argentina.

Bromus auleticus es una gramínea nativa perenne, considerada una excelente forrajera invernal. Sus poblaciones se encuentran asociadas a hongos endofitos del género *Epichloë*, los cuales establecen asociaciones mutualistas con gramíneas C3 colonizando sistémica e intercelularmente los tejidos aéreos. Se transmiten verticalmente a través de las semillas por lo que esta asociación es previa a que la planta establezca interacciones con otros microorganismos. Evidencias indican que los endofitos *Epichloë* otorgan beneficios a sus hospedantes por medio de metabolitos que producen dentro de las plantas, los que podrían ser excretados a través de las raíces, afectando las comunidades microbianas del suelo. El objetivo fue evaluar la abundancia y diversidad de cepas de *Trichoderma* en la rizosfera de plantas de *B. auleticus* asociadas (E+) o no (E-) a *E. tembladera*. Se tomaron muestras de raíces de 8 plantas E+ y de 8 plantas E- cultivadas en el campo experimental del INTA Concepción del Uruguay. Para el aislamiento de *Trichoderma*, de cada planta se cortaron fragmentos de raíz de 1,5-2 cm que fueron lavados con agua durante 15 min y suavemente desinfectados superficialmente (hipoclorito de sodio 0,5% 2 min, enjuague con agua estéril y secado con papel estéril). Se sembraron 15 fragmentos por planta en cajas de Petri (90mmØ) en medio agar-agua con cloranfenicol (100µg/ml), 3 placas por planta y fueron incubados a 24°C en oscuridad. Ante la detección de colonias asociadas a las raíces se realizaron repiques en agar-papa-glucosado con mismo antibiótico hasta obtener cultivos puros. La identificación se realizó analizando características morfofisiológicas macro y microscópicas. Se obtuvieron 38 aislamientos con características afines a especies de *Trichoderma*, que fueron agrupados en 6 morfotipos: 1 de identificación incierta y 5 identificados como afín a *T. harzianum*, *T. gamsii*, *T. saturnisporum*, *T. sp.nov. 1*, *T. sp.nov. 2*. Se comparó la diversidad entre plantas E+ y E- utilizando los índices de Shannon (H) y Simpson inverso (1/D). Se encontró mayor diversidad y abundancia de cepas de *Trichoderma* en las plantas asociadas a *Epichloë* ($H(E+) = 1,54$; $H(E-) = 1,40$. $1/D(E+) = 4,44$; $1/D(E-) = 3,68$), sugiriendo que podría modular la comunidad fúngica asociada. Cepas afines a *T. harzianum* fueron aisladas únicamente de plantas E+. Considerando que son potenciales biocontroladores, podría ser un beneficio otorgado por *Epichloë*.

LEVADURAS AUTÓCTONAS DE INTERÉS ENOLÓGICO EN LA REGIÓN DEL SUDESTE BONAERENSE, ARGENTINA

Estefania Pereyra (1), Facundo Marcos Valle (1)*, Carlos Godoy (1), Claudia Castellari (1), Ezequiel Ortego (2), Yolanda Andreoli (1)

(1) Unidad Integrada Balcarce (FCA, UNMdP – EEA Balcarce, INTA), Buenos Aires, Argentina. (2) Viñedo Experimental Costa y Pampa, Chapadmalal, partido de General Pueyrredón, Buenos Aires, Argentina.

En la actualidad, las bodegas buscan posicionarse en el mercado mundial a través de la diferenciación de sus productos con características propias de la región donde el uso de levaduras autóctonas permitiría lograr tipicidad en los vinos. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar y caracterizar las levaduras nativas presentes en racimos y en el mosto de uvas de las variedades *Pinot Noir* (PN) y *Chardonnay* (CH) cultivadas en un viñedo de la región sudeste de la provincia de Buenos Aires y relacionarlas con las características del sustrato. Para esto, en el viñedo se cosecharon racimos de ambas variedades y en la bodega se recolectó el mosto de cada variedad en botellas estériles. El muestreo del mosto se realizó en diferentes tiempos de la fermentación gobernada por la flora nativa. Se cuantificaron e identificaron las poblaciones de levaduras y se evaluaron parámetros físicos y químicos del sustrato como pH y sólidos solubles. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y test de medias según Tukey (5%). La concentración de sólidos solubles fue de 20,6 y 16,6 °Brix para las uvas de CH y PN, respectivamente, y dichos valores disminuyeron cuando avanzó la fermentación de los mostos. El pH de los mostos fue, en promedio, de 3,38 y 3,74 para las variedades CH y PN, respectivamente, valores citados por la bibliografía para dichas variedades. No se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el recuento de levaduras en ambas variedades de uvas siendo en promedio de 4,5 \log_{10} UFC/g. En las uvas de CH se aisló *Rhodotorula mucilaginosa* y *Candida parapsilosis* y en las bayas de PN se identificó *Zygosaccharomyces bisporus* y *Kloeckera apiculata*. El recuento de levaduras fue superior en los mostos registrando recuentos promedio de 6,87 y 7,99 \log_{10} UFC/ml para las variedades CH y PN, respectivamente. La diversidad de levaduras disminuyó desde las uvas hasta la fermentación donde solo se identificó *C. parapsilosis* en los mostos de ambas variedades. Por esto, *C. parapsilosis* (cepa autóctona de la zona de estudio) podría ser considerada en futuras evaluaciones de fermentaciones, ya sea como especie única o en fermentaciones mixtas con *Saccharomyces cerevisiae* (cepa comercial). Resaltar las cualidades distintivas de las fermentaciones espontáneas, es una meta a lograr en los viñedos de la región.

EVALUACIÓN IN VITRO DE AISLADOS DE *Trichoderma* sp. SOBRE *Sclerotium oryzae*Valentina Solís (1), Susana A. Gutiérrez (1)*, María A. Cúndom (1)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE, Corrientes, Argentina.

La provincia de Corrientes es la principal productora de arroz de Argentina. El cultivo es afectado por enfermedades causadas por hongos de suelo, entre los cuales, *Sclerotium oryzae*, ocasiona la podredumbre del tallo del arroz, con síntomas en vainas foliares y tallos (debilitamiento, podredumbre y vuelco de plantas). Actualmente esta enfermedad presenta 100% de prevalencia en la zona de producción e incidencias entre 5-45%. A fin de evaluar alternativas de control del patógeno, se iniciaron estudios de antagonismo de cuatro aislados de *Trichoderma* (3 procedentes de rastrojos de arroz y un formulado), sobre tres aislados de *S. oryzae* (procedentes de tejidos enfermos). Mediante cultivos duales, se enfrentaron dos discos de inóculo de ambos organismos en cajas de Petri con agar papa glucosa. Las cajas se incubaron en oscuridad a $27 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 10 días, midiendo a los 3, 6 y 9 días el crecimiento de ambos. La eficacia de los aislados del biocontrolador fue evaluada mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento, y su ubicación en la escala notas de Bell et al. (1982). Todos los aislados de *Trichoderma* redujeron el crecimiento micelial del patógeno, observándose el siguiente comportamiento según orden decreciente: T4 (47,7%), T2 (46,6%), T3 (45,2%) y T1 (40,7%) respectivamente. La capacidad antagónica de los aislados probados, se clasificó en la escala 2 (observándose un sobrecrecimiento del biocontrolador que coloniza al menos 2/3 de la superficie del medio). Estos resultados preliminares, indican la necesidad de continuar con las evaluaciones de nuevas cepas nativas del antagonista, en condiciones *in vitro* y en invernáculo.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD FITOPATÓGENA DE *Stemphylium vesicarium* Y *Pleospora alli* AISLADOS DE AMBIENTES RURALES DEL ALTO VALLE DEL RÍO NEGRO SOBRE FRUTOS DE PERA Y MANZANA

Carolina Temperini (1,3)*, Alejandro Pardo (2,3), Graciela Pose (1,3)

(1) Universidad Nacional de Río Negro, Villa Regina, Argentina. (2) Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina. (3) CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Stemphylium vesicarium (teleomorfo: *Pleospora alli*) ha sido ampliamente reportado en la bibliografía como especie causante de la “mancha marrón del peral” ocasionando daño tanto en frutos como en hojas debido a la presencia de sus conidios o ascosporas. La región del Alto Valle del río Negro es la principal zona productora de frutos de pepita (pera y manzana) del país, por lo cual resulta de suma importancia determinar la capacidad fitopatógena de aislamientos pertenecientes a estos géneros presentes en el aire de ambientes rurales, lo cual constituye el objetivo del presente trabajo. Los aislamientos fueron tomados del aire con un muestreador Microflow α (Aquaria) y cultivados en medio PDA por 7 días a 25°C. La patogenicidad y especificidad de hospedador de 9 aislamientos de *Pleospora alli* y 2 de *Stemphylium vesicarium* fue llevada a cabo sobre frutos de pera de las variedades Packham’s Triumph y Abate Fetel y manzanas Red Delicious que fueron empleadas como control por ser plantas reportadas como no hospedadoras de este género. Para ello se realizó una desinfección superficial de los frutos con agua destilada y los ensayos se llevaron a cabo empleando la técnica del escarbadientes que consiste en embeber de micelio palillos cortados a la mitad que luego se introducen en los frutos a 1 cm de profundidad. Escarbadientes sin micelio se utilizaron para realizar los controles. Los frutos se incubaron individualmente en bolsas de plástico transparentes cerradas a 25°C durante 14-21 días, al cabo de los cuales se registraron las lesiones. Los resultados arrojan que 10 de los 11 aislamientos testeados produjeron lesiones externas e internas en frutos de pera de ambas variedades como así también en manzanas Red Delicious. Sólo un aislamiento de *Pleospora alli* no ocasionó daños en ninguno de los frutos ensayados. Los datos obtenidos revelan la capacidad fitopatógena que poseen *Stemphylium vesicarium* y *Pleospora alli* en frutos de pepita de la región. Asimismo no se observa especificidad de hospedante como fuera reportado en la bibliografía ya que los aislamientos produjeron lesión en plantas hospedadoras como ambas variedades de pera ensayadas y en plantas no hospedadoras como manzanas de la variedad Red Delicious.

SELECCIÓN DE POTENCIALES AGENTES DE BIOCONTROL DE *Trichoderma* spp. EN EL CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* Y *Ganoderma lucidum* EN SUSTRATO A BASE DE CÁSCARA DE SEMILLA DE GIRASOL

Cristian Edgardo Weth (1), María Amelia Cubitto (1,2)*

(1) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. (2) Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles y Medicinales. Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida-CERZOS (CONICET-UNS), Bahía Blanca. Argentina.

La producción de hongos comestibles cuenta con la posibilidad de obtener grandes cantidades de un alimento apreciado por el mercado, a partir de desechos agropecuarios. La rentabilidad de esta actividad se ve afectada por varios factores, entre los principales está la enfermedad causada por *Trichoderma* spp. ("enfermedad del moho verde"); ascomicete filamentoso, celulolítico, causante de grandes pérdidas en fungicultura. Una alternativa sustentable, es su control mediante otros microorganismos. El objetivo de este estudio fue la selección de cepas bacterianas antagonistas de *Trichoderma* spp. para su aplicación en la producción de Gírgolas (*Pleurotus ostreatus*) y Reishi y (*Ganoderma lucidum*). Se estudiaron 6 cepas de *Bacillus* spp. (B6.0, B6.1, B9.1a, B9.1b, B9.3) y 1 cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (PsC), aisladas previamente de un sustrato de cáscara de semilla de girasol (CSG) empleado en la producción de setas. Se utilizó una cepa de *Trichoderma* sp. aislada de un invernadero contaminado. Se evaluó la capacidad de las cepas bacterianas para crecer en caldo CSG (6 % CSG en agua destilada), y en Agar CSG (caldo CGS + 1,2% de agar-agar). La presencia de antagonismo con *Trichoderma* sp. se evaluó mediante cocultivos en Agar CGS, donde se observó el efecto de las bacterias sobre el crecimiento radial del micelio. Además, se realizaron ensayos con los sobrenadantes de cultivo en caldo CGS, libres de células, por la técnica de difusión en agar. Finalmente, se efectuaron cocultivos y ensayos con sobrenadantes, con cepas de *P. ostreatus* y *G. lucidum* como blanco, a fin de verificar que las cepas bacterianas no inhibieran los macromicetes. El medio CSG se utilizó para aproximar las condiciones del ensayo *in vitro* a las del cultivo de gírgolas y reishi, y así de seleccionar cepas capaces de actuar en el sustrato de producción. Todas las cepas crecieron en el medio CGS y exhibieron algún grado de inhibición sobre el avance del micelio de *Trichoderma* sp. Sin embargo, las cepas B9.1b, B9.3 y PsC mostraron las mayores áreas de inhibición. En cuanto a los macromicetes, todas las cepas inhibieron el crecimiento de *G. lucidum*, pero ninguna de ellas afectó el crecimiento de *P. ostreatus*. Los sobrenadantes de los cultivos no mostraron efecto sobre *Trichoderma* sp. Estos resultados señalan a las cepas B9.1b, B9.3 y PsC como potenciales agentes de biocontrol de *Trichoderma* sp. en la producción de gírgolas en sustrato de CSG y justifican la continuación de los estudios.

SESION DE POSTERS B

ÁREA TEMÁTICA

Biodiversidad y funcionamiento de ecosistemas
acuáticos y terrestres

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE CONSORCIOS BACTERIANOS DEGRADADORES DE HIDROCARBUROS OBTENIDOS A PARTIR DE SEDIMENTOS DE AGUA DULCE CON HISTORIA DE CONTAMINACIÓN

Ana Carolina Agnello (1)*, Nicolás Fernández (1), Irma Morelli (1), María Teresa del Panno (1),
Laura Madueño (1)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), La Plata, Argentina.

La obtención de consorcios bacterianos a partir de muestras ambientales contaminadas, su estudio por métodos de secuenciación y su análisis con nuevas herramientas bioinformáticas, constituyen un buen modelo de estudio para conocer los microorganismos y las vías metabólicas implicados en la degradación de contaminantes. Con este objetivo, se caracterizó la diversidad estructural y funcional de consorcios bacterianos degradadores de hidrocarburos provenientes de sedimentos de agua dulce contaminados. Se tomaron muestras de sedimentos a 20 y 40 cm de profundidad (P₂₀ y P₄₀) a partir de las cuales se obtuvieron, por repiques sucesivos, tres consorcios microbianos en presencia de octadecano (O) o fenantreno (F) como única fuente de carbono. Se extrajo el ADN de los consorcios (P₂₀F, P₄₀F, P₄₀O), se amplificó la región V4 del gen ARNr 16S y se secuenció en la plataforma Illumina Miseq. Los datos de secuenciación se utilizaron para realizar la asignación taxonómica (*Pipeline Microbiome Helper 16S Workflow*) y funcional prediciendo *in silico* el contenido metagenómico funcional del gen marcador ARNr 16S (*software* PICRUSt). Si bien los índices estimadores de diversidad fueron semejantes en los tres consorcios (Chao1: ~92.0, Shannon: ~2.27, Simpson: ~0.81), no se observó similitud en su composición taxonómica y filogenética en el análisis de coordenadas principales. La asignación taxonómica reveló características particulares en cada muestra, siendo las familias más predominantes: *Sphingomonadaceae* (44.9%) y *Pseudomonadaceae* (40.8%) en P₂₀F, *Pseudomonadaceae* (37.5%) y *Xanthomonadaceae* (26.9%) en P₄₀F y *Gordoniaceae* (41.3%) y *Burkholderiaceae* (15.2%) en P₄₀O. Según la predicción funcional, los tres consorcios presentaron el potencial génico para la degradación de hidrocarburos aromáticos y alifáticos, independientemente del hidrocarburo usado para su obtención. Habiendo sido identificados once genes implicados en la degradación de hidrocarburos alifáticos y ocho implicados en la degradación de aromáticos, no siempre se halló una correspondencia entre el número de secuencias y el tipo de hidrocarburo usado para obtener el consorcio. Finalmente, la contribución de taxones para algunos de esos genes puso de manifiesto el fenómeno de redundancia funcional. Se espera que el conocimiento de la diversidad estructural y funcional de los consorcios permita inferir el comportamiento de comunidades microbianas autóctonas para favorecer el desarrollo de estrategias de biorremediación.

RESPIRACIÓN Y DIVERSIDAD FUNCIONAL DE COMUNIDADES MICROBIANAS EDÁFICAS EN RESPUESTA A DIFERENTES USOS DEL SUELO EN DISTINTOS PAISAJES DEL CHACO SECO

Luciana P. Di Salvo (1,2)*, Rocío Martínez (2), Flavia Salvatierra (3), María Semmartin (4), Cristina Herrero-Jáuregui (5)

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Departamento de Biología Aplicada y Alimentos, Cátedra de Microbiología Agrícola, CABA, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina. (4) Facultad de Agronomía – IFEVA (UBA CONICET). (5) Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución, Universidad Complutense de Madrid, España.

Las comunidades microbianas edáficas participan del ciclado de nutrientes, la fertilidad del suelo y el secuestro de carbono. Si bien se conoce que los cambios en el uso del suelo afectan dichas comunidades, aún no comprendemos en qué medida la configuración del paisaje puede modular ese efecto. En cuatro paisajes del NE de Santiago del Estero (Chaco Seco), que difieren en la proporción y grado de agregación de monte nativo remanente, se evaluó el efecto de los usos agrícola y pastoril sobre la respiración y la diversidad funcional potencial de comunidades microbianas edáficas. En cada uno de los cuatro paisajes y para cada tipo de uso (cultivo, pastura y monte) se tomaron muestras compuestas de suelo, considerándose dos repeticiones de cada paisaje. A partir de dichas muestras, se determinó la tasa de respiración microbiana luego de 24 horas de incubación a temperatura ambiente, mediante respirómetro portátil, y se realizaron análisis de perfiles catabólicos mediante incubaciones en microplacas con 23 sustratos carbonados, a 30°C, durante 72 horas. La tasa de respiración se evaluó mediante un ANOVA de dos factores (paisaje y uso) y sus interacciones. Los perfiles catabólicos se analizaron mediante análisis de componentes principales (ACP) y análisis discriminante (AD) y se calcularon índices de diversidad, riqueza y dominancia de las comunidades microbianas, los cuales también se analizaron mediante ANOVA. La tasa de respiración no varió entre tipos de uso ni entre paisajes, presentando un valor promedio de 2,4 $\mu\text{g CO}_2/\text{g día}$. Sin embargo, el ACP de los perfiles catabólicos mostró una relación entre la diversidad funcional de las comunidades microbianas y el uso del suelo. El AD determinó que la diversidad funcional potencial varió entre usos del suelo en interacción con la proporción de bosque remanente. Dicha interacción también fue significativa en los tres índices de diversidad evaluados. Las comunidades microbianas del monte presentaron una menor diversidad y riqueza metabólica y una mayor dominancia, particularmente en paisajes con una proporción de monte menor y más desagregada. Los resultados demuestran que tanto los usos del suelo como su configuración a nivel de paisaje afectan a las comunidades microbianas y, por tanto, a los procesos ecológicos que éstas regulan.

CULTIVOS DE COBERTURA Y BAJAS DOSIS DE FERTILIZANTES NITROGENADOS: EFECTO SOBRE LA FUNCIONALIDAD DEL SUELO EN EL LARGO PLAZO

Silvina Restovich (1)*, Silvina Portela (1), Abel Farroni (1,2), Pablo Garcia Parisi (3), Leticia Garcia (1), Pablo Copia (1), Diego Chavarria (4), Gustavo Gonzalez Anta (2), Daniela Albarracín (2)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Pergamino, Argentina. (2) Universidad Nacional del Noroeste de Buenos Aires, Pergamino, Argentina. (3) CITNOBA, CONICET – UNNOBA, Pergamino, Argentina. (4) CONICET-Instituto de Patología Vegetal (IPAVE-CIAP, INTA), Córdoba, Argentina.

La estructura del suelo junto con los contenidos de carbono y nitrógeno son atributos críticos que condicionan el funcionamiento edáfico y promueven la resiliencia y sustentabilidad de los agroecosistemas. La glomalina, glicoproteína liberada por hongos micorrícicos arbusculares, es un factor importante en la estabilización de agregados y secuestro de carbono. En sistemas de bajos insumos, estos atributos podrían mejorar con el uso de cultivos de cobertura (CC) en el largo plazo. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de incluir CC a una rotación soja-maíz combinada con baja o nula fertilización nitrogenada sobre el contenido de glomalinas, carbono y nitrógeno orgánico del suelo (COS y NOS, respectivamente), carbono orgánico particulado (COP) y estabilidad estructural (EE) luego de diez años. Se analizaron los primeros 5 cm de suelo en un ensayo de larga duración en Pergamino. Los CC evaluados fueron: cebada forrajera, raygras, avena, cebadilla, vicia, colza, nabo forrajero, avena+via. La mitad de las parcelas fueron fertilizadas con 32 kgN/ha al cultivo de maíz. Luego de 10 años, todas las variables analizadas fueron relevantes para separar, a través de un análisis de componentes principales, los tratamientos con leguminosas de las gramíneas puras y el testigo, independientemente de la fertilización (75% de la variación total explicada por el primer componente). Se observó una correlación significativa entre EE y COS, NOS, COP en las secuencias sin fertilización y entre glomalinas y COP en las secuencias con fertilización. Esto difiere de lo observado luego de 6 años de rotación momento en el cual la EE se asoció con la concentración de glomalinas en las parcelas sin fertilización. Estos resultados sugieren que la importancia relativa de los distintos agentes cementantes que promueven la estabilidad estructural del suelo varía a lo largo del tiempo. La inclusión de avena-vicia o vicia en la secuencia generó incrementos >20% en COS, NOS y glomalinas, en comparación con el testigo. Esto estuvo asociado a un incremento en los aportes de C y, probablemente, de N por fijación biológica. En el largo plazo, la intensificación de las secuencias agrícolas con CC y bajas dosis de fertilizantes nitrogenados mejora las funciones de soporte del suelo otorgando múltiples beneficios al agroecosistema.

INVENTARIO PRELIMINAR DE PROTOZOOS ASOCIADOS A *Tillandsia turneri* Baker, 1888 (Bromeliaceae) EN LA RESERVA EL DELIRIO, BOGOTÁ, COLOMBIA

Carolina Rincón (1), Luisa Rodríguez (2)

(1) Estudiante Licenciatura en biología Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia. (2) Estudiante Licenciatura en biología Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia.

La reserva El Delirio ubicada en la periferia de la ciudad de Bogotá se caracteriza por albergar ecosistemas de bosque de niebla y paramo, por lo que se le considera como un hábitat favorable para diferentes especies, convirtiéndose en un ecosistema estratégico para ampliar el conocimiento de diferentes grupos taxonómicos. Entre ellos se encuentran los protozoos, que son organismos que pertenecen a redes tróficas complejas en los ecosistemas. Las fitotelmatas son uno de ellos, estas plantas almacenan agua en donde se desarrollan varias comunidades de organismos. En el presente trabajo se presenta un inventario preliminar de los protozoos asociados a la bromelia *Tillandsia turneri*. Para ello se muestrearon 15 plantas, tomando sus medidas morfométricas y datos físicoquímicos. El agua contenida en las plantas se extrajo por medio de un equipo de succión y posteriormente se adiciono agua destilada con el fin de realizar un barrido y recolectar el mayor número de individuos posibles. Las muestras se analizaron en alícuotas en los laboratorios de la UDFJC y las determinaciones se realizaron por medio de claves taxonómicas y guías ilustradas. El grupo más abundante fue Alveolata, representado por el phylum Ciliophora, destacándose los géneros *Cyclidium*, *Tetrahymena*, *Paramecium*, *Stylonychia* y *Glaucoma*, seguido de protistas flagelados, destacándose individuos pertenecientes al orden Cryptomonadida y protistas ameboides, destacándose el género *Euglypha*. La morfología de las bromelias y las características físicoquímicas del agua definieron la estructura de las comunidades de protozoos en esta bromelia tipo tanque. También se encontraron individuos pertenecientes a otros grupos de macroinvertebrados, como organismos pertenecientes a los phylum Rotifera, Gastrotrichia, a la subclase Acari, al suborden cladóceros y larvas del orden Díptera.

ESTIMACIÓN DEL POTENCIAL DE OXIDACIÓN DE METANO DE SUELOS DE DOS SITIOS ADYACENTES CON DISTINTO USO: PLANTACIÓN DE EUCALIPTOS VS. PASTIZAL NATURALIZADO

Ezequiel J Teran (1)*, M^a Eugenia Priano (2), María De Bernardi (2), Sergio A Guzman (3), M^a Paula Juliarena (2), Javier E Gyenque (4), M^a Elena Fernandez (4)

(1) Fac. de Ciencias Exactas, UNCPBA, Tandil, Argentina. (2) CIFICEN-Centro de Investig. en Física e Ingeniería del Centro de la Prov. de Buenos Aires, Tandil, Argentina. (3) Univ. Nac. del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (4) INTA-Agencia de Extensión Rural Tandil, Tandil, Argentina.

El metano (CH_4) es un importante gas de efecto invernadero cuya concentración ha aumentado desde tiempos preindustriales a raíz de las actividades antropogénicas. Alrededor de un 5% se oxida por la actividad de bacterias metanotrofas que habitan suelos aireados. Este trabajo propone comparar las tasas potenciales de oxidación de CH_4 (TOM) en suelos obtenidos a diferentes profundidades de dos sitios adyacentes con similares características edafológicas pero diferentes usos: un pastizal naturalizado (P) y una plantación de *Eucalyptus globulus* de 20 años de edad (E), del partido de Balcarce, Bs. As., Argentina). Se realizaron cuatro campañas de muestreo durante el año 2017, de donde se extrajeron aleatoriamente 40 testigos de suelo intactos de 20 cm de profundidad, de cada sitio y por campaña. Dichos testigos se refrigeraron inmediatamente y en el laboratorio se dividieron en cuatro estratos de 5 cm de espesor, en relación con su profundidad. Una muestra integrada de 200 g de cada estrato, tamizada y homogeneizada, se colocó por duplicado en cámaras de incubación que constan de cilindros de PVC con una válvula en su tapa para la extracción de muestras de aire, junto con un blanco por estrato equivalente a una muestra de suelo esterilizada en autoclave a 122°C durante 30 min. Luego de una incubación en oscuridad y al aire atmosférico durante 24 h y a 20°C, se taparon las cámaras y se extrajeron muestras de aire sucesivas cada hora durante 4 horas con jeringas de polipropileno de 25 ml con válvulas de tres vías. La concentración de CH_4 se determinó por cromatografía gaseosa. La TOM se obtuvo de la regresión lineal de la concentración de CH_4 en función del tiempo para cada cámara. Además, se determinó el contenido de humedad inicial de cada muestra integrada de suelo por gravimetría. Se registró un valor medio para todo el perfil de P de $0,01 \pm 0,01 \text{ nmol}_{\text{CH}_4}/\text{h}/\text{g}_s$ y para E de $0,015 \pm 0,009 \text{ nmol}_{\text{CH}_4}/\text{h}/\text{g}_s$, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p > 0,05$); esto sugiere que el cambio de uso de suelo, hasta el momento, no ha afectado fuertemente la actividad de las comunidades bacterianas. El último estrato (entre 15 y 20 cm) presentó las mayores TOM tanto en P ($0,029 \pm 0,009 \text{ nmol}_{\text{CH}_4}/\text{h}/\text{g}_s$) como en E ($0,021 \pm 0,005 \text{ nmol}_{\text{CH}_4}/\text{h}/\text{g}_s$), lo que indicaría una mayor actividad de metanotrofas a esas profundidades. Se obtuvo una correlación lineal negativa estadísticamente significativa entre las tasas de oxidación y el contenido de agua del suelo ($R=0,36$; $p=0,0017$).

SESION DE POSTERS C

ÁREA TEMÁTICA

Formulación de inoculantes

TÉCNICA DE LA MICROGOTA PARA EL RECuento DE INOCULANTES A BASE DE *Azospirillum* spp.: UN COMPLEMENTO AL PROTOCOLO DE LA RED DE CONTROL DE CALIDAD DE INOCULANTES (REDCAI)

Analia Anriquez (1,14), Claudia Barlocco (2,14), Silvia Benintende (3,14), Marta Bortolato (4,14), Luciana Di Salvo (5,14), Liliana Rosa Galián (6,14), Julia García (7,14), Germán Liemur (8,14), Rosana Massa (9,14)*, Emilia Monteleone (10,14), Mariana Puente (7,14), Débora Radovancich (11,14), Rosina Rocha (12,14), Enrique Rodríguez Cáceres (13,14).

(1) FAYA-UNSE, Santiago del Estero, Argentina. (2) Lab. de Microbiol. de Suelos (INIA), Uruguay. (3) Cátedra de Microbiol. Agríc. UNER, Paraná, Argentina. (4) Cátedra de Microbiol. Agríc. UNR, Rosario, Argentina. (5) CONICET y Cátedra de Microbiol. Agríc. FAUBA, Argentina. (6) Univ. de Lomas de Zamora, Argentina. (7) INTA Inst.de Microbiol. y Zool. Agríc. Argentina. (8) Síntesis Química, Buenos Aires, Argentina. (9) Stoller Biociencias SRL, CABA, Argentina. (10) Nitrasoil Argentina SA, Quilmes, Argentina. (11) Laformed SA, Formosa, Argentina. (12) Alterbio SA, Bragado, Argentina. (13) Asesor particular, Luján, Argentina. (14) Grupo *Azospirillum* de la REDCAI, Argentina.

La REDCAI tiene un protocolo consensuado para el recuento de inoculantes a base de *Azospirillum* spp. que fue publicado en 2013 en el Manual de procedimientos microbiológicos para la evaluación de inoculantes. En 2015 se probaron diferentes dispersantes, tratando de comprobar que la variabilidad en los recuentos se debía a la agregación de células. Ninguno de los dispersantes probados se diferenció del comportamiento del diluyente usado en la metodología de la REDCAI. En 2016, la red se propuso como objetivo elaborar un protocolo utilizando la técnica de la microgota como método complementario al publicado por la red, consensuarlo y validarlo entre los miembros del grupo *Azospirillum* de la red. En esa ronda, se concluyó que no hubo diferencias estadísticas entre los recuentos obtenidos mediante esta nueva propuesta metodológica y los recuentos obtenidos mediante el protocolo de la REDCAI. Dados los resultados obtenidos hasta ese punto, para la ronda 2017 fueron planteados los siguientes objetivos: 1) hacer una nueva ronda para intentar reducir la variabilidad interlaboratorios; 2) incluir las repeticiones intralaboratorio para poder hacer la evaluación de la repetitividad de la metodología; 3) poner a prueba la técnica de la microgota nuevamente con dos variantes de volumen de siembra (10 y 20 µl por gota). En la ronda 2017 participaron en el análisis de la muestra un total de 14 laboratorios y todos los resultados entraron en el análisis estadístico. Dicho análisis mostró que: 1) se redujo la variabilidad interlaboratorio (teniendo en cuenta las tres metodologías evaluadas); 2) el análisis de confianza de los laboratorios indicó que no se debía excluir a ninguno de los 14 laboratorios de los análisis realizados; 2) los 14 laboratorios mostraron que sus resultados tienen buena repetitividad; 3) no se encontraron diferencias significativas entre las 3 metodologías evaluadas. En base a los resultados obtenidos, el grupo de trabajo propone el recuento de *Azospirillum* spp. en inoculantes por la técnica de microgota sembrando 10 o 20 µl, como metodología complementaria al protocolo de la REDCAI. La metodología propuesta es más práctica, económica y presenta resultados comparables con el protocolo de la REDCAI.

BIOFORMULADO A BASE DE *Trichoderma harzianum*: SUS EFECTOS EN LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL DE PIMIENTO

Araceli Bader (1)*, Fernanda Covacevich (1,2), Verónica F. Consolo (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC-CONICET) y Fundación para la Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata, Argentina. (2) Unidad Integrada Estación Experimental Agropecuaria Balcarce Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

El pimiento (*Capsicum annuum* L.) es la segunda hortaliza cultivada bajo cubierta en Argentina, y el Partido de General Pueyrredón es uno de los centros de producción más importantes. El cultivo requiere la aplicación de nitrógeno en las primeras fases de desarrollo y una máxima demanda de fósforo en floración y maduración de las semillas as potasio, que es determinante de la calidad de los frutos. Los fertilizantes representan uno los insumos de mayor costo en estas producciones. Actualmente, la Ordenanza Municipal 21296/13 obliga a establecer un uso racional de fertilizantes, reguladores de crecimiento y plaguicidas. Una alternativa promisoría para afrontar este requerimiento es la incorporación de productos de origen biológico. Los hongos del género *Trichoderma* son muy estudiados por su capacidad de favorecer la biodisponibilidad de nutrientes, promover el crecimiento vegetal y controlar enfermedades de las plantas. A nivel mundial, se encuentran registradas formulaciones que se aplican como enmienda biológica en los cultivos. En nuestro país, el desarrollo de estos productos se encuentra en sus inicios y está en expansión. El objetivo general de este trabajo fue diseñar un formulado a base de cepas nativas de *T. harzianum* y evaluar su efecto en la promoción del crecimiento en plantas de pimiento. Se seleccionaron cuatro cepas de *T. harzianum* previamente caracterizadas, que se multiplicaron individualmente en bandejas conteniendo sustratos a base de salvado de trigo, arroz y turba, que fueron inoculados con una suspensión fúngica de 1×10^8 conidios/ml y cultivadas durante 15 días en condiciones óptimas de temperatura y humedad. El sustrato más eficiente en el desarrollo del hongo fue el compuesto por cantidades equivalentes de salvado y turba. Se determinó la viabilidad de los conidios crecidos en este sustrato sometidos a temperaturas entre 4-40°C y se observó que si bien la temperatura de 4°C fue la óptima, a 35°C el 60% de los conidios permanecieron viables luego de 35 días. Para evaluar el efecto del formulado en la promoción del crecimiento vegetal, se incorporó el sustrato de crecimiento con 1% del biopreparado fresco, evidenciado un incremento del 50-100% tanto en peso fresco y seco de la parte aérea y radical de las plantas que fueron crecidas durante 35 días en cámara. Estos resultados permiten establecer un prototipo de soporte para la multiplicación del hongo así como su eficiencia en la incorporación de sustrato de siembra.

RECUPERACIÓN DE BRADIRIZOBIOS SOBRE SEMILLA PRETRATADA: ¿CUÁNTO CUESTA?

Dalila Giacobbe Boggio (1), Eduardo Gomez (1), Ivana Fanjul (1), Gabriel Freddi (1), Gabriel Gutkind (2), Noella Gardella (1), Diego Demares (1), Florencia Olivieri (1), Gisela Santella (1)*

(1) Novozymes BIOAG S.A., Buenos Aires, Argentina. (2) FFyB, UBA, Buenos Aires, Argentina

Desde hace algunos años existe una tendencia creciente orientada al tratamiento de semilla previo a la fecha de siembra, sustentado en las ventajas otorgadas por los tratamientos integrales. Para mantener vigente el uso de inoculantes biológicos es mandatorio acoplarse a las prácticas corrientes. La evaluación de la sobrevida bacteriana en semillas pretratadas es una herramienta muy utilizada en el desarrollo de inoculantes para evaluar la presencia y potencial eficacia del biológico en los complejos tratamientos empleados, de forma relativamente rápida y sencilla. Así, se pueden conocer las bacterias reales aplicadas, como también su sobrevida a lo largo del tiempo. Sin embargo, es frecuente observar la dificultad para reproducir resultados entre distintos laboratorios. El objetivo de este trabajo es informar que la calidad de los insumos empleados en la preparación de medios de cultivo utilizados en la recuperación de bacterias de semilla, podría ser una fuente de variación importante en los resultados obtenidos. Evaluamos los resultados obtenidos al utilizar 4 agares de distintas marcas comerciales, debido a una falta de provisión de la utilizada en nuestro laboratorio. Se preparó agar levadura manitol suplementado con rojo congo y vancomicina y se realizó la recuperación de bacterias según Manual de Procedimientos Microbiológicos para la Evaluación de Inoculantes de la AAM. Los resultados mostraron que la recuperación de bacterias de semillas varía significativamente según el agar utilizado, y la diferencia se incrementa a medida que el periodo de tiempo desde el tratamiento de las semillas es mayor. Se decidió ajustar el pH de los medios. El pH fue ajustado al valor recomendado por la normativa de Brasil (6.8) y a (6.0), previo a la esterilización. Los resultados muestran que un ajuste de pH mejora la recuperación. En el caso del recuento del título del inoculante no observamos diferencias al utilizar distintos agares. Esto podría explicarse por el estado fisiológico de las bacterias en las distintas situaciones, siendo crítica la calidad del insumo utilizado cuando la bacteria se encuentra en un entorno de sobrevida hostil. Pequeñas modificaciones en un protocolo pueden influir en los resultados y por lo tanto en las conclusiones obtenidas. Ajustar un valor de pH en los medios utilizados, puede ayudar a disminuir las diferencias entre distintos laboratorios y a la estandarización del método de recuperación de rizobios de semilla.

CARACTERIZACIÓN DE LA CEPA DE *Trichoderma harzianum* Th5cc FRENTE A PATÓGENOS DE SOJA Y EN LA COINOCULACIÓN CON *Bradyrhizobium japonicum* E109

Esteban Tomás Iturralde (1)*, Marina Stocco (2), Andrés Faura (3), Cecilia Mónaco (2), Gustavo González Anta (3,4), Julieta Pérez Giménez (1), Aníbal Roberto Lodeiro (1)

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM). Facultad de Ciencias Exactas - UNLP, La Plata, Argentina. (2) Centro de Investigaciones en Fitopatologías (CIDEFI). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, La Plata, Argentina. (3) Rizobacter Argentina S.A, Argentina, Parque Industrial, Pergamino (Bs.As), Argentina. (4) Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Pergamino, Argentina.

La soja es el cultivo más importante de Argentina, con 18,1 millones de hectáreas sembradas esta campaña. Los factores que limitan la productividad de la soja están relacionados con el manejo de suelo y cultivo, condiciones ambientales desfavorables y con factores bióticos, como las malezas, plagas y enfermedades. El desarrollo de las enfermedades de soja se ve favorecido, entre otras causas, por las condiciones ambientales, el aumento de la superficie sembrada, el monocultivo, el empleo de germoplasma de escasa variabilidad, y el uso de nuevas técnicas de manejo de cultivo. El 94% de los productores de soja de nuestro país inoculan *Bradyrhizobium* spp. seleccionados por su alta capacidad fijadora de N₂ pero esto, no atenúa el uso de agroquímicos como fungicidas. Por ello, se busca el desarrollo de inoculantes combinados que, además de los rizobios, incluyan bioprotectores. *Trichoderma harzianum* es un hongo del suelo de rápida proliferación, utilizado en horticultura y en cultivos extensivos de invierno por sus efectos inhibidores de hongos fitopatógenos, que además tiene un efecto positivo sobre la contextura de la raíz mejorando así la absorción de nutrientes. En este sentido vimos que *T. harzianum* Th5cc en ensayos duales fue capaz de controlar el crecimiento de hongos patógenos de soja: *Alternaria* spp., *Bipolaris sorokiniana*, *Cercospora kikuchii*, *Drechslera tritici-repentis*, *Fusarium graminearum*, *Phomopsis* spp., *Pythium debaryanum*, *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*. A su vez, ensayos de compatibilidad entre *B. japonicum* E109 y *T. harzianum* Th5cc mostraron que no se inhibe el proceso de esporulación del hongo ni el crecimiento de la bacteria durante el cocultivo. Al coinocular plantas, se comprobó que la nodulación no se afecta por la presencia del hongo. Ya que *T. harzianum* no fija N, realizamos ensayos de coinoculación regando con una solución mineral con KNO₃ 10 mM. Bajo esta condición, en la cual el rizobio no nodula, las plantas coinoculadas sí lo hicieron. Estos nódulos tenían apariencia de pseudonódulos pero su color rojizo y el análisis de su ultraestructura en el microscopio electrónico de transmisión mostró la presencia de bacteriodes compatibles con los de nódulos fijadores de N. Los resultados indicaron que *T. harzianum* podría combinarse con los rizobios de los inoculantes para los cultivos de soja con el fin de mejorar la protección contra fitopatógenos y la nodulación.

LA FORMULACIÓN POLIMÉRICA ENCAPSULADA DE *Bacillus* sp. XT13 TIENE UN EFECTO BENÉFICO PARA MITIGAR EL ESTRÉS HÍDRICO POR SEQUÍA EN *Megathyrus maximus*

Jonathan Mendoza (1), Felipe Romero-Perdomo (1)*, Ruth Bonilla (1)

(1) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica. Centro de Investigación Tibaitatá – Km 14 Vía Mosquera - Bogotá, Cundinamarca, Colombia.

El cambio climático global se está convirtiendo en un factor limitante para el desarrollo agropecuario a nivel mundial debido al aumento en la severidad y frecuencia de estreses abióticos, como es el caso de la sequía. Este fenómeno, en la región del Caribe Colombiano está ocasionando una disminución en la productividad, calidad y cantidad de forraje de pasto guinea (*Megathyrus maximus*), lo cual ha afectado drásticamente su rentabilidad y sostenibilidad, teniendo en cuenta que la ganadería es uno de los renglones de mayor impacto económico en la región. Una de las estrategias viables dentro de sistemas agropecuarios sostenibles es inducir la tolerancia al estrés hídrico mediante el uso de Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR por sus siglas en inglés). La presente investigación tuvo como objetivo estudiar la capacidad de mitigación de la cepa PGPR xerotolerante *Bacillus* sp. XT13 bajo una formulación de macroperlas poliméricas sobre los efectos de la sequía en el pasto guinea (*Megathyrus maximus*) durante 160 días midiendo como variables de respuesta la acumulación de prolina y la actividad enzimática antioxidante ascorbato peroxidasa (APX). La producción de las macroperlas fue llevada a cabo mediante el uso de la técnica de encapsulación con alginato de sodio. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza con una prueba de HSD Tukey con significancia de 0.05. Los resultados demostraron que la formulación polimérica encapsulada aumenta el contenido de prolina en la planta (84,58 µg prolina/ mg de tejido vegetal) respecto a la cepa XT13 sin formulación (64,37 µg prolina/ mg de tejido vegetal). Por el contrario, la acción de las especies reactivas de oxígeno fue controlada por la actividad APX la cual se vio disminuida con la aplicación de la XT13 formulada (231,78 nmoles ascorbato/min/mg de tejido vegetal) frente a la no formulada con XT13 (239,69 nmoles ascorbato/min/mg de tejido vegetal). Con base en estos resultados preliminares, podemos inferir que la formulación polimérica encapsulando a *Bacillus* sp. XT13 aumenta la capacidad de modular el estrés hídrico por sequía en *Megathyrus maximus*.

COMPARACIÓN DE MACROESFERAS DE QUITOSANO/ALMIDÓN Y QUITOSANO/ALCOHOL POLIVINÍLICO PARA LA BIOENCAPSULACIÓN DE *A. brasilense* Az39 Y *P. fluorescens* ZME4

Jonás Pérez Bravo (1,2), Guillermo A Maroniche (2,3)*, Nora François (1), Alejandra Pereyra (3), Cecilia Creus (3)

(1) Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología (ITPN), UBA – CONICET, CABA, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (3) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina.

Los inoculantes a base de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) que utilizan soportes poliméricos para la encapsulación y la liberación gradual y prolongada de los microorganismos, otorgan ventajas comparativas protegiéndolos del estrés ambiental. Se estudió la aptitud de dos soportes sólidos preparados a partir de polímeros biodegradables y biocompatibles para ser usados como soportes de liberación controlada. Los objetivos fueron producir dos matrices poliméricas y: a) inmovilizar dos bacterias PGPR *A. brasilense* Az39 (Az) y *P. fluorescens* ZME4 (Ps), b) caracterizar las matrices mediante microscopía electrónica de barrido y c) estudiar la viabilidad bacteriana en las macroesferas secas almacenadas por un año. Los hidrogeles se prepararon en base a quitosano (CS) y almidón de papa (ST) o alcohol polivinílico (PVA), mediante entrecruzamiento físico con tripolifosfato de sodio. Las PGPR crecidas en LB hasta fase estacionaria tardía se inmovilizaron por separado o en forma conjunta, incorporándose en la matriz polimérica mediante el hinchamiento del xerogel en el medio de cultivo y secándose a 30°C hasta peso constante. Se ajustaron las concentraciones a $1 \cdot 10^9$ UFC/ml. Se evaluaron la morfología del material preparado con bacterias por microscopía electrónica de barrido y la sobrevivencia bacteriana triturando las macroesferas y contando las UFC/g durante un año de almacenamiento a temperatura ambiente. El estudio morfológico reveló que las macroesferas poseen forma irregular y que el diámetro promedio varió dependiendo del material, 1,6 mm para CS/ST y 2 mm para CS/PVA. Ambos soportes resultaron ser poco porosos y con superficie rugosa. Las bacterias por separado o en conjunto formaron un biofilm que les permitió adherirse a los dos soportes. Coinoculadas, Az y Ps presentaron un alto nivel de ordenamiento en forma de monocapas y zonas con agregados celulares formando biofilms multicapas. Luego de 1 año de almacenamiento los dos soportes presentaron una disminución de un orden de magnitud en la concentración de células viables respecto al número total encontrado durante los primeros 5 días luego del secado: $7 \cdot 10^7$ y $8 \cdot 10^8$ UFC/g para Az y Ps, respectivamente. Ambos materiales resultaron efectivos para la formulación de inoculantes manteniendo viables las bacterias en altos títulos a lo largo del período de almacenamiento.

PERFORMANCE Y DOSIS-RESPUESTA DE CEPAS DE *Lactobacillus plantarum* DE DIFERENTE ORIGEN EN SILOS DE MAÍZ

Melisa Puntillo(1)*, Ariel Massera (2), Soraya Bellini (3), Juan Martín Oteiza (3), Roxana Páez (2), Ana Binetti (1) Jorge Reinheimer (1), Gabriel Vinderola (1)

(1) Instituto de Lactología industrial (CONICET-UNL), Facultad de Ingeniería Química, Santa Fe, Argentina. (2) Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria, INTA EEA Rafaela, Santa Fe, Argentina. (3) Centro de Investigación y Asistencia Técnica a la Industria, Villa Regina, Río Negro, Argentina.

Las bacterias lácticas (BAL), ampliamente distribuidas en la naturaleza, tienen un rol ecológico aún poco claro en sustratos vegetales. Sin embargo, cuando ciertos materiales forrajeros son picados, las BAL naturalmente presentes, o inoculadas, pueden dominar la fermentación transformando el sustrato vegetal en ensilado, el cual se destina a la alimentación del ganado. La disminución del pH es un indicador rápido de la eficiencia del ensilado y *L. plantarum* es una de las especies más utilizadas en la formulación de inoculantes comerciales. Un *slogan* comercial frecuentemente usado es que cepas aisladas del mismo sustrato son más efectivas como inoculantes que cepas aisladas de otros sustratos. El objetivo fue estudiar la diversidad y efectividad, en silos de maíz, de cepas de *L. plantarum* aisladas de maíz, avena, sorgo y alfalfa y verificar la existencia de una relación dosis-respuesta. Se determinó la diversidad (RAPD-PCR) de *L. plantarum* LpAv (avena), LpA03 (alfalfa), LpS13 (sorgo) y LpM15 (maíz). Se obtuvo maíz de primera picado a campo (pH 5,96±0,12, Enero 2018, Esperanza, Santa Fe), se confeccionaron microsilos (500 g, al vacío) inoculados con las 4 cepas y en 4 dosis (10^4 , 10^5 , 10^6 y 10^7 UFC/g), más un control sin inocular, y se incubaron a T ambiente. Se determinó el pH y concentración de ácido láctico (HPLC) a los 1, 2, 3 y 7 días de fermentación. Se verificó que los *L. plantarum* obtenidos de diferentes sustratos vegetales, son efectivamente cepas diferentes. En todos los silos inoculados, el pH descendió significativamente más rápido que el control, siendo más grandes las diferencias a mayor dosis. En 48 h los silos inoculados disminuyeron el pH por debajo de 4,20 (control: 4,22±0,04). Para este tiempo, se observaron diferencias significativas entre las cepas, aún en las dosis 10^4 , siendo la cepa LpM15 la que alcanzó el menor pH (4,04±0,01) seguida por LpS13 (4,08±0,01), LpA03 (4,13±0,02) y LpAv (4,17±0,03). Se observó una relación directa entre la velocidad de descenso de pH y la dosis inoculada. A medida que aumentó la dosis, disminuyeron las diferencias entre cepas. En relación a la producción de ácido láctico (72 h), se observaron diferencias significativas respecto al control para la mayor dosis utilizada. Si bien la cepa LpM15 fue la más efectiva en maíz, las diferencias entre cepas fueron mínimas, por lo que podría considerarse que las cepas de *L. plantarum* de diferente origen fueron efectivas como inoculantes para silos de maíz.

ESTRATEGIAS DE FERMENTACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN SIMULTÁNEA DE BIOMASA DE TRES CEPAS DE BACTERIAS LÁCTICAS UTILIZADAS COMO INOCULANTES DE SILOS DE MAÍZ

Deisy Saide (1), Patricia Burns (1), Ana Binetti (1), Liliana Forzani (2), Melisa Puntillo (1)*, Jorge Reinheimer (1), Gabriel Vinderola (1)

(1) Instituto de Lactología industrial (CONICET-UNL), Facultad de Ingeniería Química, Santa Fe, Argentina.
(2) Departamento de Matemática, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

Las bacterias lácticas (BAL) utilizadas como inoculantes para silos son producidas generalmente como cultivos liofilizados, usando estrategias de fermentación (pH libre o controlado, fermentación batch o continua) que maximicen la producción de biomasa. Estas estrategias pueden suponer un estrés subletal, el cual puede impactar en la sobrevivencia de los cultivos a la liofilización o en la vida útil de los mismos. Objetivo: estudiar el impacto de diferentes estrategias de cultivo simultáneo de tres cepas de BAL, utilizadas como inoculantes para silos de maíz, en la producción de biomasa y en la sobrevivencia a la conservación a través de un test de almacenamiento acelerado. Se utilizaron *Lactobacillus plantarum* 71, *Pediococcus acidilactici* 72 y *Lactobacillus buchneri* 141. Se llevó a cabo la producción de biomasa (18 h de fermentación) de las cepas en MRS simplificado (reducido en ingredientes), en cultivos estáticos (37°C, pH libre) o en fermentador (37°C, 50 rpm) a pH 6,5 o 5,7 controlado (NaOH 8M) y a pH 5,7 controlado más 4 h de estrés ácido a pH 4,5 (por agregado de ácido láctico). En todos los casos, las cepas 71 y 72 se inocularon al 1% (v/v) luego de 8 hs de comenzada la fermentación con la cepa 141 sola, inoculada al 10% (v/v), continuándose la fermentación por 10 hs más. Los cultivos se cosecharon, se lavaron, se resuspendieron en solución de lactosa 10% (p/v), se liofilizaron y se almacenaron a 37°C durante 4 semanas. Se realizaron recuentos de células viables (agar MRS) antes y después de la fermentación, de la liofilización y del almacenamiento. En la fermentación a pH 6,5 se produjo la mayor concentración de células viables de *L. plantarum* 71 y *P. acidilactici* 72, sin embargo fue la menos efectiva para *L. buchneri* 141. Sólo los cultivos obtenidos a pH libre presentaron una pérdida significativa de viabilidad celular de entre 0,6 y 0,8 órdenes log por el proceso de liofilización. En el test de almacenamiento acelerado, no se observaron pérdidas significativas de viabilidad celular en los cultivos producidos a pH libre o pH 6,5 controlado. Los cultivos producidos a pH 5,7 (con o sin aplicación de estrés ácido), presentaron pérdidas significativas de viabilidad celular de hasta 1,2 órdenes log, excepto para *P. acidilactici* 72 donde la aplicación del estrés moderado fue efectiva para disminuir la pérdida de viabilidad celular. De las estrategias estudiadas, la más efectiva fue la producción simultánea de biomasa a pH 6,5 controlado.

ANÁLISIS DE FORMULACIONES DE *Trichoderma harzianum* Th2 ALMACENADAS POR UN PERÍODO DE DOS AÑOS

José Matías Zapiola (1,3)*, Gustavo Gonzales Anta (1, 2), Viviana A. Barrera (3)

(1) Rizobacter Argentina S.A. (2) Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Argentina. (3) Insumos Fúngicos, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), INTA, Argentina.

La eficacia de un producto comercial que incluye hongos biocontroladores del género *Trichoderma*, se ve influenciada por la supervivencia del hongo durante el almacenamiento. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la supervivencia durante el almacenamiento y la evolución de los parámetros de la formulación. La cepa Th2 se cultivó en Erlenmeyers con 150 ml de medio de cultivo, en agitador rotatorio a 200 rpm a 30°C. Luego de 4 días se formuló para obtener 300 ml finales. Los formulados se guardaron en vejigas plásticas a $20 \pm 3^\circ\text{C}$. Se muestrea regularmente entre 0 y 23.6 meses. A las vejigas se les determina: conidios totales (recuento en cámara de Neubauer), viabilidad (observación microscópica de crecimiento en agar agua), peso seco, proteínas totales (Bradford), azúcares totales (Antrona) y pH. Se observa que los valores de recuento de conidios, peso seco y viabilidad, disminuyen con el tiempo, indicando una disminución de la biomasa activa metabólicamente. En el caso del recuento de conidios, desde el tiempo inicial de hasta los 16,1 meses se obtiene un 64% de reducción, y luego se mantiene estable. Los valores de peso seco tienen una rápida disminución desde el tiempo inicial hasta los 6,9 meses, a partir de ese momento los valores se mantienen en ese rango, indicando una rápida disminución de la biomasa total que luego se estabiliza. La viabilidad disminuye continuamente de forma lineal ($p < 0,01$, $R^2 = 0,91$) desde el valor inicial, hasta alcanzar su valor mínimo a los 23,6 meses; el 50% de viabilidad se alcanza a los 12,9 meses. La concentración de proteínas totales en el sobrenadante disminuye desde el nivel inicial hasta los 7,7 meses y luego se mantiene estable en ese rango. Este comportamiento es similar al de peso seco y podría deberse a que la ruptura celular libera proteínas al sobrenadante. La concentración de azúcares totales en el sobrenadante disminuye desde su valor inicial hasta los 12,3 meses, probablemente debido al metabolismo basal del hongo durante el almacenamiento, luego, vuelve a aumentar hasta los 23,6 meses, debido a la ruptura de polisacáridos insolubles presentes en la formulación. La variación del pH durante el almacenamiento, aumenta desde el valor inicial hasta los 5,26 meses, luego se mantiene estable en el período 6,9 – 19,3 meses, luego aumenta hasta los 23,6 meses. En base a estos resultados, se obtiene una buena formulación comercial con una vida media de 12,9 y con una viabilidad del 1% a los 24,8 meses.

SESION DE POSTERS C

ÁREA TEMÁTICA

Biofilms y biodeterioro

BIOFILMS MULTISPECIE FORMADOS POR *Listeria* spp. Y LEVADURAS AISLADAS DE MEMBRANAS DE ULTRAFILTRACIÓN DE JUGO DE MANZANAMaría del Rosario Agustín (1), Lorena I. Brugnoli (1,2)*

(1) Depto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), Bahía Blanca, Argentina.

En el pasado, los jugos de frutas fueron considerados como alimentos seguros debido a su bajo pH (<4,5) causado por ácidos orgánicos de origen natural que, en general, previenen el crecimiento de microorganismos patógenos. Hoy se sabe que este tipo de alimentos pueden ser vehículos de transmisión de diversas bacterias patógenas, entre ellas, *Listeria monocytogenes*, una de las principales preocupaciones de la industria alimentaria por su resistencia en condiciones de estrés: pH ácido, a_w disminuida, reducida concentración de O_2 y temperaturas por fuera de su rango de crecimiento óptimo. Además, tiene la capacidad de adherirse a los materiales comúnmente utilizados en la industria alimentaria y formar biofilms sobre las superficies de los equipos de producción, dando lugar a la contaminación de los alimentos durante su procesamiento. Dada la importancia de este patógeno en el ámbito alimentario, comparamos la adhesión de una cepa de *L. innocua* aislada de alimentos y *L. monocytogenes* ATCC 7644 (serotipo 1/2c) sobre acero inoxidable AISI 304 de grado alimentario, en ausencia y presencia de levaduras residentes aisladas de membranas de ultrafiltración de jugos de fruta: *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida kefir*, con jugo de manzana (pH 4,3) como medio de cultivo, a 25°C, simulando las condiciones del procesamiento industrial del alimento líquido. El número de células adheridas evaluadas a 3, 8 y 24 h para *L. innocua* estuvo en el rango de 6,15 a 6,75 log CFU/cm y 6,64 a 5,80 log UFC/cm² para *L. monocytogenes*. La prueba *t* de Student se usó para comparar promedios y se observó que en biofilms duales, *L. innocua* incrementó significativamente su número frente a *C. tropicalis* y *C. krusei* ($p < 0.001$) y negativamente frente a *R. mucilaginosa* y *C. kefir* ($p < 0.01$). *L. monocytogenes* únicamente incrementó su adherencia frente a *C. tropicalis* ($p < 0.01$). En la visualización por SEM se observó que ambas bacterias se distribuyen sobre la superficie formando agrupaciones y microcolonias y que se adhieren preferentemente a estructuras celulares tipo pseudohifa. Estos resultados respaldan la noción que *L. monocytogenes* es un patógeno potencial del jugo de manzana capaz de interactuar y sobrevivir en comunidades mixtas con levaduras contaminantes residentes.

EFFECTO DE UN BIOCIDA SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS EN UN SISTEMA DE ALMACENAMIENTO DE PETRÓLEO

Lina Dominici (1)*, Marisa Viera (1,2), María T. Del Panno (2,3)

(1) CIDEPINT (CICPBA-CONICET La Plata), La Plata, Argentina. (2) Fac. Cs. Exactas. UNLP, La Plata, Argentina. (3) CINDEFI (UNLP- CONICET La Plata), La Plata, Argentina.

El almacenamiento es un elemento de gran valor en la explotación de los servicios de hidrocarburos debido a que actúa como pulmón entre la producción y el transporte y permite la sedimentación de agua y barros del crudo antes de despacharlo por oleoducto o a destilación. Esta sedimentación trae aparejada problemas de contaminación microbiana conducentes a la acumulación de limo, corrosión de tanques y cañerías, emulsificación y degradación del producto. Los microorganismos reductores de sulfatos (BRS y Arqueas) son considerados como responsables de un 80% del daño mediante corrosión influenciada microbiológicamente (CIM) en estos sistemas. Usualmente, el desarrollo en biofilm de estos microorganismos se intenta controlar mediante el agregado de biocidas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las modificaciones que el tratamiento con el biocida sulfato de bis[tetrakis(hidroximetil)]fosfonio (THPS), produjo sobre la comunidad de microorganismos presentes en un sistema de almacenamiento de crudo. Para ello se dispusieron 50 frascos conteniendo 10 ml de agua de un tanque de almacenamiento de crudo esterilizada por filtración, con dos cupones metálicos por frasco. Los frascos fueron inoculados con una suspensión bacteriana obtenida por enriquecimiento a partir de una muestra de agua de tanque. Un set de 25 frascos fue tratado con THPS (250 ppm) dejando el resto como control. Finalmente se agregó crudo en todos los frascos y se incubaron en condiciones anóxicas. La dinámica de poblaciones fue analizada por recuento de bacterias heterótrofas y BRS durante 60 días, observándose la reducción de la población BSR planctónica y la ausencia de la población BRS sésil a los 30 días del ensayo en presencia de THPS. Sin embargo, una baja densidad de BSR fue detectada formando biofilm luego 60 días bajo las mismas condiciones. Mediante PCR-DGGE, con iniciadores dirigidos al 16S rDNA de Bacterias y Arqueas, y al gen *aps* de BSR se evidenció el establecimiento de una comunidad diversa en el biofilm desarrollado sobre el cupón a los 60 días en presencia del THPS, incluyendo nuevas poblaciones establecidas durante el tratamiento. El análisis de secuenciación masiva del 16S rDNA de la población planctónica a los 60 días del tratamiento con THPS mostró una disminución en la riqueza, equitatividad y diversidad de la comunidad bacteriana, mientras que la comunidad de arqueas evidenció una mayor riqueza sin cambios en su diversidad.

EFFECTOS DE MOLÉCULAS *QUORUM SENSING* EN BIOFILMS MONO Y MULTIESPECIE DE LEVADURAS AISLADAS DE LA INDUSTRIA JUGUERA

Fátima R. Viceconte (1)*, M. Soledad Vela Gurovic (1,2), Lorena I. Brugnoli (1,3)

(1) Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

(2) CERZOS UNS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (3) INBIOSUR UNS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina.

En la industria alimentaria la presencia de biofilms en superficies en contacto con los alimentos es la causa principal de contaminación del producto final, además de obstruir cañerías y limitar el caudal de flujo en membranas de ultrafiltración con las consiguientes pérdidas de rendimiento. Se ha demostrado que ciertos alcoholes de bajo peso molecular inhiben los biofilms de *Candida albicans*, siguiendo mecanismos de tipo *quorum sensing* (QS). Los microorganismos envían señales por medio de la secreción de moléculas QS para establecer comunicaciones entre células. Estas moléculas se acumulan durante el crecimiento dependiendo del tamaño de la población. Cuando su concentración alcanza un umbral, ocurre una respuesta regulatoria que afecta la expresión de genes. Tanto el farnesol como el 2-fenil etanol han sido identificadas como moléculas QS capaces de inhibir la formación de hifas en *C. albicans*. En este trabajo nos propusimos evaluar los efectos de estas moléculas sobre la formación de biofilms mono y multiespecie de *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. krusei* y *Rhodotorula mucilaginosa* aisladas de equipos de producción de la industria juguera. Los biofilms se desarrollaron sobre acero inoxidable AISI 304 utilizando como matriz alimentaria jugo de manzana durante la etapa de adhesión (2 h), colonización (6 h) y formación de biofilms maduros (24 y 48 h). El desarrollo de los biofilms se observó mediante microscopía de fluorescencia y se realizaron recuentos de levaduras empleando medios selectivos. La observación al microscopio reveló el efecto inhibitorio de farnesol sobre la adhesión (600 μ M, 2 h) tanto en mono como en multiespecie, mientras que los recuentos disminuyeron menos de una unidad logarítmica, siendo el efecto más marcado en *R. mucilaginosa*. 2-fenil etanol (1200 μ M) estimuló la adhesión y formación del biofilm e incrementó los recuentos para *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. kefir* sin superar la unidad logarítmica hasta las 6 horas, no observándose efectos a tiempos mayores. Contrariamente, 2-fenil etanol causó una disminución de los recuentos de *C. tropicalis* a las 24 y 48 horas. En términos generales, tanto la inhibición observada con farnesol como la estimulación generada por 2-fenil etanol se mostraron como efectos puntuales durante la etapa de adhesión a las concentraciones ensayadas, afectando más la morfología que la viabilidad celular.

SESION DE POSTERS C

ÁREA TEMÁTICA

Enseñanza de la microbiología

LAS PARTICIPACIÓN EN ACTIVIDADES DE EXTENSIÓN UNIVERSITARIA COMO COMPLEMENTO DEL PROCESO ENSEÑANZA APRENDIZAJE DE LA MICROBIOLOGÍA

Marina Winter (1,2)*, Pablo Ulrich (2), Antonela Valiente (2), Daniela Dalzotto (2), Yanet Golzalez (2), Pablo Beliu (2), Wilder Condori (2), Mirko Schiavi (2), Leonel Luppi (2), Ayelén García Di Lodovico (2), Cristal Ortiz Yoshihara (2), Sergio Lechner (2), Sergio Abate (1,2)*

(1) Centro de Investigación y Transferencia Río Negro, Río Negro, Argentina. (2) Universidad Nacional de Río Negro- Sede Atlántica, Viedma, Río Negro, Argentina.

La extensión es la función universitaria más próxima a la realidad social, y a la par de la docencia y la investigación, forma parte integral de la misión de la educación Universitaria. Al mismo tiempo, constituye una plataforma superior de continuo aprendizaje para alumnos y docentes universitarios. La Microbiología y otras materias específicas con alta carga horaria dentro del laboratorio, demandan gran capacidad de abstracción y suelen generar una mirada displicente por parte de muchos alumnos, en cuyo ideario el ejercicio profesional se desarrolla exclusivamente a campo. No obstante, el docente universitario actual debe recurrir a herramientas que permitan vincular dichos alumnos con los contenidos programáticos, de forma creativa. El objetivo del presente trabajo es dejar trascender la participación del alumnado en actividades de extensión universitaria como herramienta facilitadora para la incorporación y manejo de conceptos de Microbiología. Desde el año 2016, alumnos y docentes de las carreras de Ingeniería Agronómica y Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional de Río Negro, llevan adelante acciones conjuntas con instituciones educativas rurales, bajo el concepto “conocer para prevenir” tendientes a divulgar las zoonosis infecciosas y parasitarias más importantes del área de incumbencia (trichinellosis, hidatidosis, leptospirosis y brucelosis) y sus medidas de prevención. Los actores universitarios organizaron talleres participativos junto a los alumnos de nivel inicial y medio, desarrollando actividades prácticas creativas y lúdicas (sopa de letras, unir con flecha, colorear, creación de historias), diseñando folletería, pintando murales y manejando una página en la red social Facebook. Así también, realizaron encuestas a padres, y sorteos de tortas entre todos los participantes, en cuya decoración se mostraban cadenas epidemiológicas de las zoonosis tratadas. Estas iniciativas se han compartido hasta el momento con más de 22 grupos de alumnos y docentes destinatarios. Actualmente, los extensionistas muestran mejor manejo de conceptos comunes que sus pares universitarios que cursaron la materia Microbiología pero no participaron de las actividades de extensión. El formar parte de este tipo de proyectos es para los alumnos universitarios (así como para los docentes) un escenario de educación permanente. Considerando además que, la socialización y el diálogo son fundamentales para un proceso efectivo de enseñanza-aprendizaje.

SESION DE POSTERS C

ÁREA TEMÁTICA

Otros

MICOTOXICOSIS EN CERDOS CAUSADA POR TOXINAS DE *Fusarium* spp EN MAÍZ

Javier Néstor Alonso (1), Mónica Felice (2), Carolina Temperini (1,3)*, Graciela Pose (1,3)

(1) UNRN, Villa Regina, Argentina. (2) INTA EEA Alto Valle, Villa Regina, Argentina. (3) CONICET, Buenos Aires, Argentina.

La región del Alto Valle de Río Negro se especializó en la producción de manzanas y peras. Sin embargo, en los últimos años, experimenta el ocaso de su economía frutícola. Como alternativa se está observando una reconversión a otras producciones, tales como la pecuaria, incluyendo la producción de maíz y forrajes para la alimentación animal. Respecto a la producción pecuaria, la calidad de la materia prima de piensos y forrajes es fundamental. La presencia de hongos afecta la calidad nutricional de los alimentos, además de producir micotoxinas. Se ha observado la mortandad de crías de cerdos debido a edema pulmonar y hemorragias. Considerando que tales patologías pueden estar asociada al consumo de micotoxinas producidas por especies del género *Fusarium*, el objetivo de presente trabajo fue estudiar la calidad micotoxicológica del alimento empleado. Se determinó la micobiota presente en el maíz que sirvió de alimento a los cerdos. Se llevó cabo el aislamiento e identificación de géneros fúngicos sobre agar DRBC (Dicloran-Rosa de Bengala-Cloranfenicol) de acuerdo a Pitt y Hocking (1997). La identificación de especies de *Fusarium* fue llevada a cabo según Nelson y col. (1983). Fumonisinias y Toxina T-2 fueron determinadas por HPLC y GC respectivamente. Se pudo determinar un 98% de granos infectados por hongos. Fue determinada Fumonisinina B1 en una concentración de 3946 µg/kg, FB2 a nivel de 1052 µg/kg y FB3, 217 µg/kg. Toxina T-2 no fue detectada en niveles superiores al límite de detección (50 µg/kg), ni otros tricotecenos como Deoxinivalenol, Nivalenol o Toxina HT-2. Respecto a composición de la micobiota, el 68% estuvo representada por especies del género *Fusarium*, determinada en un 25% por *F. proliferatum*, especie reportada ser productora de fumonisinias, 12,5% por *F. graminearum*, productor de tricotecenos, y 62,5% por *F. subglutinans*. De acuerdo a estudios epidemiológicos, dosis superiores a 200-1000 µg/kg podrían producir edema pulmonar porcino. Asimismo, si bien no fueron determinados tricotecenos en niveles detectables, un posible efecto aditivo o sinérgico de bajas dosis pudo ser la causa de las hemorragias. Los resultados obtenidos revelan una micotoxicosis. Esta situación emergente ha puesto en evidencia la necesidad de transmitir conocimientos y brindar asistencia a pequeños productores pecuarios respecto a la importancia de los hongos y sus micotoxinas, y sobre todo, a la producción agrícola destinada a la alimentación animal.

EFFECTO DE JUVENILES INFECTANTES DE *Heterorhabditis bacteriophora* Y *Steinernema rarum* SOBRE EL CONTENIDO DE LÍPIDOS CORPORALES DE JUVENILES DE SEGUNDO ESTADIO DE *Meloidogyne incognita*.

Manuela Álvarez (1)*, Daniela Franzí (1), Florencia Chingolani (1), Eleodoro Del Valle (1,2)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de juveniles infectantes (JIs) de *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema rarum* sobre el contenido de lípidos corporales en juveniles de segundo estadio (J2) de *Meloidogyne incognita*. La determinación de las reservas energéticas de los nematodos se realizó mediante la tinción con Red Oil O del contenido de lípidos neutros de acuerdo al método descrito por Croll en 1972. En las experiencias se utilizaron placas de cultivos de tejidos en donde se agregó con micropipeta a cada pozo, una suspensión de 1 ml de agua estéril con 100 J2 de una población de *M. incognita* procedente de Santa Fe. Luego, en cada pozo, se adicionó una suspensión de igual volumen de agua estéril con 100 JIs de NEPs. El tratamiento testigo consistió de la aplicación de 1 ml de agua estéril con 100 J2 de *M. incognita*. Las placas fueron selladas con parafilm® con el objeto de evitar la pérdida de humedad y se conservaron a 25°C de temperatura. A los 0, 4 y 8 días de exposición se determinó el contenido de lípidos de los fitoparásitos. Para ello se obtuvieron microfotografías y con el programa Image Pro Plus 6.0 se estimó el porcentaje del área teñida respecto al área total de cada nematodo. Se llevaron a cabo 12 repeticiones de cada tratamiento, los resultados fueron analizados por ANOVA y las medias separaron utilizando el test LSD Fisher al nivel de 5% de probabilidad. El porcentaje de lípidos corporales de J2 de *M. incognita* correspondiente al tratamiento testigo varió de 55,6 a 37,9% en las determinaciones realizadas en los días 0 y 8, respectivamente. Al octavo de día de exposición con *H. bacteriophora* o *S. rarum*, se observó que juveniles del fitoparásito contenían 41,3 y 41,2 % de lípidos, respectivamente. El presente trabajo señala que la exposición entre los NEPs evaluados y J2 de *M. incognita* en suspensiones acuosas no provocan variaciones significativas en el contenido de lípidos neutros del parásito de plantas.

EFFECTOS DE JUVENILES INFECTANTES DE *Heterorhabditis bacteriophora* Y *Steinernema rarum* SOBRE LA ECLOSIÓN DE HUEVOS DE *Meloidogyne incognita*.

Manuela Álvarez (1)*, Daniela Franzi (1), Florencia Chingolani (1), Eleodoro Del Valle (1,2)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

Investigaciones han demostrado el efecto supresor de nematodos entomopatógenos (NEPs) ante nematodos parásitos de plantas. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de juveniles infectantes (JIs) de *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema rarum* sobre la eclosión de huevos de *Meloidogyne incognita*. En las experiencias se utilizaron placas de cultivos de tejidos en donde se agregó con micropipeta a cada pozo, una suspensión de 1 ml de agua estéril con 100 huevos de una población de *M. incognita* procedente de Santa Fe. Luego, en cada pozo se adicionó una suspensión de igual volumen de agua estéril conteniendo 100 JIs de *H. bacteriophora* o *S. rarum*. El tratamiento testigo consistió de la aplicación 1 ml de agua estéril con 100 J2 de *M. incognita*. Las placas fueron selladas con parafilm® con el objeto de evitar la pérdida de humedad y se conservaron a 25°C de temperatura. A los 2, 4 y 6 días se determinó el porcentaje de eclosión de huevos del fitoparásito mediante observación en microscopio estereoscópico. Se llevaron a cabo 9 repeticiones de cada tratamiento, los resultados fueron analizados con ANOVA y las medias se separaron utilizando el test LSD Fisher al nivel de 5% de probabilidad. Los resultados indicaron que la eclosión de huevos de *M. incognita* disminuyó significativamente al aplicar JIs de *S. rarum*. La reducción de la eclosión de huevos en relación al tratamiento testigo fue de 70,9; 77 y 69% a los 2, 4 y 6 días, respectivamente. No se observaron diferencias de eclosión respecto a los testigos al aplicar *H. bacteriophora*. Se concluye que JIs de *S. rarum* son potenciales inhibidores de la eclosión de *M. incognita*.

CARACTERIZACIÓN *in silico* DE LOS GENES QUITINOLÍTICOS *ech42* Y *nag1* PRESENTES EN *Trichoderma koningiopsis*: POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Natalia S. Amerio (1,3), María L. Castrillo (1,3) *, Gustavo A. Bich (1,3), Mario C.N. Saparrat (2,3), Pedro D. Zapata (1,3), Laura L. Villalba (1)

(1) Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" - InBioMis, Universidad Nacional de Misiones. Posadas 3300, Misiones, Argentina. (2) Instituto de Fisiología Vegetal - INFIVE. Centro Científico Tecnológico Conicet. La Plata 1900, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Las quitinasas son enzimas implicadas en la degradación de diversos residuos que contienen quitina, como las paredes celulares de los hongos fitopatógenos. Las endoquitinasas, cortan los enlaces internos de la quitina y las exoquitinasas escinden los productos generados por las primeras liberando monómeros de N-acetilglucosamina. Para estudiar los mecanismos de inducción o represión de estas enzimas, es necesario conocer las regiones estructurales y reguladoras de los genes que las codifican. *Trichoderma koningiopsis* POS7 fue seleccionado por nuestro grupo de trabajo por su amplia capacidad biocontroladora *in vitro*. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar estructuralmente *in silico* los genes que codifican para las enzimas endoquitinasas (*ech42*) y exoquitinasas (*nag1*) de la cepa *T. koningiopsis* POS7. Se generaron secuencias consenso de los genes *ech42* y *nag1*, a partir de secuencias previamente publicadas de otras especies del género *Trichoderma*. Estas secuencias generadas se mapearon con los 7.773.936 *reads* de la cepa *T. koningiopsis* POS7 utilizando el *software* Geneious 9.1.5. La nueva secuencia consenso obtenida de mayor longitud en relación al *coverage* se verificó a través de un blast en el NCBI, siendo repetido varias veces a fin de obtener las secuencias completas de los genes *ech42* y *nag1*. Se obtuvo una región estructural de 1468 pb del gen *ech42*, identificándose 4 exones y 3 intrones; y una región reguladora de 709 pb. Esta última presentó 2 cajas TATA, 3 cajas CAAT, 3 cajas CAAT invertidas y varios elementos de respuesta: 2 que corresponden al estrés fisiológico, 3 relacionados con la represión catabólica por carbono, 3 relacionados a la represión por nitrógeno y 4 sitios putativos de unión con proteínas con funciones reguladoras de la interacción fitopatógeno-biocontrolador. En relación al gen *nag1* se obtuvo una región estructural de 1881 pb identificándose 3 exones y 2 intrones; y una región reguladora de 884 pb. Esta última presentó 4 cajas CAAT, 7 cajas CAAT invertidas y varios elementos de respuesta: 1 que corresponde al estrés fisiológico, 2 relacionados con la represión catabólica por carbono, 4 a la represión por nitrógeno y 1 sitio de unión putativo para proteínas con funciones reguladoras durante el micoparasitismo. La caracterización *in silico* de las regiones estructurales y reguladoras de los genes *ech42* y *nag1* contribuyen en el estudio del rol de la cepa *T. koningiopsis* POS7 y sus enzimas en el control de hongos fitopatógenos.

GENES DE *Xanthomonas citri* subsp. *citri* INVOLUCRADOS EN RESPUESTA A ESTRÉS ABIÓTICO

María Victoria Barcarolo (1), Natalia Gottig (1), Jorgelina Ottado (1) Betiana Garavaglia (1)*

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Rosario, Argentina.

Xanthomonas citri subsp. *citri* (Xcc), agente causal de la canchrosia de los cítricos. Esta enfermedad afecta todas las variedades cítricas de uso comercial, provocando una disminución de la producción y calidad de los frutos. XAC0100 y XAC4007 son proteínas de Xcc con función desconocida que por homología de secuencias codificarían proteínas de respuesta general a estrés. En este trabajo estudiamos el comportamiento de estas proteínas frente al estrés abiótico al que se expone la bacteria durante la interacción planta-patógeno. Para ello, evaluamos los niveles de expresión de Xac0100 y Xac4007 por qRT-PCR en distintas condiciones de estrés abiótico (salino, oxidativo, desecación y crecimiento en fase estacionaria), observando una marcada inducción a nivel transcripcional de ambos genes ($p < 0,05$). Para estudiar la funcionalidad de estos genes generamos cepas mutantes no polares, Δ Xac0100 y Δ Xac4007, por doble evento de recombinación y evaluamos su comportamiento frente a condiciones de estrés abiótico. Mediante curvas de crecimiento en presencia de NaCl 0,25 M, Xcc y Δ Xac0100 presentaron un menor crecimiento, a diferencia de Δ Xac4007 que fue más tolerante al NaCl. En estrés oxidativo generado por H₂O₂ 10, 20 y 30 mM, observamos que Δ Xac4007 fue menos tolerante a la presencia de H₂O₂, mientras que Δ Xac0100 presentó un comportamiento similar a Xcc. En condiciones de estrés por desecación, las cepas mutantes presentaron una menor sobrevivencia respecto a Xcc ($p < 0,05$). Además, analizamos el efecto del uso de las proteínas XAC0100 y XAC4007 recombinantes en la sobrevivencia de bacterias en desecación, mostrando que el agregado de estas proteínas aumentó la tasa de sobrevivencia de las mismas ($p < 0,05$). Evaluamos además el posible efecto protector de XAC0100 y XAC4007 con respecto a la desnaturalización de proteínas. Para esto, la enzima Lactato deshidrogenasa (LDH) se sometió a ciclos de congelamiento/descongelamiento y se midió su actividad catalítica, en presencia y ausencia de XAC0100 y XAC4007, observando una recuperación entre 70-90% de la actividad después de los ciclos en presencia de las proteínas. Con los resultados obtenidos, postulamos que ambos genes participan en la respuesta a estrés abiótico y que las proteínas en estudio tendrían la capacidad de proteger a las bacterias en situaciones de déficit hídrico, evitando cambios estructurales al aumentar la estabilidad de otras proteínas celulares.

DETECCIÓN DE *Cryptosporidium* EN AGUAS DEL RÍO HUACO HASTA LA CAPITAL DE LA CIUDAD DE LA RIOJA

Evelyn Barrera (1)*, Celeste Gómez (1), Flavia Cerezuela (1), Liliana Recchioni (2),
Alejandra Soloaga (1), Patricia Córdoba (1)

(1) Departamento de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de La Rioja, Argentina. (2) Departamento de Ciencias Aplicadas. Universidad Nacional de La Rioja.

En Argentina *Cryptosporidium*, fue detectado con potencial zoonótico produciendo patologías en la población inmunocomprometida e inmunocompetentes. La Rioja se caracteriza por baja precipitación anual y la ciudad capital se abastece de agua del Rio huaco para potabilizarla y distribuirla. Dicho Rio, ubicado en las márgenes del cordón montañoso del Velazco, atraviesa zonas rurales con vacas, caballos, cabritos y cerdos. Desconocemos la presencia de este agente en el curso de este rio. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la presencia de *Cryptosporidium spp.* en 9 puntos en el curso del Rio huaco hasta la ciudad capital en tres épocas del año. Se recolectaron 10 litros de agua en cada uno de los puntos durante verano, invierno y primavera, correspondiente a 27 muestras totales. Los puntos de toma de muestras fueron Rio huaco arriba, Rio huaco abajo, sanagasta, dique oeste, dique este, el puesto, el puente y dos puntos de la capital, el centro de la ciudad y el Universidad nacional de La Rioja. Las muestras fueron filtradas por Equipo Millipore con filtro de 0.45 µm en equipo Millipore, luego concentradas por Telemann y visualizados por coloración de Ziehl-Neelsen (Z-N) modificada. La carga parasitaria se realizó por cruces considerándose positivo a partir de la visualización de más de 5 ooquistes en adelante. Los resultados muestran que de las 27 muestras obtenidas 20 (74%) fueron positivas. El 100% de las muestras obtenidas en primavera y verano fueron positivas mientras que el 66% de ellas lo fue en el invierno. Las cargas de parásitos observados por esta metodología fueron más numerosas en primavera, disminuyendo en el verano y el invierno, este último con 3 muestras negativas. Las muestras del agua potable, del centro de la ciudad y de la Universidad fueron negativas en invierno cuando disminuye su carga parasitaria. La presencia de *Cryptosporidium spp.* en el agua estudiada es un marcador de contaminación fecal que puede provenir de varios animales reservorios. Aunque aún no conocemos su potencial zoonótico, este agente no es monitoreado en el agua potable y parece no ser retenido por los procedimientos de la potabilización en nuestra ciudad. Una medida de vigilancia adecuada en las aguas superficiales es necesaria considerando que resiste las altas temperaturas y la cloración

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL SISTEMA DE GEOFILTRACIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES DE TAMBO

María Eugenia Beily (1)*, Vitón Mauro (1), Gabriel Morici (2), Javier Schapiro (2), Diana Crespo (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – INTA. Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola – (IMyZA). Hurlingham, Argentina. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. Instituto de Patobiología. Hurlingham, Argentina

La gestión de los efluentes generados en la producción de bovino de leche adquiere cada día mayor relevancia ambiental. La geofiltración (GF) es un tratamiento que consiste en la filtración de los efluentes, empleando geotextiles previamente acondicionadas con coagulantes/floculantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficiencia de la GF mediante el estudio de la remoción de sólidos, materia orgánica y patógenos presentes en un efluente de tambo. El ensayo se realizó en un tambo de 150 vacas en ordeño ubicadas en Gral. Las Heras, Bs. As., Argentina. El sistema de tratamiento consistió en: 1) Fosa de Recepción y Bombeo (FR) del efluente crudo, construida en hormigón 2) Celda de Drenaje (CD) construida con una geomembrana, donde es apoyado el geocontenedor (GD) de 68m³ de capacidad y apertura de poro de 0.35mm y 3) Laguna Facultativa (LF). La LF está comunicada con la CD a través de un canal abierto. El efluente se conduce al GD a través de una serpentina de PVC donde, mediante bombas dosificadoras, se le adicionan policloruro de aluminio y un polímero catiónico. Finalmente, el efluente, con los coag/floc incorporados, es inyectado en el GD, donde la fracción sólida es retenida y el líquido filtrado es conducido a la LF. Durante un mes se realizaron 2 tomas de muestras, una en la FR y la siguiente a la salida del GD. Se determinaron parámetros fisicoquímicos y microbiológicos por métodos de referencia, y huevos de nematodos gastrointestinales (NGI) mediante una técnica de recuperación de huevos basada en el uso de tamices, lavado con solución hipertónica de cloruro de sodio y lectura mediante una cámara de recuento de McMaster. Las muestras obtenidas en la FR mostraron una concentración de 3.1±0.28% de Sólidos Totales (ST) y 21.2±1.9 g/L de demanda química de oxígeno (DQO). Las muestras recolectadas luego del GD evidenciaron una concentración de 0.25±0.03% ST y de 0.27±0.06 g/L DQO. En lo que respecta a los patógenos, las muestras tomadas en la FR registraron 2400, 210 y 210 número más probable (NMP) para coliformes totales (CT), fecales (CF) y *E. coli*, respectivamente. La concentración inicial de huevos de NGI en FR fue de 374 h/L, mientras que resultó negativa luego del paso por el GD. El mismo resultado se obtuvo para CF y *E. coli*. Asimismo, las CT presentaron un 99% de remoción. Se concluye que el método de GF resultó ser altamente eficiente en la remoción de sólidos, materia orgánica y patógenos para efluentes generados en un tambo tradicional.

PRIMERA DETECCIÓN MOLECULAR DE *Varroa Destructor Virus-1* (VDV-1) EN COLONIAS DE *Apis mellifera* DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

Constanza Brasesco (1,4)*, Silvina Quintana (2,4), Vanesa Di Gerónimo (2), María Laura Genchi Garcia, Hernan Sguazza (3,4), María Emilia Bravi (3,4), Martín Eguaras (1,4), Francisco Reynaldi (3,4), Matías Maggi (1,4)

(1) Centro de Investigación en Abejas Sociales, Laboratorio de Artrópodos, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. (2) Laboratorio de Biología Molecular, Instituto de Análisis Fares Taie. (3) Laboratorio de Virología (LAVIR). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Apis mellifera puede ser infectada por 24 tipos de virus en todo el mundo. La mayoría de estos virus son ARN de polaridad positiva y pertenecen a las familias *Dicistroviridae* y *Flaviviridae*. Al igual que el virus de las alas deformes (DWV), *Varroa destructor Virus-1* (VDV-1) es vectorizado por el ácaro ectoparásito *Varroa destructor* aumentando su prevalencia y virulencia en las colonias de abejas. VDV-1 se relaciona estrechamente con DWV, existiendo eventos de recombinación entre ambos. El objetivo de este estudio fue detectar, mediante ensayos de RT-PCR en tiempo real, la presencia de VDV-1 en abejas adultas de colonias de la provincia de Buenos Aires. Se extrajo el ARN total de puelles de 10 abejas adultas, de diferentes colonias de 24 colmenares en 22 localidades de la provincia. Se digirió con DNasa y luego se realizaron reacciones de RT-PCR en tiempo real para detectar la presencia de VDV-1 con cebadores específicos, que generan un producto de amplificación de 204pb, de la región de la poliproteína estructural del genoma del virus. Para confirmar la detección se utilizó un segundo par de cebadores que amplifican 660 pb de la proteína helicasa del virus VDV-1. Todos los ensayos de PCR en tiempo real se llevaron a cabo con Evagreen como intercalante fluorescente. Como control interno para verificar la correcta extracción de ARN y la ausencia de inhibidores para evitar falsos negativos se realizó una amplificación del gen de β -actina de *A. mellifera*. Luego de las amplificaciones, los productos de PCR de VDV-1 fueron purificados y secuenciados para verificar que los mismos correspondieran a la secuencia de VDV-1 analizándolos mediante el software Blast. Los alineamientos más significativos se produjeron con secuencias reportadas del genoma completo del virus detectado en ácaros de los Países Bajos. De las 24 muestras analizadas, 21 (83%) fueron positivas para VDV-1 siendo este el primer reporte de detección de este virus en Argentina, en donde se observa que el mismo se encuentra en altas prevalencias en colonias de *A. mellifera* de la Provincia de Buenos Aires. Futuros estudios permitirán determinar el impacto de este virus *per se*, su capacidad de recombinación con el DWV en los colmenares de nuestro país, así como comparar el efecto patógeno de estos recombinantes con DWV y VDV-1.

ENFERMEDADES FÚNGICAS ASOCIADAS A *Quercus* spp.: DIAGNÓSTICO PRELIMINAR SOBRE EJEMPLARES DEL JARDÍN BOTÁNICO ARTURO E. RAGONESE.

Laura Carrasco (1), Bárbara Pidal Hepburn (2), Vanesa Mema (3)*

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina, Buenos Aires, Argentina. (2) Jardín Botánico "Arturo E. Ragonese", CIRN- INTA, Castelar, Argentina. (3) Fitopatología, IMYZA, CICVyA- INTA, Castelar, Argentina.

Las especies del género *Quercus*, son de comportamiento resistente y de bajos requerimientos agroecológicos, siendo la incidencia a enfermedades considerada como poco prioritaria en diversos estudios. Sin embargo, ante condiciones climáticas extremas o adversas como: sequía; excesos hídricos del suelo, heladas o la acción de tratamientos silvícolas inapropiados pueden predisponer o favorecer la proliferación de fitopatógenos. Las enfermedades fúngicas foliares, generan importantes daños dentro del género ya que inhiben la fotosíntesis y disminuyen el área foliar. En la actualidad existen numerosos reportes sobre patologías fúngicas en *Quercus* spp. en varias partes de Asia, Europa y Estados Unidos de América, siendo en Argentina escasa o nula la información. El objetivo del trabajo fue identificar agentes asociados a daños foliares en ejemplares arbóreos de diferentes especies de *Quercus* del Jardín Botánico A. E. Ragonese. Para ello se realizaron 3 muestreos de la colección viva del Jardín Botánico, y se evaluaron 47 ejemplares correspondientes a 10 especies diferentes, de los cuales se tomaron muestras de hojas con síntomas. Las mismas fueron colocadas en bolsas plásticas y rotuladas. En el laboratorio, se cortaron trozos de tejido vegetal enfermo, fueron desinfectados superficialmente por inmersión en alcohol etílico 70% (1 minuto) e hipoclorito de sodio 2% (1 minuto) y enjuagados con agua destilada estéril. Se cultivaron en placas de Petri con agar papa glucosa en estufa durante 7 días. Se observó el desarrollo de estructuras vegetativas y reproductivas bajo microscopio óptico y se identificaron a nivel de género con el uso de claves taxonómicas. El 72% de los ejemplares presentaron daños por manchas foliares, canchales, y presencia de hongos en estante; los fitopatógenos más frecuentes fueron *Alternaria* spp. en todas las especies de *Quercus* evaluadas, *Phoma* spp. con alta frecuencia en *Q. robur*, *Oidium* spp. en *Q. macrocarpa* y *Q. robur* y *Capnodium* spp. causando daños severos en *Q. suber*. Al tratarse de una Colección Viva de especies *ex situ*, se requerirá hacer un relevamiento en el cual se incorporen aquellas enfermedades que afecten al leño, o daños por canchales. Este estudio permitió profundizar el conocimiento sobre la dinámica de las enfermedades presentes y establecer acciones de manejo fitopatológico apropiadas, que garanticen ecosistemas sanos en el Jardín Botánico.

SECUENCIACIÓN DE ALTO RENDIMIENTO DEL GEN 16S RIBOSOMAL PARA EL ESTUDIO DE LA MICROBIOTA PRESENTE EN SUELO RIZOSFERICO DE CAÑA DE AZÚCAR EN UN SISTEMA DE CULTIVO DE ROTACIÓN CON SOJA

Paola D. Fontana (1)*, Cecilia A. Fontana (1), Pier S. Cocconcelli (2), Graciela M. Vignolo (3), Sergio M. Salazar (1)

(1) EEA INTA Famaillá, Tucumán, Argentina. (2) Università Cattolica del Sacro Cuore, Cremona, Italia. (3) CERELA-CONICET, Tucumán, Argentina.

En Argentina, la superficie con caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es de 365.000 ha, concentrada en el noroeste (98%), siendo Tucumán el principal productor del país, con un 68% del total nacional. El manejo agronómico y cultural de la caña de azúcar en los últimos años, incluye al menos dos características que inciden en el agroecosistema del cultivo; la cosecha en verde y la rotación con soja (*Glycine max*) para alternar entre una plantación y otra de caña. Estos aspectos resultan relevantes cuando se presentan cambios o alteraciones en el comportamiento de un determinado patosistema y/o en parámetros epidemiológicos. El objetivo de este trabajo fue explorar la composición y estructura microbiana en suelo rizoferico de caña de azúcar en un sistema de rotación con soja para contar con información básica que pueda generar conocimiento a cerca de las interacciones benéficas o no que existen entre los principales componentes microbianos del agroecosistema en estudio. Se realizó un muestreo durante dos campañas consecutivas, 2013-2014 y 2014-2015 (caña soca 1 y soca 2 respectivamente), en un lote en el noreste de la Provincia de Tucumán (La Ramada, Burruyacu). Se tomaron muestras de la zona en íntimo contacto con la cepa de caña a los 30, 90 y 180 días después de cosecha, por duplicado y en dos puntos dentro del surco. Se incluyó además, una muestra de suelo de monocultivo de caña para estudios comparativos. Se obtuvo ADN total de suelo empleando la tecnología FastPrep® (Qbiogene, Inc., CA). La composición de la comunidad microbiana se evaluó mediante la secuenciación del amplicón del gen 16S ADN Ribosomal (región variable V3-V4) empleando una plataforma MiSeq, Illumina (Illumina Inc., San Diego, CA). La asignación taxonómica mostró que el 99,4% de las secuencias se clasificaron correctamente a nivel de género y 94,4% a nivel de especie. Los análisis de diversidad beta, destacan la presencia de Bacillales, Rhizobiales, Rhodospirilliales, Xanthomonadales, Acidobacteriales entre los órdenes más abundantes. Los grupos a los que pertenecen diazotrofos de vida libre, como *Azospirillum*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter*, se presentan como componentes secundarios del suelo (bajo número). Estos datos sugieren que los grupos más abundantes identificados en este estudio, podrían contener bacterias con funciones biológicas relevantes para el crecimiento de las plantas, y más diversos que los reportados para las bacterias nitrogenadas asociadas con la caña de azúcar.

DINÁMICA DE MICROORGANISMOS ESPORULADOS AEROBIOS Y ANAEROBIOS EN SILO-BOLSAS DE SORGO UTILIZADO COMO ALIMENTO DE VACAS LECHERAS

Marcela González (1)*, Jorge Olivera (1), Pablo Chilbroste (1), Stella Reginensi (1)

(1) Facultad de Agronomía-UDELAR, Montevideo, Uruguay

El deterioro aeróbico y la alimentación con ensilaje del ganado lechero es una de las principales fuentes de microorganismos esporulados que intervienen en el deterioro de los productos lácteos manufacturados (quesos, polvos, leche). Las esporas bacterianas presentes en el ensilaje, pasan por el tracto digestivo y se concentran en las heces, contaminando el exterior de la ubre. La presencia de éstas en el ensilado, se asocia al proceso de deterioro aeróbico causado por el ingreso de oxígeno a través de la cubierta plástica, y fundamentalmente por la cara expuesta al aire cuando inicia la alimentación. Tomado como referencia tres localidades de la cuenca lechera sur, se realizó un pequeño relevamiento del estado de silo-bolsas de sorgo planta entera, desde el punto de vista fisicoquímico y microbiológico. En cada predio se tomaron muestras de cinco puntos de la pared frontal del silo en la apertura, y luego con muestreos periódicos cada 20 días hasta el consumo total. En cada punto de muestreo se registró la temperatura y la resistencia a la penetración como un indicador de densidad. Los análisis microbiológicos, fisicoquímicos y de composición realizados fueron: recuento de hongos filamentosos y levaduras, bacterias ácido lácticas, esporulados aerobios y anaerobios, pH, contenido de materia seca, cenizas, proteínas totales, fibra detergente ácido y fibra detergente neutra. Todos los parámetros se incluyeron como variables de respuesta en el análisis estadístico (SAS) y se analizaron las correlaciones entre las mismas. Los ensilajes estudiados mantuvieron buenos parámetros de valor nutricional y calidad microbiológica durante todo el período de utilización. La aparición de síntomas de deterioro, aumento de pH y temperatura, se observaron en la segunda mitad del periodo, y mostraron una alta correlación ($p < 0.01$) con el aumento de recuentos de esporulados aerobios (*Bacillus* spp.). Los recuentos de esporulados anaerobios (*Clostridium* spp.) siguieron el aumento de los otros grupos microbianos evaluados. Los puntos con síntomas de deterioro se corresponden con valores altos de pH (4,6-7,7), temperatura ($dT > 5^{\circ}\text{C}$) y recuentos de *Bacillus* spp. ($1,3 \times 10^6 - 3,2 \times 10^9$), así como también por la presencia de hongos. Las prácticas de remoción de silo y manejo de la cara expuesta tienen un efecto acumulativo en el deterioro, lo que ocasiona que los cambios significativos ocurran en la segunda mitad del período de utilización.

TRANSFERENCIA EXTRACELULAR DE ELECTRONES EN *Rhodopseudomonas palustris*

Aisha Guardia (1)*, Néstor Cortez (2), Juan Pablo Busalmen (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA), Mar del Plata, Argentina. (2) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR), Rosario, Argentina.

Rhodopseudomonas palustris es una bacteria fotosintética púrpura no-sulfurosa y posee una gran versatilidad metabólica. Este organismo es capaz de utilizar moléculas químicamente diversas como aceptores o dadores de electrones, incluyendo compuestos insolubles, lo que sugiere que podrían intercambiar electrones con un electrodo polarizado. Nuestro objetivo es caracterizar electroquímicamente una cepa autóctona de *R. palustris*. Previamente, mostramos que biofilms de esta cepa crecidos sobre electrodos de grafito bajo condiciones fotoheterótrofas, muestran señales redox que dependen del potencial de polarización. En este trabajo, analizamos la respuesta electroquímica de éstos biofilms sometidos a un potencial de 0,5V, potencial al cual el electrodo actúa como un aceptor de electrones. Mediante voltametrías cíclicas (CVs) detectamos un proceso de oxidación de muy alto potencial (0,7/ 0,8V), que permite la salida de electrones de la célula a muy baja corriente; detectamos también dos procesos reductivos a 0,2V y 0,4V, respectivamente, que muestran corrientes altas en el primer ciclo de barrido de potencial y una disminución marcada de las mismas en los ciclos subsiguientes. Una posible explicación para este comportamiento, es que el proceso de oxidación electroquímica de las moléculas relacionadas con las señales de reducción, sea lento a los potenciales estudiados y que se requieran entonces, tiempos de polarización más largos para drenar los electrones acumulados en esas moléculas durante el primer ciclo. En cualquier caso, nuestros resultados muestran que el biofilm es capaz de acumular carga en reservorios moleculares que están eléctricamente conectados con el exterior y que éstos pueden ser llenados tanto desde el electrodo, como por electrones provenientes del metabolismo, como evidencian la disminución del potencial del electrodo en ausencia de polarización y las curvas de descarga de corriente obtenidas a partir de la reconexión. En conjunto, nuestros resultados indican la producción de por lo menos dos grupos de moléculas de diferente potencial redox en respuesta a la polarización a potenciales oxidativos. Estas moléculas podrían participar de una estrategia para aliviar el exceso de equivalentes de reducción en presencia de luz, permitiendo la salida de electrones de la célula; o bien podrían ser parte de una vía respiratoria anaeróbica extracelular dirigida a aceptores de muy alto potencial.

ANÁLISIS DE PANGENOMA DEL GÉNERO *Shewanella* Y RELEVAMIENTO DE SUS MECANISMOS DE DEFENSA CONTRA UN ADN INVASOR

Andrés Iriarte (1), María Soledad Ramírez (2), Cecilia Quiroga (3)*

(1) Laboratorio de Biología Computacional, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República. (2) Department of Biological Science, California State University Fullerton, Fullerton, CA, USA. (3) Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), Facultad de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

Shewanella spp. es un bacilo gram-negativo no fermentador de la glucosa diseminado en nichos acuáticos. Esta bacteria es capaz de desarrollarse en una gran gama de entornos, lo que refleja una gran plasticidad metabólica y genética. Entre sus distintas propiedades, esta bacteria codifica para diversos mecanismos de defensa, tales como los sistemas de restricción y modificación (R-M), toxina/antitoxina, exclusión de fagos y CRISPR-Cas. Estos mecanismos protegen a las bacterias de la acción de material exógeno que pudiera ser dañino para el hospedador, ya sean fagos, plásmidos o elementos integrativos y conjugativos (ICE). El objetivo de este trabajo fue estudiar el pangenoma de *Shewanella* e identificar los sistemas inmunes innatos (sistemas de restricción y modificación, R-M) y adaptativos (sistemas CRISPR-Cas) distribuidos en este género. Para ello, se creó una base de datos con genomas completos y parciales de *Shewanella* spp. Se utilizaron 78 genomas de aislamientos de procedencia ambiental y clínica, cuatro de los cuales fueron secuenciados por nuestro grupo. Se generaron clusters de secuencias ortólogas de genes homólogos que permitieron construir un árbol filogenético con los genomas y se calcularon los respectivos índices ANI (*two-way*), que permitieron identificar 5 linajes altamente conservados en el género. Entre los sistemas inmunes observados se pudo comprobar que *Shewanella* posee tanto sistemas R-M como CRISPR-Cas. Todos los genomas poseían más de un sistema R-M siendo los más frecuentes los de tipo I y tipo III. Algunos de estos sistemas se localizan en islas asociadas a fagos o ICEs, por lo que pueden ser diseminados mediante eventos de transferencia horizontal. Por otro lado, el análisis de los sistemas CRISPR-Cas distribuidos en el pangenoma reveló que solo el 38.5% (30/78) de las cepas poseen alguno de estos sistemas. Se identificaron los tipos I-E, I-F y III-B, de los cuales 20 de ellos correspondieron al tipo I-F. No se observó una correlación de la presencia de los sistemas CRISPR-Cas con la procedencia de los aislamientos. El estudio del pangenoma del género *Shewanella* y de los mecanismos de defensa aportan información adicional sobre la capacidad de esta bacteria para adaptarse a diversos nichos extremadamente diferentes (ambiental o clínico) haciendo uso de una gran variedad de herramientas contra el ataque de material exógeno invasor así como también colaboran con la evolución y adaptación de los genomas en las distintas especies.

REGULACIÓN FINA DE LA ACUMULACIÓN DE POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) EN *Sinorhizobium meliloti* 2011 MEDIADA POR EL ARN PEQUEÑO NO CODIFICANTE MmgR

Antonio Lagares Jr.^{*a} (1,2), Germán Ceizel Borella^a (1), Uwe Linne (2), Anke Becker (2), Claudio Valverde (1)

(1) LBMIBS - Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina. (2) Universidad de Marburg, Marburg, Alemania. a los autores contribuyeron de igual manera a este trabajo

En el rizobio fijador de N₂ simbiótico de los nódulos radiculares de alfalfa, *Sinorhizobium meliloti* 2011, el gen *mmgR* codifica un ARN pequeño no codificante (sRNA) de 77 nucleótidos. Hemos caracterizado la función biológica del sRNA MmgR a través del estudio de los factores que regulan su expresión y de las alteraciones fisiológicas y moleculares consecuentes a la modificación de su abundancia intracelular. Hemos hallado que MmgR regula negativamente la acumulación de PHB (el polímero más importante de reserva de carbono (C) y poder reductor celular) cuando la bacteria se cultiva en condiciones de superávit de C en relación a nitrógeno (N). En esta situación de alta relación C:N, el transcripto MmgR impone un límite a la cantidad de PHB depositado en gránulos intracelulares recubiertos por las proteínas de interface PhaP1 y PhaP2. La ausencia del transcripto funcional MmgR resulta en la acumulación exagerada de gránulos de PHB y de las proteínas PhaP1/PhaP2, aparentemente a través del relajamiento de un mecanismo post-transcripcional aún no esclarecido. Por su parte, la expresión de *mmgR* -controlada principalmente a nivel transcripcional- es inducida ante la limitación de N, siendo el nivel máximo de expresión dependiente de la relación C:N en el medio. La díada parcialmente conservada (TTGTGCA[N₂]GCA[N₂]A) identificada entre los elementos -35 y -10 del promotor *mmgR* es necesaria y suficiente para la inducción de la expresión ante la limitación de N (directa o indirectamente mediada por el regulador global de estado nitrogenado NtrC) y para su represión ante la limitación de C (dependiente del regulador global del flujo de C AniA), posiblemente esta última a través del reconocimiento por AniA de la región central del motivo conservado diádico (TGC[N₃]GCA), región que hemos hallado se encuentra presente en zonas promotoras de diversos genes directamente vinculados al control transcripcional y metabolismo del PHB (*phaP1/P2*, *phaZ* y *phaR*) tanto en *S. meliloti* como en especies emparentadas. Por su parte, el promotor de *mmgR* se encuentra activo en todas las etapas de la interacción simbiótica del rizobio con las raíces de alfalfa. En conjunto, los resultados sugieren que el gen *mmgR* integraría señales provenientes del metabolismo de C y el N, a través de –al menos- los reguladores globales NtrC y AniA, para proporcionar un ajuste fino del flujo de C hacia la acumulación del polímero de reserva PHB en condiciones que son naturalmente permisivas para su síntesis.

COMBINACIÓN DE TECNOLOGÍAS PRECOSECHA TENDIENTES A MEJORAR LA VIDA ÚTIL POSCOSECHA DE LECHUGA MÍNIMAMENTE PROCESADA

Luciana Levy (1), Gabriela Fasciglione (1,4)*, María Gabriela Goñi (3,4), Alejandra Yommi (1), Adriana Andreu (3,4), Cecilia Creus (1)

(1) Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP-INTA EEA Balcarce), Balcarce, Argentina. (2) Grupo de Investigación en Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería, UNMDP, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN). UNMDP. Mar del Plata, Argentina. (4) CONICET, Argentina.

La obtención de lechuga mínimamente procesada involucra operaciones que generan un ambiente propicio para el desarrollo microbiano. La aplicación foliar postcosecha de quitosano extiende la vida útil de lechuga debido a sus propiedades antimicrobianas. La inoculación de semillas de lechuga con *Azospirillum* alivia diversos estreses, incrementa el rendimiento y el contenido de antioxidantes a cosecha. El objetivo de la investigación fue determinar el efecto combinado de la inoculación de lechuga con *A. brasilense* y el asperjado postrasplante con quitosano, sobre el sistema antioxidante y la calidad microbiológica durante la postcosecha de lechuga. Semillas de *L. sativa* cv. Elisa se inocularon con 10^9 UFC/mL de *A. brasilense* Sp245 y se colocaron en plugs en un invernadero de la EEA INTA-FCA, UNMDP. Plántulas de lechuga con 4 hojas expandidas se trasplantaron a macetas y la solución de quitosano (10g/l) se aplicó al trasplante, a los 7 y 21 días post-trasplante y 7 días previos a la cosecha. A cosecha las hojas fueron troceadas, envasadas y almacenadas (5°C) en bolsas de polipropileno en pools de 35 g. Se evaluó el peso fresco y seco aéreo (PFA y PSA) a cosecha y durante el almacenamiento se cuantificó: contenido de fenoles totales (FT) y capacidad secuestrante de radicales libres (CSRL) y las UFC/mL PF de bacterias mesófilas (MES) y hongos y levaduras (HyL). Se evaluó la significancia de los factores: DIA (tiempo de almacenamiento) y los 4 tratamientos generados: CONTROL sin aplicaciones, AZO: inoculadas con *Azospirillum*; QUIT: con aplicaciones de quitosano y AZO+QUIT: inoculadas con *Azospirillum* y con aplicaciones de quitosano). Las aplicaciones de quitosano redujeron el PFA (7.5%) al momento de la cosecha en las plantas QUIT, efecto que fue atenuado por la inoculación en las plantas AZO+QUIT, mientras que independientemente del tratamiento con quitosano, la inoculación incrementó el PSA (15%). A cosecha las plantas QUIT y AZO+QUIT presentaron menores recuentos de MES (20%) y HyL (30%) efecto que se mantuvo hasta el 6^{to} y 10^{mo} día de almacenamiento, respectivamente. Por otro lado, la inoculación incrementó los FT y la CSRL en los tratamientos AZO y AZO+QUIT únicamente hasta el 3^{er} de almacenamiento. En conclusión, combinación de la inoculación con *Azospirillum* y la aplicación precosecha de quitosano permiten incrementar el rendimiento a cosecha y mantener la calidad microbiológica de lechuga mínimamente procesada hasta el 6^{to} día de almacenamiento.

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA MICROBIOTA COMPONENTE DE GAVIOTAS QUE FRECUENTAN BASURALES EN ENSENADA Y PUERTO MADRYN, ARGENTINA

Eliana Lorenti (1)*, Javier Origlia (2), Hugo López (2), Gabriela Giacoboni (3), Florencia Cremonte (4), Julia I. Diaz (1)

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CCT La Plata CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. (2) Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, La Plata, Argentina. (3) Laboratorio de Microbiología Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, La Plata, Argentina. (4) Laboratorio de Parasitología (LAPA), IBIOMAR (CCT CONICET-CENPAT), Puerto Madryn, Argentina

El crecimiento poblacional de gaviotas de diferentes especies a lo largo de su distribución en Argentina se asocia al incremento de rellenos sanitarios urbanos y descartes pesqueros no tratados. Al estar en contacto con estos ambientes, las gaviotas se constituyen en posibles vectores y diseminadoras de bacterias patógenas. Por ello, el objetivo de este trabajo es conocer la microbiota componente de las gaviotas que utilizan basurales como fuente de alimentación, en diferentes áreas de distribución. Se realizaron 20 hisopados cloacales a gaviotas cocineras (*Larus dominicanus*) y a 30 gaviotas capucho café (*Chroicocephalus maculipennis*) capturadas en el relleno sanitario de Ensenada (CEAMSE) (Buenos Aires) y 37 hisopados cloacales de gaviotas cocineras en los Cuencos Municipales de Puerto Madryn (Chubut). Para cada hisopado cloacal se utilizó un hisopo estéril en medio de transporte Cary-Blair. En el laboratorio los hisopos se colocaron en un caldo nutritivo entre 12 y 24h para posteriormente tomar una muestra y colocarla en caldo selenito. Pasadas las 24h de incubación a 37°C, se sembró en placas de agar MacConckey y Hektoen que se incubaron a 37°C entre 24 y 48h. Se seleccionaron colonias por sus características morfológicas las cuales fueron repicadas en placas de agar tripteína soya para proceder a la identificación de las bacterias mediante pruebas fenotípicas (TSI, SIM, citrato de Simmons, agar lisina hierro, hidrólisis de la urea, ensayo del rojo de metilo y Voges-Proskauer, ONPG). Luego de 24 a 72h de incubación a 37°C, los resultados fueron observados e interpretados. Se obtuvieron resultados del 20% de gaviotas cocineras y del 50% de gaviotas capucho café capturadas en el CEAMSE, y del 70% de gaviotas cocineras analizadas de los Cuencos Municipales. Se aislaron e identificaron las siguientes enterobacterias: *Citrobacter* spp., *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Kliebsella* spp., *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella* spp. y *Serratia marcescens*. Las especies del género *Proteus* fueron las más prevalentes tanto para las gaviotas cocineras de Puerto Madryn (30%) como para las gaviotas capucho café de Ensenada (60%). Este estudio nos permite ampliar el conocimiento acerca de la microbiota componente de aves asociadas a ambientes antrópicos, lo cual proveerá información sobre el estado de contaminación de los ambientes y sobre el potencial diseminador de bacterias patógenas de las aves involucradas.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA REGIÓN ITS1-5.8S-ITS4 ENTRE CEPAS DE *Candida parapsilosis* (*sensu stricto*) DE AISLADOS CLÍNICOS Y AMBIENTALES

Lucas Madrassi (1)*, Karina Salvatierra (1), Vanesa Mabel Eugenia Sosa (1), Isabel A. Seňuk (1), María V. Askenazi (1), María Isabel Fonseca (2), María C. Vedoya (1)

(1) Laboratorio de Micología "Dra. Martha G. Medvedeff" Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Misiones. Argentina. (2) Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UNaM, Campus Universitario UNaM. Posadas, Misiones, Argentina.

El género *Cándida* corresponde a un grupo de hongos levaduriformes de interés médico. El complejo *Cándida parapsilosis* se caracteriza por su amplia distribución en la naturaleza, y ocasionar candidiasis humanas. La especie más frecuente dentro del complejo es *Cándida parapsilosis* (*sensu stricto*) cuya identificación se realiza habitualmente mediante el estudio del fragmento TIS1-5.8S-ITS4 de ARN ribosomal. El objetivo del trabajo fue realizar una comparación de la secuencia nucleotídica de *C. parapsilosis* (*sensu stricto*) de la región TIS1-5.8S-ITS4 de cepas de aislados clínicos y de diversos ambientes naturales. Se trabajó con secuencias nucleotídicas (359 nt) de 33 cepas de aislados clínicos locales y 470 secuencias nucleotídicas obtenidas de la base de datos Internacional GenBank (390 secuencias clínicas de 14 países, y 80 secuencias ambientales de 7 países), y se incluyó la cepa *C. methapsilosis* ATCC96144 como grupo externo. Se utilizó el programa Mega7 para el alineamiento, edición y análisis filogenético (Neighbor joining) de las secuencias. Los resultados indicaron que 10/503 (2%) secuencias mostraron algún polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) que producen un cambio aminoacídico. Las secuencias que presentaron SNPs eran de aislados clínicos provenientes de Argentina, Australia, Estados Unidos y Reino Unido. Algunas secuencias mostraron un cambio nucleotídico, transición purínica, que produce un cambio aminoacídico I (isoleucina) por V (valina), y otras secuencias mostraron una transición pirimidínica C que produce un cambio aminoacídico V por A (alanina). Una secuencia proveniente de un aislado clínico de Brasil, muestra una inserción de un triplete de nucleótidos, que codifica el aminoácido D (aspartato). Las cepas que presentan SNPs, aparecen como subramificaciones del nodo principal, sin embargo, la cepa que presenta una inserción de nucleótidos no produjo un cambio en el ordenamiento filogenético, es decir, esta cepa se agrupó al nodo principal. Ninguna cepa de aislados ambientales presentó SNP en la secuencia nucleotídica. El análisis del fragmento TIS1-5.8S-ITS4 de *C. parapsilosis* (*sensu stricto*) de aislados de muestras clínicas como ambientales formaron un único nodo en el árbol filogenético, sin observar diversidad biológica, a pesar de observar SNP en algunas secuencias analizadas.

SECUENCIACIÓN GENÓMICA Y CARACTERIZACIÓN TOXICOLÓGICA DE *Bacillus thuringiensis* Bt-cul

Antonella Molla (1), Diego Sauka (2,3)*, Angelika Fiodor (4), Melisa Pérez (2,3), María I. Onco (2,3), Eleodoro E. Del Valle (5), Javier Caballero (6), Cecilia Peralta (3), Primitivo Caballero (6) y Leopoldo Palma (1,3).

(1) Instituto de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Argentina (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Argentina. (4) Departamento de Microbiología, Instituto de Biología, Universidad de Bialystok, Polonia. (5) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Argentina. (6) Instituto de Agrobiotecnología, Universidad Pública de Navarra, España.

Bacillus thuringiensis es una bacteria que produce durante la esporulación inclusiones cristalinas proteicas con actividad insecticida específica contra diversas especies de insectos. Esta propiedad la ha convertido en el agente de control biológico más utilizado y comercializado a nivel mundial. La utilización continua de los mismos eventos en plantas transgénicas (ej. toxina Cry1Ac), ha generado la aparición de especies resistentes. Por ello, resulta imperativo obtener nuevas cepas y/o toxinas con el objeto de mantener el potencial insecticida de este recurso biológico. El objetivo de este trabajo fue identificar genes de toxinas insecticidas presentes en el genoma de *B. thuringiensis* Bt-Cul, y conocer su patogenicidad y espectro insecticida. Bt-Cul fue aislada en agar nutritivo de una muestra de suelo de la localidad de Cululú (Santa Fe). Se identificaron cristales romboidales en extendidos teñidos con azul de Coomassie bajo microscopio óptico de campo claro. La secuenciación Illumina del DNA genómico total se realizó en StabVida (Portugal) con una cobertura de 1000x. El ensamblado de las lecturas se realizó utilizando el software Geneious R10, y la anotación de secuencias codificantes (CDs) utilizando el servidor RAST. Se realizaron bioensayos cualitativos de toxicidad empleando larvas de 2º estadio de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), neonatas de *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) y *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), y del nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus*. La detección cualitativa de la producción de β -exotoxina se realizó determinando los adultos de *Musca domestica* que emergieron post-tratamiento y mediante la detección por PCR del gen *thuE*. En cuanto a la secuenciación genómica, tras el ensamblaje, se obtuvieron 68 contigs con un tamaño total de 6.134.085 bp y un porcentaje de G+C de 34,9%. La anotación permitió delimitar 6.337 CDs de entre las cuales una, mostró un 64% de identidad con la toxina Cry8la1. Otras dos CDs mostraron homología con toxinas mosquitocidas putativas. Bt-Cul resultó moderadamente tóxica para *C. pomonella*, levemente tóxica para *A. diaperinus* y *A. grandis*, y atóxica para *P. redivivus*. Mostró no producir β -exotoxina, ni portar genes asociados a su producción. Investigaciones adicionales son necesarias para establecer el verdadero potencial insecticida de Bt-Cul y sus toxinas frente a otros insectos plagas.

CARACTERIZACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *Bacillus thuringiensis* ALTAMENTE TÓXICAS PARA *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae)

María I. Onco (1,2)*, Diego Sauka, (1,2), Melisa Pérez (1,2), Graciela Benintende (1)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA). Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

El manejo de *Cydia pomonella*, plaga principal de frutales de pepita, se basa en el uso de insecticidas químicos con los riesgos ambientales que acarrear. Por esto, tecnologías a base de *Bacillus thuringiensis* constituyen una alternativa eficaz y segura por su toxicidad selectiva alta e impacto casi nulo que generan en los ecosistemas. La característica principal de esta bacteria es que produce cuerpos cristalinos constituidos por proteínas Cry/Cyt durante la esporulación, tóxicos para larvas de insectos. Puede secretar otros factores de virulencia durante la fase vegetativa de crecimiento, que le confieren capacidad de multiplicarse en el huésped y producir septicemia. El objetivo de este trabajo fue caracterizar fenotípica y genotípicamente cepas nativas de *B. thuringiensis* con alta toxicidad para larvas neonatas de *C. pomonella*. Se emplearon 5 cepas nativas de *B. thuringiensis* (INTA H12-5, INTA Mo1-7, INTA 54-8, INTA L93-3, e INTA H42-1) pertenecientes al cepario IMYZA-INTA, seleccionadas a partir de un estudio de tamizaje previo. Se identificaron en ellas cristales bipiramidales y cúbicos bajo microscopio de contraste de fases. Se observaron bandas de aproximadamente 130 y 65 kDa mediante SDS-PAGE, asociadas a la morfología de cristales y consistentes con la presencia de genes *cry1* y *cry2* detectados a través de PCR. Por la misma metodología se descartó la presencia del gen *thuE*, sugiriendo que no producirían β -exotoxina. Todas mostraron perfiles electroforéticos de REP-PCR idénticos y perfiles plasmídicos similares a los de la cepa serovar *kurstaki* HD-1. Aparecieron diferencias cuando se analizaron los perfiles de genes de toxinas insecticidas obtenidos. INTA L93-3 e INTA Mo1-7 por un lado, e INTA 54-8 e INTA H12-5 por otro, presentaron perfiles similares que se diferenciaron por la ausencia de *cry1Ab* en el último grupo. INTA H42-1 presentó un perfil génico atípico no descrito previamente (*cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac* y *cry2Aa*). Finalmente se cuantificó la virulencia estimando valores de CL_{50} . INTA H12-5 ($CL_{50}=1,2$ μ g de biomasa/ml dieta) resultó ser la más tóxica. No existieron diferencias significativas entre los valores obtenidos para todas las cepas. Por lo expuesto, INTA H12-5 podría considerarse como ingrediente activo de un formulado de alta toxicidad para *C. pomonella* de aplicación regional. Otra cepa a tener en cuenta sería INTA H42-1, debido a una toxicidad similar a la de HD-1 y a las variaciones en su perfil génico de toxinas insecticidas.

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Alternaria* ASOCIADAS A CORAZÓN MOHOSO EN MANZANAS DEL ALTO VALLE DE RÍO NEGRO

María de los Ángeles Pérez (1), Soledad Ramírez (1), Graciela Pose (1,2)*, Elizabeth Benavides Rozo (1)

(1) UNRN, Villa Regina, Argentina. (2) CONICET, Buenos Aires, Argentina.

El Alto Valle de Río Negro es una zona frutícola por excelencia. Esta región se caracteriza por ser la primera productora y exportadora de frutas de pepitas del país. Las enfermedades causadas por hongos en una problemática de estos frutos, ya que provocan el deterioro de los mismos. Asimismo, los mohos pueden producir micotoxinas, contaminando directamente productos y subproductos de consumo humano. Una de las principales enfermedades que afecta a manzanas es el “corazón mohoso”. En la región del Alto Valle el INTA realizó estudios que permitieron determinar a *Alternaria* spp. como causantes del corazón mohoso seco. El género *Alternaria* incluye alrededor de 50 especies y se conoce son capaces de producir al menos 70 metabolitos secundarios. El objetivo de este trabajo fue identificar a nivel de especie los aislamientos pertenecientes al género *Alternaria* causantes de “corazón mohoso” en manzanas en el Alto Valle de Río Negro. La correcta identificación de hongos a nivel de especie es importante debido a que el conocimiento del conjunto de caracteres que les es propio hace posible predecir la producción de metabolitos secundarios o su comportamiento fisiológico. Frutos de manzano (*Malus domestica*) fueron colectados a campo y en cámaras frigoríficas. Los mismos fueron partidos en su eje ecuatorial para determinar la presencia de la enfermedad. Trozos de endocarpio infectados fueron inoculados en placas de Petri conteniendo Agar Papa Dextrosa (PDA). Las placas fueron incubadas a 25°C durante 7 días. La identificación a nivel especie se llevó a cabo desde cultivos monospóricos siguiendo la clave propuesta por Simmons 2007. Se determinó que la principal especie causante de “corazón mohoso” es *A. tenuissima*. La especie identificada está reportada como productoras de micotoxinas tales como Alternariol (AOH), Alternariol Monometil Eter (AME) y Acido Tenuazonico (AT), entre otras. Dado que esta patología no puede ser determinada *a priori* en el proceso de selección tradicional de materia prima, y que la producción de micotoxinas fue constatada sobre sustrato natural, el monitoreo de la misma y de micotoxinas de *Alternaria* en productos derivados de manzana sería recomendado, considerando que frutos contaminados pudieran alcanzar el proceso.

EMPLEO DEL EXTRACTOS DE *Achyrocline satureioides* PARA EL CONTROL DE *Paenibacillus larvae*, PATÓGENO DE ABEJAS

Diana C. Pimentel Betancurt (1,2), Ma. Fernanda Paletti Rovey (1), Carolina Cassina (1), Viviana Beoletto (1), Ma. de las Mercedes Oliva (1)*, Juan Miguel Marioli (2)

(1) Departamento de Microbiología e Inmunología. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. (2) Departamento. de Química. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina

Paenibacillus larvae, es el responsable de la Loque Americana (AFB). Las esporas del patógeno llegan hasta la larva a través de alimento contaminado, en el intestino germinan y proliferan masivamente hasta causar la muerte. Durante la infección, *P. larvae* secreta proteasas que podrían estar involucradas en la patogenicidad. Para el control de AFB, se utilizan antibióticos que actúan sobre el bacilo, pero no sobre la espora, generando resistencia y dejando residuos en la miel. Los extractos vegetales se proponen como una alternativa ecológica y aceptable para el tratamiento. *Achyrocline satureioides* es una planta nativa, ampliamente utilizada por sus propiedades farmacológicas y antibacterianas. En este trabajo se evaluó el efecto del extracto hexánico (EH) de *A. satureioides* sobre el crecimiento, la producción de proteasas y la germinación de esporas de *P. larvae* bajo distintas condiciones de cultivo. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) del EH por el método de microdilución. Para evaluar el efecto del EH sobre el crecimiento bacteriano, se realizaron mediciones de DO a diferentes tiempos y se observó el comportamiento del tratamiento con EH adicionado al inicio del ensayo y a la mitad de la fase exponencial, con respecto al control (sin extracto). Se analizó el efecto del EH en la germinación de la espora, realizando tratamientos térmicos en diferentes tiempos de la curva de crecimiento y sembrando en placas con agar MYPGP. La producción de proteasas se determinó de manera cualitativa, evidenciando la presencia o ausencia de halos de hidrólisis en placas de agar leche. La CIM del EH de *A. satureioides* fue de 0,39 µg/ml. El EH adicionado desde el inicio y en la fase exponencial, afectó el crecimiento de *P. larvae* al no observarse cambios en la DO a lo largo del ensayo. Luego del tratamiento térmico se observó escasa o nula turbidez en los tubos con EH, así mismo, en placas con agar MYPGP, el número de colonias disminuyó comparado con el control. La producción de proteasas se vio afectada por la presencia del EH observándose halos de menor tamaño o ausencia de los mismos en comparación con el control. En conclusión el tratamiento con EH actuó sobre la célula vegetativa controlando su crecimiento y evitando que la espora germine en presencia de éste. Hubo una disminución de la actividad proteolítica en presencia del EH. Se podría llegar a emplear el EH de *A. satureioides* como una medida preventiva y prometedora para el control de la AFB.

DETECCIÓN DE *Lotmaria passim* (Trypanosomatidae) MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL EN ABEJAS ADULTAS DE COLONIAS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA. COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE DETECCIÓN MOLECULAR

Silvina Quintana (1,2,4)*, Santiago Plischuk (4,5), Constanza Brasesco (1,4), Vanesa Di Gerónimo (2), María Laura Genchi Garcia (3,4), María Emilia Bravi (3,4), Martín Eguaras (1,4), Francisco Reynaldi (3,4), Matías Maggi (1,4)

(1) Centro de Investigación en Abejas Sociales, Laboratorio de Artrópodos, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. (2) Laboratorio de Biología Molecular, Instituto de Análisis Fares Taie. (3) Laboratorio de Virología (LAVIR). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. (5) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores. CEPAVE (CONICET - UNLP)

La especie de protista *Lotmaria passim* (Trypanosomatidae) ha sido recientemente descrita como un parásito del tracto digestivo de la abeja melífera (*Apis mellifera*). Se desconoce aún si se haya presente en la provincia de Buenos Aires, área de mayor productividad apícola de Sudamérica. El objetivo de este estudio fue detectar, mediante ensayos de PCR en tiempo real, la presencia de ADN de *L. passim* en abejas adultas de colonias de la provincia de Buenos Aires. Se extrajo ADN total de pooles de 10 abejas adultas provenientes de 24 colmenares en 22 localidades y se realizaron reacciones de PCR en tiempo real con tres pares diferentes de cebadores específicos para detectar la presencia de *L. passim*, los cuales amplifican fragmentos de 153 y 459 pb a partir del ADN 18S ribosomal y 402 pb a partir del gen GAPDH, respectivamente. Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado con Evagreen como intercalante fluorescente. Se realizó una amplificación de β -actina de *A. mellifera* como control interno para verificar la correcta extracción de ADN y la ausencia de inhibidores para evitar falsos negativos. Luego de las amplificaciones, los productos de PCR fueron purificados y secuenciados con el fin de verificar que los mismos correspondieran a *L. passim* y fueron analizados mediante el software BLAST. De las 24 muestras analizadas, 17 (70%) fueron positivas para *L. passim*. Las diferentes alternativas de detección mostraron resultados disímiles, lo cual podría deberse a las diferencias en los tamaños de los fragmentos amplificados, mostrando los de mayor tamaño una menor tasa de detección, probablemente debido a degradación del ADN. Las secuencias de las muestras analizadas mostraron alta homología (99%) con las secuencias de *L. passim* provenientes de Uruguay, Bélgica y USA presentes en el Genbank. Este trabajo demuestra la presencia de *L. passim* en colmenares de la provincia de Buenos Aires y resalta además la importancia de la utilización de las nuevas técnicas de diagnóstico y de su correcta aplicación. Debido a que se desconocen tanto la virulencia de *L. passim* como las patologías asociadas a su presencia, urge determinar el impacto de su elevada prevalencia en las poblaciones de *A. mellifera* de la región.

***Aspergillus* SECCIÓN *Aspergillus* DE SUELOS SEMIÁRIDOS DEL NOROESTE ARGENTINO**

Stella Maris Romero (1,2), Augusto Fumagalli (1), Mara Martín (2,3), Viviana Barrera (3)*,
Andrea Irene Romero (1,2)

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Micología y Botánica (InMiBo). Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA). Bioinsumos Fúngicos. Buenos Aires, Argentina.

Las especies de la sección *Aspergillus* (anteriormente conocidas como *Eurotium*, cambio de acuerdo con el ICN actual) se caracterizan por tener usualmente cleistotecios amarillos, ascosporas lenticulares, cabezas conidiales uniseriadas en tonos verdosos o azulados y a menudo hifas con incrustaciones naranja amarillento a rojas. Los miembros de esta sección crecen en sustratos de baja actividad acuosa, están universalmente distribuidos en la naturaleza y presentan comportamiento xerofílico o halofílico. En este trabajo se planteó como objetivo identificar a nivel de especie los aislamientos obtenidos mediante estudios de cultivo, morfológicos y moleculares. Se analizaron 41 muestras de suelo de la Provincia de Catamarca (departamentos de La Paz, Capayán, Pomán, Andalgalá, Santa María, Belén y Tinogasta) provenientes de muestreos de verano (2009) y de invierno (2011). Alrededor de 5 g de cada muestra fue colocado en superficie en cajas de Petri con el medio Agar Diclorán 18% de glicerol y se incubaron a 25°C hasta 30 días. Para la identificación se realizaron estudios de caracteres morfológicos, de cultivos y moleculares. Se hicieron siembras en Agar Czapek Extracto de Levadura (CYA), CYA con 20% de sacarosa (CY20S), Agar Extracto de Malta (MEA) y MEA con 20 % y 40 % de sacarosa y se incubaron a 25°C y 37°C. Los caracteres morfológicos fueron observados tanto con microscopio óptico como con microscopio electrónico de barrido especialmente para el estudio de la ornamentación de la pared de las ascosporas. En cuanto a los caracteres moleculares, con los marcadores genéticos β -tubulina y calmodulina se realizaron análisis filogenéticos mediante Máxima Parsimonia y con el método de "Neighbor-Joining". Del total de muestras analizadas se obtuvieron 44 aislamientos a partir de 24 muestras, en el resto de las muestras estudiadas no se obtuvieron cepas de *Aspergillus* de la sección *Aspergillus*. A partir de los resultados de las tres fuentes de caracteres se identificaron hasta el momento: *Aspergillus chevalieri* L. Mangin, *A. glaucus* (L.) Link, *A. montevidensis* Talice et J.A. Mackinnon y *A. ruber* (J. König, Spieck. et W. Bremer) Thom et Church. Todas estas especies han sido anteriormente citadas en Argentina, aunque estos constituyen los primeros datos para esta región. Se observó menor diversidad de especies que la esperada, considerando la procedencia de las muestras y la naturaleza xerófila de este grupo.

ANÁLISIS *in silico* DE LA REGIÓN ESTRUCTURAL Y REGULADORA DE DOS VARIANTES DEL GEN QUE CODIFICA PARA LA ENZIMA β -1,3-EXOGLUCANASA EN *Trichoderma koningiopsis*

Julieta N. Soarez (1), María L. Castrillo (1,3)*, Gustavo A. Bich (1,3), Natalia S. Amerio (1,3), Mario C.N. Saparrat (2,3), Pedro D. Zapata (1,3), Laura Villalba L (1)

(1) Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca"- InBioMis, Universidad Nacional de Misiones. Posadas 3300, Misiones, Argentina. (2) Instituto de Fisiología Vegetal - INFIVE. Centro Científico Tecnológico Conicet. Argentina. (3) CONICET (Centro Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas).

Uno de los mecanismos por medio del cual los hongos antagonistas de *Trichoderma* controlan hongos fitopatógenos es la degradación de la pared celular, específicamente el polímero β -1,3-glucano. Los sistemas enzimáticos involucrados por *Trichoderma* en este proceso incluyen la acción sinérgica de la β -1,3-endoglucanasa y β -1,3-exoglucanasa. La caracterización de las secuencias génicas que codifican estas enzimas son herramientas prometedoras para diseñar un eficaz control. Por lo tanto, se propuso analizar las secuencias estructurales y reguladoras de dos variantes del gen que codifica para la enzima β -1,3-exoglucanasa de la cepa *T. koningiopsis* POS7. A partir de secuencias génicas disponibles que codifican para la enzima β -1,3-exoglucanasa en diferentes especies del género *Trichoderma*, se generaron secuencias consensos que se mapearon con los 7.773.936 reads del aislamiento *T. koningiopsis* POS7 utilizando el software *Geneious 9.1.5*. Los software libres *Clustal Omega* e *Integrative Genomics Viewer* fueron utilizados para analizar las regiones exónicas e intrónicas de la región estructural de dos genes, así como también sus regiones reguladoras. De la variante 1 del gen β -1,3-exoglucanasa se obtuvo una secuencia génica estructural de 5234 pb, con 11 exones y 10 intrones, y una región reguladora de 824 pb. En esta última se localizaron 3 cajas TATA, 1 caja CAAT, 2 cajas CAAT invertidas. Además se identificaron varios elementos de respuesta: 3 relacionadas a la represión catabólica por nitrógeno, 2 corresponden a la represión catabólica por carbono, 1 corresponde al estrés fisiológico y 1 sitio de unión putativo para la proteína con funciones reguladoras durante el parasitismo. De la variante 2 del gen β -1,3-exoglucanasa se obtuvo una secuencia génica estructural de 2310 pb, con 1 exón y una región reguladora de 827 pb. En esta última se localizaron 6 cajas TATA, 1 caja CAAT y 1 caja CAAT invertida. Además se identificaron varios elementos de respuesta: 2 que corresponden a represión catabólica por carbono, 1 relacionada a la represión por nitrógeno, 2 que corresponden al estrés fisiológico y 1 sitio de unión putativo para la proteína con funciones reguladoras durante el parasitismo. Puesto que *T. koningiopsis* POS7 es portadora en su genoma de dos variantes del gen que codifica para la enzima β -1,3-exoglucanasa, futuros estudios de expresión revelarán si existe contribución diferencial de cada una de ellas en el biocontrol de hongos fitopatógenos.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITES ESENCIALES DE *Origanum vulgare* Y *Thymus vulgaris* SOBRE SEMILLAS DE SOJA INFECTADAS CON *Pseudomonas syringae* FITOPATÓGENAS

Jesica Sotelo (1), Ma. Evangelina Carezzano (1), Melina Giordano (1), Viviana Beoleto (1), Walter Giordano (2), Juan Miguel Marioli (3), Ma. de las Mercedes Oliva (1)*

(1) Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (2) Departamento de Biología Molecular, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (3) Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, FísicoQuímicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Las semillas de soja pueden transportar a *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, causante del tizón bacteriano. Como control se suelen utilizar compuestos que generan resistencia, por lo que se sugiere la rotación de cultivos y utilización de semillas sanas. Como alternativa, se está probando la aplicación de aceites esenciales (AE) con actividad antimicrobiana (AA) sobre plantas y semillas infectadas. Estudios previos confirmaron la AA del AE de tomillo y de orégano sobre cepas de *P. syringae* aisladas de soja. El objetivo de este trabajo fue analizar la AA de AE obtenidos de *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris* sobre semillas de soja infectadas con *P. syringae* fitopatógenas. Para ello se infectaron semillas con las cepas *P. syringae* Q y *P. syringae* pv. *glycinea* B076. Se trataron las semillas con concentraciones inocuas de AEO/AET y se sembraron en placas de AKB. Además se evaluaron los siguientes parámetros: % de germinación, longitud de radícula y emergencia de plántulas. Para analizar la posible transmisión por la semilla, se sembraron las mismas (infectadas y tratadas con AEO/AET y sin tratar) en macetas. Se realizaron controles de semillas sin tratar y sin infectar. Se observó en las semillas tratadas con ambos AE, que se producía crecimiento bacteriano en la zona de contacto con el medio de cultivo, mientras que en la sin tratar el crecimiento era mayor. Las semillas infectadas con *P. syringae* Q o con B076 y tratadas con AEO mostraron mayor porcentaje de germinación y emergencia de plántulas que las control infectadas. El porcentaje de emergencia de plántulas de semillas infectadas fue de 50% y de las tratadas fue 100% de emergencia. Con el AET tanto la germinación, como la longitud de la radícula de las semillas tratadas se acercaron a los resultados del control. Se observó el 25% de emergencia de plántulas con semillas infectadas mientras que las tratadas con AET emergieron el 100%. En las macetas sembradas con semillas infectadas y tratadas con AE no se observaron manchas, asemejándose a los controles, incluso hasta la aparición del fruto. De las semillas infectadas y no tratadas, crecieron plantas que presentaron la enfermedad. Tanto el AEO como el de AET disminuyeron la carga microbiana de semillas infectadas, permitieron recuperar la capacidad de germinación y de emergencia de las mismas y disminuyeron los síntomas en hojas. Ambos AE podrían ser considerados como desinfectantes de semillas para evitar la dispersión del patógeno, sin generar resistencia bacteriana y dejar residuos tóxicos en el ambiente.

REPORTE DE *Stemphylium vesicarium* AGENTE CAUSAL DE “MANCHA NEGRA” EN PERALES

Marisa Aluminé Tudela (1), Graciela Pose (2,3)*, Susana Di Masi (1)

(1) INTA EEA Alto Valle, Gerrico, Argentina. (2) CONICET, Buenos Aires, Argentina. (3) UNRN, Villa Regina, Argentina.

El cambio climático es uno de los principales factores que conduce al surgimiento de enfermedades infecciosas emergentes causadas por bacterias y hongos. Tal como sucede en otras partes del mundo, las condiciones climáticas en el Alto Valle del Río Negro están cambiando, manifestándose mediante un aumento considerable de las precipitaciones y aumento de la humedad ambiente. Esto ha provocado la aparición de fruta con síntomas de nuevas enfermedades para la región. La “mancha negra” (Brown Spot of Pear – BSP) es una enfermedad fúngica causada por *Stemphylium vesicarium* en su etapa asexual y *Pleospora allii* en la sexual. La misma resulta ser económicamente muy importante en las áreas productoras de pera en Europa debido a las pérdidas que puede producir. En el año 2016 investigadores de INTA detectaron en la zona una enfermedad que afecta a perales, con síntomas coincidentes a “la mancha negra”. El objetivo del presente trabajo fue determinar el agente causal de la patología. El aislamiento se realizó a partir frutos y hojas infectadas. En términos generales, frutos y hojas visiblemente afectadas fueron desinfectados superficialmente. Pequeñas porciones de tejido fueron inoculadas en placas de Petri conteniendo Agar Papa Dextrosa (PDA) e incubadas a 25°C durante 5-7 días. La determinación morfológica y caracterización del género y especie fúngica fue llevada a cabo según características macro y microscópicas de los aislamientos. Un total de total de 11 aislamientos del cultivar D’Anjou fueron obtenidos de frutos infectados y uno de hoja. De acuerdo a las características morfológicas, todos los aislamientos fueron identificados como *S. vesicarium*. Los síntomas en hojas se caracterizan por manchas necróticas en forma de “V” siguiendo las nervaduras, pudiendo causar la defoliación de la planta si la infección es severa. En frutos se manifiesta como manchas circulares, marrones oscuros, de consistencia dura y un poco deprimida, de tamaño variable y, en ocasiones, rodeadas de un halo rojizo. Se verificó el desarrollo del ciclo sexual y el asexual. Si bien al presente la incidencia de esta enfermedad es incipiente resulta sumamente importante el estudio del comportamiento de este patógeno en la zona del Alto Valle ya que, en varias regiones mediterráneas de Europa, a pocos años de la detección de la enfermedad, ésta se extendió progresivamente, convirtiéndose en un problema de importancia económica.

BIOPROSPECCIÓN PRELIMINAR DE AGENTES FÚNGICOS PATOGENICOS DE IMPORTANCIA EN PLANTACIONES DE *Eucalyptus* spp. DE BUENOS AIRES Y CONCORDIA

Melina Vandecaveye (1), Vanesa Mema (2)*, Viviana Barrera(3).

(1) Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina. (2) Fitopatología, IMYZA, CICVyA-INTA, Castelar, Argentina. (3) Bioinsumos Fúngicos, IMYZA, CICVyA-INTA, Castelar, Argentina.

El género *Eucalyptus* L'Hér., pertenece a la familia de las Mirtáceas, y comprende una enorme diversidad biológica, con más de 700 especies. Presentan características deseables para su uso en la forestación, como su velocidad de crecimiento, la adaptación a suelos pobres y climas diversos, sin embargo, resultan altamente susceptibles al ataque de enfermedades. En los últimos años se ha incrementado su superficie forestada y también los daños producidos por hongos, bacterias e insectos con la consecuente pérdida de grandes extensiones de plantaciones o disminución en su productividad. El propósito de este trabajo fue realizar una bioprospección preliminar de los agentes fúngicos asociados a manchas foliares en plantaciones de *Eucalyptus* spp. de Buenos Aires y Concordia. Se coleccionaron hojas con manchas foliares de especies e híbridos de *Eucalyptus* en plantaciones de Concordia y ejemplares del vivero de Bosques Cultivados IRB-CIRN. El diagnóstico del material se realizó por observación de síntomas y signos del material vegetal afectado. Se realizaron los aislamientos mediante técnicas de clínica fitopatológica. Las identificaciones de los taxones se llevaron a cabo por descripciones morfológicas de las colonias y los caracteres micromorfológicos como estructuras de reproducción. Se realizó extracción de ADN y amplificación de marcadores genéticos (ITS-rDNA y beta tubulina). Los productos de la secuenciación fueron analizados *in silico* con los programas BioEdit v7.2.6.1 y MEGA versión 7. Se construyeron árboles filogenéticos, utilizando secuencias de referencia publicadas en la base de datos del GenBank. Se analizó por Máxima Verosimilitud con el modelo Kimura 2 y con 1000 réplicas de *bootstrap*. De las 26 muestras analizadas se obtuvieron 10 aislamientos. Como resultado de los estudios morfológicos y moleculares se identificaron los siguientes taxones fúngicos: *Epicoccum nigrum*, *Neopestalotiopsis clavispora*, *Cytospora eucalypticola*, *Nigrospora sphaerica*, *Pestalotiopsis microspora* y *Teratosphaeria* aff. *gauchensis*. El género *Pestalotiopsis* se presentó con mayor frecuencia (40%) en ejemplares de *E. grandis*, y *E. tereticornis* y *E. camaldulensis*, provenientes de Concordia y Castelar respectivamente. Se observó que la mayor cantidad de agentes fúngicos estuvo asociada a especies de *E. grandis*. Esta es la primera cita de aislamientos de *N. clavispora* en plantaciones de híbridos de *E. grandis* x *E. tereticornis* en Argentina.

SESION DE POSTERS MG

ÁREA TEMÁTICA

Bases moleculares de la virulencia de patógenos humanos, zoonóticos, de plantas y de animales

***Escherichia coli* VEROTOXIGÉNICO: DETECCIÓN DE LA ISLA DE PATOGENICIDAD (OI)-122 Y SU ASOCIACIÓN CON SEROPATOTIPOS EN CEPAS NO-O157 AISLADAS EN ARGENTINA**

Jimena Cadona (1), Juliana González (1)*, Ana Bustamante (1), Mariel Sanso(1)

(1) Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina.

Escherichia coli verotoxigénico (VTEC) es un grupo heterogéneo de patógenos, asociado a enfermedades humanas tales como colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH). El bovino es el principal reservorio y las infecciones en el hombre son causadas mayormente por la ingesta de alimentos contaminados. Las Islas de Patogenicidad (PAI) juegan un importante rol en su virulencia. Debido a que, normalmente, las PAI están ausentes en cepas no patógenas, pueden ser usadas como marcadores moleculares para distinguir cepas altamente virulentas. Además de los genes localizados en la isla de patogenicidad LEE (Locus de borrado del enterocito), se han identificado varios genes efectores en otras PAI. Particularmente, la presencia de la OI-122, se asocia significativamente a cepas VTEC involucradas en brotes y casos de CH y SUH. Karmali et al. (2003) propusieron agrupar cepas de VTEC en cinco seropatotipos (SPT), denominados A-E, de acuerdo con su asociación a enfermedad severa y a la presencia de las islas LEE y OI-122. El objetivo de este estudio fue determinar la distribución de genes de la OI-122 entre cepas VTEC no-O157:H7 aisladas en Argentina de casos clínicos, alimentos y bovinos y evaluar la importancia de esta OI en los seropatotipos de VTEC. Se analizaron 204 aislamientos VTEC pertenecientes a 52 serotipos no-O157:H7. Se clasificaron en SPT de acuerdo al criterio de Karmali et al. (*l.c.*). Para determinar la presencia de la OI-122, compuesta por 3 módulos, se amplificaron por PCR 4 genes marcadores (Z4321, Z4326, Z4332 y Z4333) y 3 genes efectores no codificados en LEE (genes *nle*) (*ent/espL2*, *nleB*, *nleE*) localizados en diferentes regiones de la isla. De los 204 aislamientos estudiados, el 77% de ellos (157: 45 LEE-positivos y 112 LEE-negativos) fue positivo para al menos un gen de OI-122. En casi todos los aislamientos LEE-negativos, sólo estuvo presente el módulo 1 de la PAI (Z4321). El gen Z4321 fue el más prevalente (61% de los aislamientos), detectándose tanto en aislamientos LEE-negativos como positivos. La prevalencia de los demás genes fue: 22% para Z4326; 21% para *nleE*, Z4332 y Z4333; 17% para *ent/espL2* y 10% para *nleB*. Se determinaron 14 perfiles de virulencia. Los aislamientos que presentaron los 4 genes marcadores (Z) fueron LEE-positivos y pertenecieron a SPT B, C o indeterminado. Los resultados mostraron diferencias en la frecuencia de los 7 genes marcadores y una gran variedad de perfiles de virulencia inter e intra serotipo.

ANÁLISIS MOLECULAR DE DOMINANTES ANTIGÉNICOS SOBRE LA GLICOPROTEÍNA VP7 DE ROTAVIRUS CEPAS G1 QUE CIRCULARON EN ARGENTINA ANTES DE LA VACUNACIÓN

Julia González (1)*, María Alejandra Soloaga (1), Celeste Gómez (1), Florencia Peralta (1), Camila Regadío (1), Flavia Cerezuela (1), Patricia Cordoba (1)

(1) Laboratorio de microbiología y química biológica. Departamento de Ciencias Exactas físicas y Naturales. Universidad Nacional de La Rioja, La Rioja, Argentina.

Los dominantes antigénicos neutralizantes de rotavirus, 7-1a, 7-1b, y 7-2, fueron definidos sobre la glicoproteína VP7 de rotavirus. El objetivo del presente trabajo fue comparar las secuencias de estos dominantes sobre VP7 de cepas Argentinas G1-rotavirus (G1-RV) con la cepa vacunal a fin de conocer modificaciones moleculares que permitirían algún escape inmunológico. Se obtuvieron 33 secuencias del gen 9 que codifica la VP7 desde GenBank, provenientes de La Rioja, Buenos aires y Cordoba. La cepa vacunal G1 fue RotaRix. El análisis molecular fue realizado con MEGA 7.0.software, los genes alineados en FASTA utilizando CLUSTALW y el Linaje por método UPGMA. Los sitios de glicosilación fueron estudiados con NetNgly 1.0 server, los modelajes 3D por SWISS-MODEL serve y Quimera 1.11.2 software. Los dominantes antigénicos fueron estudiados a través BioEdit, 7.2.5. Los resultados muestran que todas las cepas Argentinas G1-RV estudiadas presentan 3 linajes (1, 2 y 5) y 2 sitios de glicosilación (posición 69 y 238) sin encontrar diferencias conformacionales. Se detectaron cinco posiciones de diferencia con la cepa vacunal. Las posiciones 94, 123, 291, 217 fueron diferentes para el linaje I y posición 147 para el linaje II. La acumulación de diferencias en Linaje I podría producir variantes para el escape inmunológico. El monitoreo de las posiciones modificadas en las proteínas de cápside después de la vacunación podría ser importante en la evolución de las cepas y la efectividad de las vacunas.

DIVERSIDAD GENÉTICA DE AISLAMIENTOS DE *Escherichia coli* VEROTOXIGÉNICO O157:H7 CIRCULANTES EN ARGENTINA

Juliana González (1)*, Jimena Cadona (1), Mariel Sanso (1), Ana Bustamante (1)

(1) Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina.

Escherichia coli verotoxigénico (VTEC) constituye un importante grupo de patógenos emergentes de origen zoonótico, capaz de causar patologías muy severas en el hombre, tales como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH). El serotipo O157:H7 es el mayormente involucrado en los casos de enfermedad en el mundo, y en Argentina, también el más frecuentemente asociado al SUH. Sin embargo, no todos los aislamientos de O157:H7 tienen la misma capacidad de infectar y de causar enfermedad en el hombre. El análisis de múltiples *loci* VNTRs (repeticiones en tándem de número variable) o MLVA, permite establecer relaciones genéticas entre cepas bacterianas para la vigilancia epidemiológica y la subtipificación molecular de organismos patógenos como VTEC O157:H7. Además, el estudio de múltiples factores de virulencia genómicos y plasmídicos, permite discriminar entre cepas de las cuales se sospecha clonalidad. Nuestro objetivo fue evaluar la diversidad genética existente en un grupo de 43 cepas de VTEC O157:H7 aisladas de bovinos, humanos y alimentos mediante la subtipificación por MLVA y el estudio de la distribución de genes codificantes de factores de virulencia. Todos los aislamientos son *vtx*₂ y *eae* positivos, y fueron obtenidos en el Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología - UNCPBA entre 2000 y 2014. Se amplificaron por PCR 8 *loci* VNTRs específicos para O157:H7 y 31 genes codificantes de factores de virulencia genómicos y plasmídicos. Los *loci* VNTRs mostraron entre 4 y 10 alelos y cinco de ellos presentaron alelos nulos. El índice de diversidad genética (D_N) para cada VNTR varió entre 0.56 y 0.85. Se observó un total de 36 perfiles MLVA, 33 de los cuales fueron únicos. El índice de diversidad de Simpson fue D_S : 0.98, lo cual indica un alto poder de discriminación del método. Los perfiles de virulencia observados fueron 24 en total, 17 de los cuales fueron únicos. El análisis de agrupamiento por UPGMA realizado en base a los resultados de MLVA, reflejó la alta diversidad genética existente entre las cepas VTEC O157:H7 circulantes en Argentina. Por otro lado, los perfiles de virulencia permitieron, en algunos casos, discriminar aislamientos con igual perfil de MLVA, dando cuenta de la importancia del análisis de múltiples marcadores moleculares.

ESTUDIO DEL GEN *OSPB* EN *Escherichia coli* ENTEROHEMORRÁGICA O157:H7

Wanderson Marques da Silva (1)*, Mariano Larzabal (1), Angel Cataldi (1)

(1) Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Hurlingham, Argentina.

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 es un patógeno zoonótico responsable del síndrome urémico hemolítico en humanos. A través de análisis *in silico* del genoma de la cepa EHEC O157:H7 Rafaela II clado 8, aislada de un bovino en Argentina, nuestro grupo identificó en el bacteriófago 2851 una *ORF* que codificaba una proteína con similitud a la proteína OspB del patógeno *Shigella flexneri*. En *S. flexneri*, OspB es secretado por el SST3 y está involucrado en la modulación del sistema inmune. Por otro lado en EHEC, aún no se sabe si OspB es secretado por el SST3 y cuál sería su rol en la virulencia de este patógeno. El presente trabajo tiene como objetivo caracterizar el gene OspB y evaluar su importancia en la patogénesis de EHEC. Las bacterias fueron cultivadas en los medios Luria-Bertani (LB) y *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (D-MEM) a 37°C. En el caso de los ensayos de expresión fue adicionado 1 mM de IPTG y 100 µg/ml de ampicilina. Las mutagénesis de los genes *ospB* y *escN* fueron generadas por recombinación homóloga utilizando el sistema *lambda red* de Datsenko y Wanner. Las mutantes fueron complementadas con el gen *ospB* clonado en el plásmido *pLF-3xFLAG* (*pOspB*). Para el análisis de proteínas secretadas, los sobrenadantes de cultivos fueron filtrados, precipitados y analizados por *Western blotting*. El análisis *in silico* de alineamientos múltiples de aminoácidos reveló que OspB de EHEC Rafaela II presenta 32% de identidad con OspB de otros patógenos como: *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *Salmonella paratyphi* y *Vibrio parahemolyticus*. Las curvas de crecimiento revelaron que las cepas Wt y $\Delta ospB$ presentan el mismo perfil de crecimiento y viabilidad cuando se cultivaron en los medios LB y D-MEM. Para evaluar si OspB podría ser secretada por SST3 de EHEC, se realizó un ensayo de secreción. Se generó una cepa mutante para el gen *escN* que codifica para una ATPasa citoplasmática que es necesaria para la translocación funcional del SST3. Las cepas Wt y las cepas mutantes complementadas $\Delta ospB/pOspB$ y $\Delta escN/pOspB$ fueron cultivadas en medio D-MEM y las proteínas fueron analizadas por *Western blotting* utilizando un anticuerpo anti-FlagM2. OspB fue detectado tanto en el *pellet* bacteriano de $\Delta ospB/pOspB$ como en el *pellet* de $\Delta escN/pOspB$. Sin embargo, OspB fue detectada sólo en el sobrenadante de la cepa $\Delta ospB/pOspB$. Con los resultados obtenidos hasta el presente, hemos demostrado que así como en *S. flexneri*, OspB de EHEC Rafaela II es secretada por el SST3.

SESION DE POSTERS MG

ÁREA TEMÁTICA

Caracterización de nuevos blancos moleculares de
diagnóstico

COMPARACIÓN DE UNA PCR CONVENCIONAL DESARROLLADA *IN HOUSE* Y UNA PCR ANIDADA EN EL DIAGNÓSTICO DE *Necator americanus*

Andrea Servián (1)*, Silvia Repetto (2), M. Lorena Zonta (1), Graciela T. Navone (1)

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. (2) Instituto de Investigación en Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM,UBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Ancylostoma duodenale y *Necator americanus* son los geohelminthos responsables de causar más de 900 millones de infecciones humanas en todo el mundo, siendo *N. americanus* el más frecuente en América Latina. Sin embargo, no se conocen datos epidemiológicos certeros dado que el diagnóstico se basa principalmente en la identificación de huevos en materia fecal sin poder diferenciar ambas especies. La combinación del coprocultivo con la examinación microscópica permite realizar el diagnóstico diferencial, pero éste resulta laborioso y requiere de microscopistas experimentados. Para superar estas limitaciones, se ha reportado una PCR anidada (N-PCR) de alta sensibilidad y especificidad, pero que tiene la desventaja de contaminación con amplicones, a diferencia de la PCR convencional (C-PCR). El objetivo de este trabajo fue comparar la sensibilidad analítica de la N-PCR reportada y una C-PCR estandarizada *in house* para el diagnóstico de *N. americanus* en muestras de heces. Se purificó ADN a partir de materia fecal con huevos y materia fecal no parasitada contaminada con cantidades crecientes de larvas filariformes (1, 30, 50 y 100), utilizando el kit comercial ZR Fecal DNA MiniPrep (Zymo Research). La C-PCR se realizó con un par de cebadores dirigidos contra el ADN del citocromo b del genoma mitocondrial del parásito y la N-PCR con cebadores dirigidos contra el ITS-2 del ADN ribosomal. La sensibilidad se estableció utilizando como templado diluciones en base diez de las muestras de ADN obtenidas. Ambas técnicas permitieron amplificar el ADN obtenido a partir de materia fecal con huevos con la misma sensibilidad y límite de detección. En cuanto al ADN obtenido de larvas, se observó amplificación hasta la dilución 10^{-2} , pero sólo la N-PCR permitió detectar el ADN correspondiente a 1 larva/g de materia fecal. Ambas metodologías presentaron una sensibilidad analítica similar, pero la C-PCR resultó más apropiada para el diagnóstico de *N. americanus* a partir de muestras de heces, reduciendo el tiempo de diagnóstico, las posibilidades de contaminación y los costos de las pruebas. Esto lo convierte en un método de elección para el diagnóstico de rutina.

SESION DE POSTERS MG

ÁREA TEMÁTICA

Desarrollo de nuevas vacunas

INMUNIZACIÓN EN NEONATOS COMO UNA ESTRATEGIA NOVEL CONTRA PERTUSSIS

Pablo Martín Aispuro (1), Daniela Bottero (1), María Emilia Gaillard (1), Daniela Hozbor (1)

(1) Laboratorio VacSal del Instituto de Biotecnología y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. CONICET, La Plata, Argentina.

Pertussis es una enfermedad respiratoria inmunoprevenible altamente contagiosa y aún vigente que afecta a individuos de todas las edades. Los neonatos representan, sin embargo, el grupo etario más vulnerable a la enfermedad. La inmunización materna ha sido recomendada recientemente con el fin de disminuir las tasas de letalidad y la severidad de la enfermedad registrada para este grupo etario. La vacunación en neonatos como estrategia alternativa o complementaria ha sido menos explorada. En este trabajo estudiamos el efecto de la vacunación neonatal en la protección contra pertussis utilizando el modelo murino de desafío intranasal. En particular evaluamos la protección inducida por la vacuna comercial acelular (aP) así como formulaciones noveles basadas en vesículas de membrana externa (aP_{OMV}). Se ensayaron esquemas de inmunización con una y dos dosis de la misma vacuna o combinaciones de ellas sobre neonatos naïve o nacidos de madres inmunizadas contra pertussis. Para evaluar la protección, a los 14 días de la última inmunización realizamos un desafío con dosis sub-letales de *Bordetella pertussis* (10^6 UFC/40 μ l) y a los 7 días post desafío realizamos recuentos de las colonias del patógeno que se recuperan de los pulmones de ratones incluidos en los ensayos. Observamos que la inmunización de neonatos naïve con una dosis de vacuna aP redujo en 2 órdenes de magnitud el recuento de las bacterias con respecto al grupo control no inmunizado ($p < 0,05$); mientras que la formulación a base de OMVs no produjo una reducción significativa del recuento de UFC. Con el esquema de 2 dosis de aP y las combinaciones de aP y aP_{OMV}, se observaron reducciones aún mayores en el recuento de colonias (3 órdenes de magnitud, $p < 0,05$ respecto del control). La determinación del título de anticuerpos anti-*B. pertussis* y la caracterización de isotipos IgG1/IgG3 nos permitieron verificar la inducción de un perfil mixto Th2/Th1 luego de las inmunizaciones con combinaciones de vacunas. En el caso de los ratones neonatos nacidos de madres inmunizadas, la inmunización con una dosis de aP fue capaz de reducir 3 órdenes de magnitud el recuento de UFC, mientras que 1 dosis aP_{OMV} no fue capaz de inducir protección. Los resultados alcanzados muestran que la vacunación en neonatos puede ser una estrategia alternativa e incluso complementaria a la vacunación maternal.

**EVALUACIÓN DE UNA VACUNA SUBCELULAR CONTRA LA BRUCELOSIS OVINA
CONSTITUIDA POR LA QUIMERA BLSOMP31 FORMULADA EN UN CRISTAL LÍQUIDO
(COAGEL) ADICIONADO CON SECUENCIAS CPG-ODN EN EL MODELO MURINO**

María C. Moran (1)^{a*}, Alejandra G. Díaz (1)^a, María F. Sánchez Vallecillo (2), Vanesa Zylberman (3), Fernando Goldbaum (3), Belkys Maletto (2), Santiago Palma (4), Silvia M. Estein (1)

(1) Lab. de Inmunología, Depto. SAMP. CIVETAN-CONICET-CIC, F.C.V, U.N.C.P.B.A. Tandil, Argentina. (2) UNC, FCQ. CONICET, CIBICI, Córdoba, Argentina (3) INMUNOVA S.A., Bs As, Argentina. (4) UNC, FCQ. CONICET, UNITEFA, Córdoba, Argentina. ^aigual contribución.

Brucella ovis es el agente causal de la epididimitis contagiosa del carnero (ECC), enfermedad que ocasiona pérdidas económicas significativas en la producción ovina. La ECC se controla a través de la eliminación de los animales serológica o bacteriológicamente positivos. No hay vacuna específica para prevenir la ECC. La inmunización con una quimera constituida por la *Brucella* Lumazina Sintetasa y un péptido de la proteína de membrana *Omp31* (BLSOmp31) formulado en adyuvante de Freund Incompleto (AFI) ha demostrado ser una vacuna subcelular inmunogénica y eficaz contra *B. ovis* en ratón y en ovino. BLSOmp31 formulada en un sistema nanoestructurado de cristal líquido vehiculizando secuencias CpG-ODN (Coagel+CpG-ODN) indujo la producción de anticuerpos en ovejas preñadas que fueron transferidos a sus crías. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta inmunitaria humoral y la protección conferida por BLSOmp31 formulada con Coagel+CpG-ODN. Veinticinco ratones Balb/c hembras de 8 semanas se distribuyeron en 5 grupos (G) (n=5/G): G1) BLSOmp31 en solución, G2) BLSOmp31+CpG-ODN, G3) BLSOmp31+CpG-ODN+Coagel, G4) BLSOmp31+AFI y G5) PBS. Se inmunizaron por la vía subcutánea el día 0 y el día 30 con BLSOmp31 (30 µg/dosis) de y CpG-ODN (30 µg/dosis). Los días 0, 21 y 50 se extrajo sangre para suero para análisis de IgG por ELISA y el día 65 se inoculó vía intraperitoneal con $2,9 \times 10^5$ unidades formadoras de colonia (UFC) de *B. ovis* PA76250. El día 95 fueron sacrificados y los bazo fueron procesados bacteriológicamente para recuento de UFC. La protección se evaluó como la reducción en unidades logarítmicas de las UFC con respecto al grupo control PBS. Los títulos de anticuerpos IgG en los animales inmunizados alcanzaron niveles significativos en todos los grupos tras la primera inmunización y máximos al momento del desafío con un perfil mixto IgG2a/IgG1 en los grupos inmunizados con CpG-ODN. BLSOmp31 en solución o formulada con CpG-ODN confirió protección significativa contra *B. ovis* (1,12 y 1,2 log de protección, respectivamente) ($p < 0,01$). Sin embargo, los mayores niveles de protección se obtuvieron con BLSOmp31+CpG-ODN+Coagel que protegió de modo similar a BLSOmp31+AFI (2,13 y 2,21 log de protección, respectivamente) ($p < 0,001$). Nuestros resultados preliminares indican que BLSOmp31 formulada con Coagel+CpG-ODN y administrada por la vía parenteral es una vacuna segura y eficaz contra *B. ovis* en el modelo murino.

SUSCEPTIBILIDAD ANTIPARASITARIA Y ANTIBACTERIANA DE CINCO COMPUESTOS FLUORADOS Y FLUOROAZUFRADOS DE TIOSEMICARBAZONA

Adriana Moreno (1)*, Yobana perez(1), Rafael TorresV, Lilian Yépez (2), Juan L. Bautista, Beatriz Avila (1)

(1) Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. (2) Unidad de Investigación Médica en enfermedades infecciosas y parasitarias. CMN- IMSS.

Las parasitosis son las principales enfermedades en las zonas rurales, haciendo referencia a que los antibióticos que se encuentran disponibles son reducidos y las resistencias a los mismos se agudizan para *Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica* y *Leishmania spp.* Las bacterias actualmente son de gran importancia clínica por el uso inadecuado de fármacos encontrando a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las tiosemicarbazonas fluoradas y fluoroazufradas, son moléculas que cuentan con un amplio perfil farmacológico que se referencia en actividades antimicóticas, antiparasitarias y antibacterianas. Objetivos: Evaluar la susceptibilidad antiparasitaria y antibacteriana de cinco derivados fluorados y fluoroazufrados derivados de tiosemicarbazonas, comparando contra los fármacos de referencia respectivos, albendazol, metronidazol, Glucantime, amoxicilina y Gentamicina. Se determina la CI50 por método probit de *Giardia lamblia* mediante el método de la resiembra en medio TYI-S32 a las 48 hrs a 37°C, para *Trichomonas vaginalis* y *Entamoeba histolytica* en TYI-S33 y en *Leishmania mexicana* se utiliza el promastigote, se coloca azul de alamar previa adición de moléculas en DMSO al 2%. Como antibacteriano se analizó por Kirby Bauer, ajustada a 0.5 Mc Farland y una concentración de 100 µg/ml, utilizando a; C1: 2-(2,4-Difluorobencilideno) hidracina-1-Carbotiamida, C2: 2-(2,5-Difluorobencilideno)hidracina-1 Carbotiamida, C3: 2-(2,6-Difluorobencilideno)hidracina-1-Carbotiamida, C4: 2-(3,4-Difluorobencilideno)hidracina-1-Carbotiamida, C5: 2-(3,5-Difluorobencilideno)hidracina-1-Carbotiamida. *Giardia lamblia*, C1 al C5: 0.0075, 0.0165, 0.011, 0.0265 y 0.025 µg/ml con el CI50 de 0.010 µg/ml y Metronidazol de 0.210; *Entamoeba histolytica* C1 al C5: 0.0015, 0.003, 0.007, 0.0015 y 0.003 µg/ml, Albendazol de 0.010 y Metronidazol 0.060 µg/ml; *Trichomona vaginalis* C1 a C5: 0.265, 0.300, 0.347, 0.239 y 0.310 µg/ml vs Albendazol de 0.422 µg/ml y Metronidazol 0.037 µg/ml; *Leishmania mexicana* se determinó la CI50 el C1: 18.41 µg/ml, C2:36.61 µg/ml, C3: 35.58 µg/ml, C4: 85.0 µg/ml, C5: 24.66 µg/ml, ante Anfotericina de 0.8 µg/ml, Miltefosina 15 µg/ml y Glucantime µg/ml. Con *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* se encuentran CIM superior a 100 µg/m. El C1 es el que cuenta con un amplio perfil antiparasitario, seguidos de C2 a C5.

SESION DE POSTERS MG

ÁREA TEMÁTICA

Multirresistencia a antibióticos

JUGANDO A LA EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA: LA INTRODUCCIÓN DE LAS MUTACIONES Y69Q/V166E ACTIVAN A LA B-LACTAMASA METAGENÓMICA DE CLASE A LRA-5

Gabriela D'Amico González (1)*, María M. Rodríguez (1,2), Barbara Ghiglione (1,2), Florencia Brunetti (1), Melina Ruggiero (1), Daniela Centrón (2,3), Gabriel Gutkind (1,2), Pablo Power (1,2)

(1) Laboratorio de Resistencia Bacteriana, FFyB, Universidad de Buenos Aires (UBA), CABA, Argentina. (2) CONICET. (3) Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPam), UBA-CONICET, CABA, Argentina

El análisis de metagenómica funcional en muestras de suelo de Alaska ha revelado la presencia de genes codificantes para las cuatro clases de β -lactamasas según Ambler, aún en ausencia de presión de selección antropogénica. Las serino- β -lactamasas (A, C, D) requieren de la presencia de un reducido número de residuos estrictamente conservados para una hidrólisis eficiente, y mediante mutaciones puntuales pueden adaptar su estructura para evolucionar hacia variantes más estables y/o activas. El objetivo principal de este estudio fue demostrar que sustituciones aminoacídicas en las posiciones 69 y 166 en la β -lactamasa metagenómica LRA-5 (previamente demostrada como una enzima con baja actividad hidrolítica) son suficientes para mejorar su actividad. Para ello, mediante mutagénesis dirigida por PCR se obtuvieron variantes mutacionales en el gen *bla*_{LRA-5} que codifican las sustituciones Y69Q, V166E y la doble mutación Y69Q/V166E. Los amplicones se clonaron en el vector de expresión pET28 y las construcciones transformadas en *E. coli* BL21. La expresión de las β -lactamasas se realizó por inducción con IPTG, y las enzimas fueron purificadas a homogeneidad por cromatografía de afinidad en sistema AKTA. Los principales parámetros cinéticos en el estado estacionario y de inhibición fueron obtenidos por espectrofotometría UV/Vis. Las variantes Y69Q y V166E no presentan actividad cinética frente a oxiiimino-cefalosporinas, penicilinas e inhibidores de β -lactamasas. En cambio, la doble mutante Y69Q/V166E demostró una eficiencia hidrolítica (k_{cat}/k_m) entre 2-27 veces mayor para las cefalosporinas ensayadas en relación a LRA-5 salvaje y las mutantes simples, aunque la actividad sobre ceftazidima fue casi 100 veces menor que para ceftriaxona. La actividad frente a penicilinas fue menor que para la variante salvaje, y aztreonam se comportó como un inhibidor competitivo. El clavulanato de litio inhibió eficientemente tanto la variante salvaje como la doble mutante. Estos resultados evidencian la importancia del resistoma ambiental como reservorio de genes de resistencia, y la importancia de determinados residuos aminoacídicos para la actividad de β -lactamasa. Nuestro estudio representa una "imagen instantánea" de la ruta evolutiva de las β -lactamasas ambientales y su capacidad para evolucionar hacia variantes potencialmente más activas mediante la acumulación de un puñado de mutaciones eficientes.

ACTIVIDAD DEL PÉPTIDO ANTIMICROBIANO AP-CECT7121 SOBRE *Staphylococcus aureus* MULTI-RESISTENTES DE ORIGEN HUMANO PRODUCTORES DE *BIOFILM*

Gastón Delpech (1)*, Sabina Lissarrague (1), Mariana Bistoletti (2), Mónica Sparo (1)

(1) Microbiología Clínica, Medicina, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Argentina. (2) Centro de Estudios Bioquímicos, Tandil, Argentina.

En Medicina Humana, el uso a gran escala de antimicrobianos ejerce una presión selectiva sobre patógenos prevalentes, como *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente. En las últimas décadas, a la multi-resistencia antimicrobiana se ha sumado la formación de *biofilm*. Las infecciones asociadas a *biofilm* son frecuentemente crónicas o re-incidentes. La ausencia de nuevas opciones farmacológicas para el tratamiento de enfermedades infecciosas determinó la búsqueda de estrategias terapéuticas alternativas que complementen a los antimicrobianos convencionales. Una posibilidad es el antagonismo mediado por péptidos antimicrobianos, como AP-CECT7121, bacteriocina producida por la cepa probiótica *Enterococcus faecalis* CECT7121. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad de AP-CECT7121 sobre *S. aureus* multi-resistentes productores de *biofilm*. Se estudió la actividad anti-*biofilm* en 7 aislamientos de *S. aureus* multi-resistentes de hemocultivos de pacientes con infecciones invasivas de piel y partes blandas, atendidos en el Hospital Ramón Santamarina de Tandil (año 2017). Se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) para AP-CECT7121 en los aislamientos de *S. aureus* mediante micro-dilución en caldo. Para evaluar la actividad del péptido sobre células en *biofilm*, se agregaron a los pocillos de microplacas estériles, suspensiones en caldo cerebro-corazón-glucosa (1%) y se incubó a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 24 h. Los *biofilms* formados se incubaron con AP-CECT71 21(1xCIM, 4xCIM) durante 1 y 24 h. Se realizaron recuentos de viables por triplicado. Se efectuó Microscopía Electrónica de Barrido (MEB): sobre superficie inerte tratada con AP-CECT7121, se agregó *S. aureus* y se observó la formación de *biofilm*. Se observó un efecto dosis dependiente del péptido sobre las células del *biofilm*. AP-CECT7121 en una concentración de 4xCIM presentó actividad bactericida a las 24 h, aunque se detectaron células viables ($-3,0$ a $-3,3 \Delta\text{Log}_{10}$ UFC/ml). Mediante MEB, se comprobó la prevención de formación de *biofilm* con AP-CECT7121 El péptido antimicrobiano AP-CECT7121 constituye un candidato atractivo como herramienta natural para la prevención y tratamiento de infecciones asociadas a *biofilm* producidas por *S. aureus* multi-resistentes.

PORTACIÓN NASAL DE *Staphylococcus aureus* EN ADULTOS SANOS

Violeta Fortuny (1)*, Gastón Delpech (1), Sabina Lissarrague (2), Mirta Iguiñiz (1),
Mónica Sparo (1), Estudiantes de Medicina (1)+.

(1) Microbiología Clínica, Medicina. UNCPBA. Olavarría, Argentina. (2) Hospital "Ramón Santamarina", Tandil, Argentina.

Staphylococcus aureus coloniza la piel y las superficies de la mucosa de individuos sanos, pero también es uno de los agentes etiológicos más frecuentes de infecciones de la comunidad y asociadas a los cuidados de la salud. La portación nasal de *S. aureus* representa un importante factor de riesgo para la infección con esta bacteria. Un problema terapéutico especial son los aislamientos de *S. aureus* resistentes a meticilina (SAMR). El objetivo de este estudio fue evaluar la portación nasal de *S. aureus* en individuos sanos de la comunidad y la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos. Durante el periodo agosto-diciembre de 2017, se realizó un estudio observacional, prospectivo y transversal, con consentimiento informado de los participantes. Se incluyeron individuos sanos con edades comprendidas entre 18 y 70, años concurrentes a centros de actividad deportiva (club de fútbol, centros yoga) de las ciudades de Tandil y Olavarría (Provincia de Buenos Aires). Las muestras se obtuvieron por hisopado de las narinas anteriores. Fueron inoculadas en agar sangre ovina 5% y se incubaron en atmósfera ordinaria durante 48 h. La caracterización fenotípica y la susceptibilidad antimicrobiana (Concentración Inhibitoria Mínima, CIM) de *S. aureus* se efectuó mediante el sistema VITEK 2b® (bioMérieux, Argentina). Resultados: *S. aureus* se aisló en 31/199 (15,6%) de los participantes. La distribución de los aislamientos de acuerdo a la edad fue: 21,7% (18-27 años), 13,4% (28-39 años); 11,1% (40-70 años). Se detectaron 2/31 SAMR (6,4%); n= 1 en el grupo 18-27 años y n= 1 en el grupo 28-39 años. La totalidad de los SAMR presentó susceptibilidad a vancomicina (CIM ≤ 0,5 mg/L) y a clindamicina, TMS, linezolid, eritromicina y ciprofloxacina. Dentro de los *S. aureus* sensibles a meticilina (SAMS) se detectó un aislamiento con resistencia a eritromicina (fenotipo M). Los restantes SAMS fueron sensibles a todos los antimicrobianos ensayados. En países subdesarrollados está comunicada en adultos sanos hasta un nivel de portación del 23%. Aunque para esta población la prevalencia fue menor, se destaca la colonización con SAMR en la población de adultos jóvenes. Este estudio refleja los resultados preliminares de una investigación de portación nasal de dos años.

+Estudiantes de Medicina: Loana Cisneros, Lisette Lucero, Abdías Mamani, Luis Mamonde, Johanna Pereyra Kees, Ramiro Planes, Sebastián Ostertag, Violeta Villamayor.

ASOCIACIÓN ENTRE LAS INTEGRASAS CROMOSÓMICAS Y SUS SITIOS DE RECOMBINACIÓN

Anahí Gambino (1)*, Fernando Martín Alonso (1), Verónica Elizabeth Álvarez (1), Daniela Centrón (1), María Paula Quiroga (1)

(1) Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica. Facultad de Medicina. (IMPaM), Buenos Aires, Argentina.

Los integrones cromosómicos sedentarios se localizan usualmente de manera ubicua en el cromosoma de diferentes especies bacterianas, generalmente no patógenas y no asociadas a la multirresistencia antibiótica. Aproximadamente el 10% de los genomas depositados en GenBank contienen este tipo de integrones. Los genes *cassettes* (GC) de los integrones cromosómicos sedentarios son muy variados y sus *Open Reading Frames* generalmente contienen secuencias nucleotídicas cortas (400 a 600 pb). Por el contrario, los sitios de recombinación *attC* de un mismo integrón comparten un alto grado de identidad entre sí (>80%). Con el objetivo de estudiar la relación entre las integrasas con sus sitios de recombinación se analizaron los integrones cromosómicos sedentarios de; *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Shewanella oneidensis*, *Nitrosomonas europea*, *Xanthomonas campestris*, *Vibrio rotiferianus*, *Vibrio fischeri* y *Vibrio vulnificus*. Se utilizó el programa INTEGRON FINDER para detectar: C-In (integrones completos, Integrasa + *attC*), CALIN (clústeres de sitios *attC* que carecen de integraciones de integrón) e In0 (Integrasa solamente). Mediante el programa MEGA7 se realizó el análisis filogenético de los genes de las distintas integrasas (*IntIs*). A través del mismo se vió la cercanía evolutiva entre las secuencias aminoacídicas de las integrasas asociadas a la misma especie y género bacteriano, aunque la integrasa asociada a *V. vulnificus* presentó más similitud con las integrasas de *Pseudomonas* que con las de *Vibrio*. Por otro lado, llevamos a cabo un análisis filogenético de sus sitios *attC* asociados a estos integrones cromosómicos y los asociados a los principales GC de resistencia a antibióticos asociados a los llamados "integrones móviles". El resultado muestra que los sitios *attC* de los GC de resistencia a antibióticos se encuentran altamente emparentados con los sitios *attC* de *S. oneidensis* y *Pseudomonas* spp.. Estos resultados evidencian que el resistoma de los GC asociados a multirresistencia antibiótica se halla sesgado hacia ciertos géneros bacterianos, particularmente *Shewanella* y *Pseudomonas*, de donde provendrían los más variados mecanismos de resistencia a antibióticos. Estos dos géneros constituyen un blanco relevante para el desarrollo de nuevas alternativas conducentes a la prevención de la diseminación de la resistencia a antibióticos

ELEMENTOS GENÉTICOS MÓVILES ASOCIADOS A LA MULTIRRESISTENCIA EN *Serratia marcescens*

Anahí Gambino (1)*, Cecilia Rodríguez (2), Raúl Raya (2), María Paula Quiroga (1), Daniela Centrón (1)

(1) Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica. Facultad de Medicina. (IMPAM), Buenos Aires, Argentina. (2) Laboratorio Genética y Biología Molecular CERELA-CONICET, San Miguel de Tucumán, Argentina.

Serratia marcescens es un bacilo Gram-Negativo, anaeróbico facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*. Posee una distribución ubicua y es causante frecuente de infecciones intrahospitalarias. *S. marcescens* SCH909 fue aislada en Grecia a partir de una muestra clínica en 1988. Su genoma se secuenció mediante PacBio y, de esta manera, se obtuvieron 4 *contigs* con un total de 5.417.086 pb con un N₅₀ tamaño de *contig* 5.315.002 pb y un porcentaje G+C de 59,76%. Al analizarlo, se detectó un cromosoma (5.315.595 pb) y un plásmido conjugativo (83.750 pb) los cuales fueron estudiados utilizando diversas herramientas bioinformáticas como RAST, ResFinder 3.0, Phast, Integronfinder e Isfinder. Se detectaron cuatro integrones asociados a multirresistencia antibiótica. Tres de ellos son integrones de clase 1; el integrón 1 (*dfrA1-aadA1*) y el integrón 2 (*aadB-aadA8/aac(6')-IId-S.ma.12-Δbla_{OX4-10}*) se encuentran enfrentados por sus integrasas en el plásmido, mientras que el integrón 3 (*aacC1-orfP-orfP-orfQ-aadA1*) se localiza en el cromosoma y está asociado a la isla *AbaR-like*. El integrón 4 es de clase 2 y se encuentra en el cromosoma, este está integrado en el transposón Tn7, localizado río abajo del gen *glmS*. El gen de *intl2* posee el codón *stop* prematuro característico, y un reordenamiento inusual de genes *cassettes* (*dfrA1-sat2-ybeA-ybfA-ybfB-ybgA*). Se estudió por PCR y secuenciación el mantenimiento de los tres integrones de clase 1 mediante repiques sucesivos en medio líquido durante seis meses, sin observarse mutaciones o rearrreglos genéticos, evidenciando la conservación de los mismos. Por otro lado, se detectaron cinco profagos en el cromosoma bacteriano de los cuales cuatro se encuentran intactos y el quinto solo posee las secuencias *attL* y *attR* características, aunque dentro de estas secuencias blanco se encuentra la isla *AbaR-like* intacta. La inducción de los profagos se realizó con mitomicina C, y mediante microscopía electrónica de transmisión se identificaron los cuatro fagos pertenecientes a las familias *Myoviridae*, *Siphoviridae* y *Podoviridae*. Estos resultados evidencian la presencia de nuevas asociaciones exitosas entre los elementos móviles (plásmidos-integrones-genes *cassettes*-profagos) que conllevan a la multirresistencia antibiótica, y que a su vez evidenciamos que se mantienen a lo largo del tiempo en esta cepa de origen clínico.

EL ANÁLISIS POBLACIONAL DE CLONES QUE EXPRESAN CTX-M CON LA SUSTITUCIÓN ASP240GLY REVELA LA PREEXISTENCIA DE SUBPOBLACIONES DE *Escherichia coli* CON SENSIBILIDAD DISMINUÍDA A CEFTAZIDIMA

Barbara Ghiglione (1,2), María M. Rodríguez (1,2), Florencia Brunetti (1,2), Milena Dropa (3), Lucrecia Curto (2,4), Robert A. Bonomo (5,6,7), Gabriel O. Gutkind (1,2), Pablo Power (1,2)*

(1) UBA, FFyB, Departamento de Microbiología, Inmunología y Biotecnología, Laboratorio de Resistencia Bacteriana, CABA, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CABA, Argentina. (3) Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. (4) IQUIFIB, UBA, FFyB, CABA, Argentina. (5) Medical Service and GRECC, Louis Stokes Cleveland Dept of Veterans Affairs Medical Center, Cleveland, Ohio, USA. (6) Depts of Medicine, Pharmacology, Molecular Biology and Microbiology, Biochemistry, Proteomics and Bioinformatics, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, Ohio, USA. (7) CWRU-Cleveland VAMC Case VA CARES, Cleveland, Ohio, USA.

Las β -lactamasas CTX-M presentan clásicamente elevada eficiencia catalítica frente a cefotaxima (CTX), mientras que ceftazidima (CAZ) es un sustrato pobre. La diversificación molecular de estas enzimas condujo a la aparición de variantes con la sustitución Asp240Gly que confieren sensibilidad reducida a CAZ. En este trabajo comparamos el efecto de esta sustitución en el perfil de sensibilidad de cepas isogénicas de *E. coli* K12 salvaje y deficiente en la porina OmpF expresando CTX-M frente a CAZ y CAZ/avibactam (CAZ/AVI) y correlacionamos los resultados obtenidos con el análisis cinético y estructural de estas enzimas. Genes representativos de 5 grupos de *bla*_{CTX-M} (1, 2, 8, 9, 25) y sus respectivos mutantes Asp240Gly fueron clonados en el vector pK19 y transformados en *E. coli* K12 y su variante isogénica deficiente en OmpF. Se realizaron pruebas de detección de BLEE y sensibilidad a oximino-cefalosporinas según CLSI. Se evaluó la aparición de mutantes resistentes a CAZ en los clones de *E. coli* K12 expresando CTX-M de grupo 1 y se evaluó la sensibilidad a CAZ y CAZ/AVI de 2 mutantes seleccionados. Los parámetros cinéticos de las 10 CTX-M purificadas fueron determinados para cefalotina, CTX y CAZ. Se obtuvieron los espectros de dicroísmo circular y fluorescencia. Se realizaron modelos de simulación estructurales entre variantes Asp240Gly de CTX-M y CTX o CAZ usando el programa YASARA. Solo se detectó un aumento significativo en la resistencia a CAZ en los clones que expresaban CTX-M con la sustitución Asp240Gly en combinación con la deficiencia de OmpF. El análisis cinético mostró que k_{cat}/K_m para CAZ fue 5-15 veces mayor para todas las variantes Asp240Gly, pero permaneció 200-725 veces menor que la de CTX. La selección *in vitro* de clones resistentes a CAZ produjo clones productores de CTX-M resistentes (concentración inhibitoria mínima (CIM) > 16 $\mu\text{g/ml}$) luego de una incubación *overnight*; la adición de AVI disminuyó las CIM a un rango sensible. El uso de CAZ/AVI como agente de selección no produjo clones resistentes. Concluimos que el impacto de la presencia de Gly240 en la resistencia puede surgir cuando hay mecanismos adicionales, como la deficiencia de OmpF; el tratamiento con CAZ podría favorecer la selección de subpoblaciones resistentes. El uso de ciertas combinaciones de cefalosporina-inhibidor de β -lactamasa (como CAZ/AVI) podría ser una estrategia preventiva eficaz para retrasar el desarrollo de resistencia debido a la circulación de estas variantes.

DETECCIÓN DE ELEMENTOS GENÉTICOS ASOCIADOS A MULTIRRESISTENCIA ANTIBIÓTICA Y TRANSFERENCIA HORIZONTAL GENÉTICA EN *Escherichia coli* PRODUCTORA DE SEPTICEMIA Y MENINGITIS EN TERNEROS

Ramón Alejandro González (1), Enrique Leopoldo Louge Uriarte (1), Mariana Guillermina Massó (2), Ana Rita Moreira (1), Daniela Centrón (2), María Paula Quiroga *(2)

(1) Laboratorios de Bacteriología y Virología, Departamento de Producción Animal, EEA Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce, Argentina. (2) Laboratorio de Investigaciones en Mecanismos de Resistencia a Antibióticos, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM). Facultad de Medicina. Buenos Aires, Argentina.

Las infecciones por bacterias patógenas Gram negativas que no responden al tratamiento con antibióticos son cada vez más frecuentes, debido en parte a la presencia de integrones, transposones e islas genómicas de multirresistencia. Aproximadamente el 80% de las cepas de origen clínico, la resistencia antibiótica (RA) detectada es debido a fenómenos de Transferencia Horizontal Genética (THG). La comprensión de los mecanismos de RA reduciría estas amenazas para la salud humana y animal. El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de elementos genéticos asociados a RA y a THG en aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de terneros (T) enfermos. Se seleccionaron 16 colonias (E1-16) aisladas de T con septicemia y meningitis de un mismo tambo, las cuales se recuperaron de: a) E1-3 (T1, cerebro); b) E4 (T2, cerebro); c) E5-6 (T2, hígado); d) E7 (T2, bilis); e) E-10 (T3, pulmón); f) E11-E12 (T3, bazo); g) E13 (T4, bazo); h) E14 (T4, intestino); i) E15 (T5, pulmón); j) E16 (T6, bilis). En cada aislamiento, se evaluó la RA mediante el método difusión con discos, según el CLSI. El ADN se extrajo por ebullición y se analizaron por PCR genes característicos de grupos filogenéticos y de virulencia; además de elementos genéticos asociados a RA y THG como integrones de clase 1 y 2 e inusuales, genes y genes *cassettes* de RA, transposones (Tn402, Tn1331 y Tn6238) y secuencias de inserción. Los amplicones fueron secuenciados, ensamblados (BioEdit, 7.2.5) y analizados con BLASTn. Los aislamientos caracterizados presentaban diferentes perfiles de multirresistencia antibiótica. A su vez, presentaron grupos filogenéticos y perfiles de genes de virulencia muy diversos. Todos fueron positivos para integrones de clase 1 (9 secuenciados), en 6 de los cuales se determinó la zona variable completa (E4: *dfrA17* - *aadA5* y E7, E9, E11-12 y E15: *arr3* - *drfA27*), asociadas a la región 3' conservada característica de estos integrones. Además, se detectaron 15 aislamientos (excepto E8) portadores de integrones inusuales, estando uno (E4) asociado a un gen *bla*_{CTX-M}. En este trabajo, se demuestra la presencia de elementos genéticos asociados a multirresistencia antibiótica y THG en cepas patógenas de *E. coli* aisladas de terneros. Dichos elementos son similares a los reportados en clínica humana y algunos poseen patrones no característicos, evidenciando la necesidad de profundizar el estudio de cepas de origen animal como posible reservorio de elementos conocidos e incluso novedosos.

ENTEROBACTERIAS PORTADORAS DEL GEN bla_{CTX-M} AISLADAS DE GAVIOTAS QUE FRECUENTAN BASURALES DE LAS CIUDADES DE ENSENADA Y PUERTO MADRYN, ARGENTINA

Eliana Lorenti (1)*, Fabiana Moredo (2), Javier Origlia (3), Hugo López (3), Julia I. Diaz (1), Florencia Cremonete (4), Gabriela Giacoboni (2)

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CCT La Plata CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. (2) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, La Plata, Argentina. (3) Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, La Plata, Argentina. (4) Laboratorio de Parasitología (LAPA), IBIOMAR (CCT CONICET-CENPAT), Puerto Madryn, Argentina.

La resistencia a los antimicrobianos (RA) es un problema emergente en el mundo y es por ello que se aborda dentro del concepto de “Una Salud”. Las enterobacterias en general y *Escherichia coli* en particular, se consideran microorganismos “centinelas o indicadores” por estar presentes en el hombre, en animales domésticos y silvestres y en los ambientes que estos habitan. Pueden portar genes que codifican para la RA y transferirlos por diferentes mecanismos a otros organismos y así diseminarlos. Los β -lactámicos son un grupo de antimicrobianos muy utilizado en medicina humana y veterinaria. Uno de los principales mecanismos de RA que presentan las enterobacterias, es la producción de las enzimas β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) siendo el tipo CTX-M predominante en Argentina. Éstas son capaces de inactivar a las cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima) y al aztreonam. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar enterobacterias productoras de BLEE a partir de gaviotas (*Laridae*) que frecuentan basurales de desechos antrópicos y de descarte pesquero no tratado. Se realizaron muestreos durante los períodos otoño/invierno y primavera/verano del 2017, en el Complejo Ambiental de Ensenada (CEAMSE), Buenos Aires y en los Cuencos Municipales de Puerto Madryn, Chubut. Se analizaron 51 hisopados cloacales: 31 de Ensenada y 20 de Puerto Madryn. Los mismos se colocaron en caldo nutritivo durante 12hs a 37°C, luego se sembraron en Agar MacConkey adicionado con 4 μ g/ml de cefotaxima y se incubaron por 48hs. La identificación de los aislamientos se realizó mediante pruebas bioquímicas y la determinación del fenotipo BLEE se realizó siguiendo recomendaciones de la Red Whonet Argentina. La detección del gen bla_{CTX-M} se obtuvo por PCR en tiempo final. En el 42% (13/31) de las gaviotas analizadas de Ensenada se observó la presencia de BLEE y se detectó el gen para el grupo CTX-M en *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei* y *Klebsiella pneumoniae*. Además, se corroboró la presencia de BLEE en *E. coli*, *E. cloacae* y *H. alvei* en el 35% (7/20) de gaviotas analizadas de Puerto Madryn. Se concluye que las gaviotas que frecuentan ambientes antropizados actúan como reservorio y son fuente de dispersión del gen bla_{CTX-M} a través de bacterias de su microbiota intestinal.

DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES NATURALES DE LA REGIÓN DE CUYO, (RESVERATROL Y HIDROXITIRO SOL) FRENTE A *Yersinia enterocolítica* Y *pseudotuberculosis*

Maria Eugenia Mansilla Pareja (1,2)*, Gabriela Favier (3), Alicia Penissi (2),
Maria Isabel Colombo (2)

(1) Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina. (2) Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM), Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo), Mendoza, Argentina. (3) Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina.

La yersiniosis es una enfermedad infecciosa entérica bacteriana aguda, producida por microorganismos del género *Yersinia* spp. y que comprende a *Yersinia enterocolítica* y *Yersinia pseudotuberculosis*. Las bacterias se transmiten por vía fecal-oral siendo la fuente de infección principal los alimentos, en particular la carne y los productos cármicos, la leche y los productos lácteos. También puede producirse infección por ingestión de agua contaminada, y se ha comprobado asimismo la transmisión directa entre personas y de animales a personas. Los compuestos fenólicos están presentes en todas las plantas en forma de metabolitos secundarios. Resveratrol (RV) e hidroxitirosol (HT) son dos ejemplos de compuestos antioxidantes, provenientes de plantas de la región de Cuyo, para los cuales se ha demostrado actividad antimicrobiana en infecciones con bacterias patógenas en seres humanos, en cepas aisladas clínicamente. Nos hemos propuesto evaluar el efecto antibacteriano de ambos compuestos antioxidantes (RV e HT) en infecciones *in vitro* con *Yersinia* spp. Se usaron placas de 96 pocillos con diluciones seriadas de HT o RV y una suspensión de *Y. enterocolítica* o *pseudotuberculosis*. Se determinó la absorbancia a 600 nm y se obtuvo una curva de crecimiento para cada dilución de los compuestos testeados. Se realizaron controles de suspensiones de bacterias en presencia del vehículo sin compuestos. Las placas se incubaron a 28°C por 24 h. La concentración inhibitoria mínima (MIC) se define como la concentración de HT/RV que reduce la densidad óptica a 600 nm de un cultivo en un 90% comparado con los controles. Hemos observado que el RV presenta actividad antimicrobiana en ambas especies de *Yersinia* presentando mayor inhibición del crecimiento en la concentración de 50 µM. No se observó dicho efecto en ambas especies de *Yersinia* a iguales concentraciones de HT. Estos resultados aportan evidencias sobre la efectividad de resveratrol como agente antibacteriano *in vitro* sobre *Y. enterocolítica* y *Y. pseudotuberculosis*. Trabajos Posteriores podrían afianzar la importancia de incluirlo como una alternativa natural para la conservación de alimentos.

***Escherichia coli* UROPATÓGENA CON ARREGLOS NOVEDOSOS DE INTEGRONES DE CLASE 1 Y 2**

Mariana Massó (1)*, Verónica Álvarez (1), Carolina Márquez (2), Hatch W. Stokes (3), María Paula Quiroga (1), Daniela Centrón (1)

(1) Laboratorio de Investigaciones en Mecanismos de Resistencia a Antibióticos, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM). Facultad de Medicina. Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. (3) University of Technology sydney (UTS), Sydney, Australia.

Los Integrones de clase 1 (IC1) y 2 (IC2) son plataformas genéticas asociadas a resistencia antibiótica en las cepas clínicas. Poseen el gen de la integrasa (*intl*) que cataliza la recombinación sitio específica, un sitio de recombinación (*attI*) y un promotor (*Pc*) para la expresión de los genes *cassettes* (GC) que a su vez contienen sitios de recombinación propios (*attC*). En 2008 se recuperó un aislamiento de *Escherichia coli* del ambiente clínico, uropatógena, que contiene tanto IC1 como IC2. El objetivo del presente trabajo fue estudiar los integrones presentes en *E. coli* 8157 y sus mecanismos de diseminación. *E. coli* 8157 se subcultivó durante 30 días en medio líquido LB con agitación a 37°C. Se sembraron alícuotas cada 15 días y se monitoreó la presencia o ausencia de *intl1* e *intl2* por PCR (N=30 colonias). Se secuenció el genoma de *E. coli* 8157 (Illumina MiSeq®) y se ensambló con SPAdes y plasmidSPAdes. Se utilizaron los programas PlasmidFinder, IntegronFinder y ResFinder. Se realizaron alineamientos contra la base de datos de GenBank para identificar determinantes de patogenicidad y de resistencia antibiótica. Tanto *intl1* como *intl2* se mantuvieron en el 100% de las UFC al cabo de 30 días. IC1 e IC2 están contenidos en un mismo plásmido conjugativo de aproximadamente 160 kb que presenta regiones con identidad con representantes de las familias de plásmidos conjugativos incFII e incFI. El IC1 presenta un arreglo novedoso de 7 GC, y está embebido en Tn21. El IC2, si bien tiene una *intl2* funcional, presenta una delección de los genes de transposición de Tn7 y lleva 3 GC, dos de ellos de función desconocida. Se detectaron, además, al menos otros 2 plásmidos pertenecientes a los grupos de incompatibilidad Col156. La asociación del IC2 a un Tn7 defectivo da cuenta de que la dispersión de este integrón en particular se encuentra dictada principalmente por el rango de huésped de plásmido que lo contiene. El mantenimiento de ambos integrones en ausencia de presión antibiótica, evidencia la estabilidad de los mismos en este entorno genético. La combinación de IC1 e IC2 funcionales que presenta *E. coli* 8157 es inusual en la clínica y manifiesta una historia única de eventos adaptativos sujetos a Transferencia Horizontal Genética. En conjunto estos resultados acentúan la importancia de los integrones como plataformas de captura combinada y expresión de GC por ambos integrones.

***Oblitimonas alkaliphila* CON 4 INTEGRONES DE CLASE 2 EN EL AMBIENTE CLÍNICO**

Mariana Massó (1)*, Daniela Centrón (1), María Paula Quiroga (1)

(1) Laboratorio de Investigaciones en Mecanismos de Resistencia a Antibióticos, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM). Facultad de Medicina. Buenos Aires, Argentina.

Oblitimonas alkaliphila gen.nov., sp.nov., es una especie recientemente identificada durante un estudio retrospectivo de aislamientos clínicos de 1970. El genoma de la cepa E5571 de *O. alkaliphila* fue secuenciado por MySeq y depositado en el GenBank por el *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, Atlanta, Estados Unidos), sin hacer mención a la presencia de integrones asociados a multirresistencia antibiótica. El objetivo del presente trabajo fue investigar por métodos de Bioinformática la presencia de mecanismos asociados a resistencia antibiótica. Se analizó el genoma de *O. alkaliphila* depositado en GenBank. Mediante Blast se identificó número, clase y funcionalidad de los integrones y los genes *cassette* (GC). En el genoma de *O. alkaliphila* E5571 se identificaron 4 integrones de clase 2 (IC2), cromosómicos. Dos integrones poseen un alelo de *intl2* no funcional y están embebidos en *tn7*; en cambio los otros dos integrones contienen *intl2* funcional y no están asociados al módulo *tnsABCDE* de *tn7*. Ninguno de los integrones se encuentran ubicados en el sitio *attTn7/glmS*. Las zonas variables presentan arreglos con genes *cassette* que confieren resistencia a múltiples antibióticos. No se halló otra clase de integrones. Si bien la mayoría de los IC2 modernos fueron sujetos a evolución convergente y se embebieron en *Tn7*, facilitándoles su diseminación y perpetuación, en este genoma que data de más de 40 años atrás, se distinguen caracteres primitivos tales como la no asociación al sitio *attTn7*, la presencia de alelos *intl2* funcionales, y la falta de inmunidad a la invasión de otros *tn7*, en combinación con caracteres modernos como la presencia de IC2 con *intl2* truncada y asociados al módulo *tnsABCDE*. Esto evidencia que durante el proceso de adaptación hubo acumulación de eventos de recombinación y deleciones en los que estuvo involucrado *Tn7* que pueden a futuro, dar origen a rearreglos de mayor complejidad como la formación de islas genómicas.

INTEGRONES ASOCIADOS A LA MULTIRRESISTENCIA ANTIBIÓTICA IDENTIFICADOS EN AISLAMIENTOS PROVENIENTES DE ANIMALES SILVESTRES

María Paula Quiroga (1)*, Mariana Guillermina Massó (1), Luciana Chamosa (1), Gabriela D'amico (2), María Juliana Benítez-Saldívar (3), Pablo Power (2), Viviana Massoni (3), Carolina Isabel Miño (4), Daniela Centrón (1).

(1) Laboratorio de Investigaciones en Mecanismos de Resistencia a Antibióticos, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM). Facultad de Medicina. Buenos Aires, Argentina. (2) Laboratorio de Resistencia Bacteriana, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEB). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. (4) Universidad Nacional de Misiones. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Biología Subtropical (IBS), Puerto Iguazú, Argentina.

Los integrones están compuestos de una integrasa, su sitio de reconocimiento y un promotor para la expresión de los genes *cassettes*, lo cual da lugar a plataformas genéticas que se hayan presentes en el 10% de los genomas bacterianos secuenciados hasta el momento. Las integrasas de integrones son capaces de mediar recombinación sitio-específica de genes *cassettes* móviles, originando regiones variables en composición y funciones. Se han reportado innumerables cepas clínicas con integrones asociados a la multirresistencia antibiótica, confiriendo resistencia a casi todos los antibióticos de uso médico. Los integrones de clase 1 son los más frecuentes en aislamientos clínicos, seguidos por los de clase 2. El objetivo de este trabajo fue estudiar dicho reservorio animal utilizando muestras de heces de animales silvestres (n=25), de hisopados rectales de roedores silvestres (n=23), así como muestras de suero aisladas de aves silvestres (n=30) en diferentes provincias de nuestro país. Con el fin de detectar integrones de clase 1 y 2, se procedió a la búsqueda por PCR de los genes de cada una de las integrasas (*intl1* e *intl2*) utilizando cebadores específicos, y Posteriormente los amplicones positivos fueron enviados a secuenciar y analizados por BLASTn. El gen *intl1* fue encontrado en una cepa de *Pantoea dispersa*, aislada de zorro colorado de Isla Grande de Tierra del fuego, y su alelo correspondía a una variante clínica. Con respecto a la detección de *intl2*, se encontró una distribución diferente, ya que se la identificó en 6 de 23 hisopados rectales de roedores silvestres. Cinco de ellos pertenecían a cepas de *Proteus* spp. Todos los amplicones del gen *intl2* fueron secuenciados y mostraron 100% de identidad con el alelo más común presente en el GenBank y contienen el codón *stop* prematuro característico de este gen de integrasa. Nuestro trabajo nos permitió identificar un nuevo reservorio para los integrones de clase 2, tomando a los roedores pequeños que habitan en sitios urbanos y suburbanos como hospedadores y a *Proteus* spp. como género prevalente portador de dichos elementos.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Omphalea diandra* L FRENTE A COCOS GRAM POSITIVOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN MONTERÍA – CÓRDOBA

Ady Seña Lastre (1)*, Orfa Contreras Martínez (1), Alberto Angulo Ortiz (1)

(1) Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.

Las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) son un gran reto para los centros hospitalarios, siendo la resistencia a los antimicrobianos, el mayor agravante de esta situación. Actualmente, los cocos Gram positivos presentan múltiples mecanismos de resistencia frente a los agentes utilizados para su control. Además, poseen factores determinantes de patogenicidad, que les da la capacidad de producir enfermedades en un organismo susceptible o inmunosuprimido, y se encuentran dentro de las bacterias más frecuentemente aisladas de pacientes hospitalarios. En vista de que la creciente aparición de resistencia antimicrobiana ha aumentado la demanda clínica de antibióticos novedosos y eficaces, es preciso buscar alternativas terapéuticas a partir de nuevas fuentes, como los principios bioactivos, que poseen muchas plantas. Por ello, este trabajo se propuso evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de hojas de *Omphalea diandra* L frente a cocos Gram positivos de importancia clínica en Montería, Córdoba, empleando los métodos de Difusión en agar (utilizando discos) y Dilución en caldo (microdilución). En cuanto a los extractos, estos se obtuvieron a partir del método de maceración en frío, sumergiendo el material vegetal, previamente secado en un horno de aire recirculante a 70°, en dos solventes (etanol al 96% y bencina de petróleo), por separado, para ser concentrados a presión reducida en un rotaevaporador. Una vez obtenidos, se diluyeron a concentraciones de 50 a 5000 ppm para ser ensayados frente a las bacterias *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Como control positivo se utilizó ciprofloxacina a 1000 ppm y como control negativo Dimetilsulfóxido al 10% y Twin 80 al 5% para los extractos etanólico y bencina de petróleo, respectivamente. No se reporta inhibición del crecimiento bacteriano por parte del método de difusión. No obstante, el método de microdilución sí reporta disminución de dicho crecimiento, a medida que disminuye la concentración de los extractos. Este efecto es más evidente con el extracto etanólico frente a la cepa *E. faecalis* (ATCC 29212), a la concentración de 50ppm. Dicho extracto fue quien mostró una mayor y mejor actividad frente a los microorganismos ensayados. Así, el método de microdilución se reafirma como el más sensible, respecto al método de difusión. Además, se denota que los extractos vegetales poseen compuestos que potencializan el crecimiento bacteriano.

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE *Trichilia hirta* FRENTE A AISLADOS CLÍNICOS DE *Candida albicans*

Jesús Sierra (1)*, Orfa Contreras (1), Alberto Angulo (1)

(1) Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.

El aumento de la resistencia a los antimicrobianos es una problemática de salud pública a nivel mundial, pone en riesgo la prevención y el tratamiento eficaz de infecciones y es responsable de altas tasas de mortalidad y morbilidad. La resistencia a los antimicrobianos empeora el tratamiento de infecciones nosocomiales, especialmente aquellas causadas por hongos, destacando las especies del género *Candida* spp. La candidiasis afecta principalmente inmunocomprometidos, neonatos y adultos mayores, encontrándose factores de riesgo como VIH, cirugías, quemaduras, neutropenia, trasplantes de órganos, entre otros. *Candida albicans* es uno de los agentes etiológicos con mayor porcentaje de aislamientos en dichas infecciones. Con menos herramientas para combatir estos agentes infecciosos es necesario el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, siendo las plantas fuente de principios terapéuticos. *T. hirta* ha presentado propiedades antimaláricas, anti-inflamatorias, antitumorales y antibacterianas, lo que la convierte en una posible fuente de compuestos antifúngicos. En este trabajo se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* de extractos de *T. hirta* frente a aislados clínicos de *C. albicans*, obtenidos a partir de sangre, orina, secreción vaginal, tejido celular subcutáneo y axila y la cepa de referencia ATCC 10231. El material vegetal (carpelos y semillas) fue secado y molido para ser sometido a extracción por los métodos soxhlet con benzina de petróleo y maceración en frío utilizando etanol al 96% de manera respectiva, los extractos fueron diluidos a concentraciones de 50 a 5000 ppm para ser ensayados frente a los aislados clínicos por los métodos de difusión en agar empleando pozos y microdilución. El control positivo empleado fue Fluconazol a 1000 ppm y control negativo Dimetilsulfóxido al 10%. El método de microdilución mostró una disminución en el crecimiento fúngico de los aislados a medida que aumentaba la concentración de los extractos, principalmente frente a los etanólicos de carpelo y semilla con inhibiciones incluso superiores a la del Fluconazol. Esto puede deberse a la presencia de metabolitos secundarios de naturaleza polar en estos extractos como alcaloides, flavonoides y fenoles. Sin embargo, mediante el método de difusión en agar no se observó efecto inhibitorio por parte de los extractos evaluados. No se debe olvidar que sensibilidad del método de microdilución es mayor que la del método de difusión en agar el cual es de carácter cualitativo.

SESION DE POSTERS MG

ÁREA TEMÁTICA

Transferencia Horizontal Genética

DETECCIÓN DE NUEVO LINAJE E INTEGRASA DE INTEGRÓN A PARTIR DEL ANÁLISIS GENÓMICO DE *Pseudomonas* SP. CA10SN1

Fernando Martín Alonso (1)*, Luciana Chamosa (1), Daniela Centrón (1), María Paula Quiroga (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, FMed, (IMPam, UBA-CONICET), CABA, Argentina.

Pseudomonas es un género de gran éxito evolutivo, favorecido por su gran capacidad de adaptación tanto a nichos ambientales como clínicos. La taxonomía del género ha avanzado en conjunto con la disponibilidad de nuevas metodologías de secuenciación y análisis. En este trabajo nos proponemos realizar un estudio genómico y filogenético de la cepa *Pseudomonas* sp. Ca10SN1 con énfasis en las principales características asociadas a la Transferencia Horizontal Genética y resistencia antibiótica. Este aislamiento fue obtenido y cultivado *in situ* en agar nutritivo a partir de una muestra de sedimento en cercanías al Río Rincón (S 27° 37.999'; W 68° 14.300' y 3789 msnm) provincia de Catamarca, Argentina. Se determinaron las condiciones de crecimiento óptimas a 28°C durante 24 hs en agar y caldo Mueller Hinton. Se realizó un antibiograma siguiendo los lineamientos del EUCAST para el género el cual mostró halos de alta sensibilidad (>30mm) para todos los antibióticos probados. Se secuenció el genoma completo mediante Illumina MySeq que se ensambló iterativamente (2656330 lecturas crudas y 121 *contigs* post ensamblado). Por otro lado, se analizó el genoma con RAST (*Rapid Annotation using Subsystem Technology*), IntegronFinder y PHAST. De acuerdo a los 23 organismos más relacionados a Ca10SN1, según la base de datos del RAST y sumando cepas de referencia, se realizó un *Multilocus Sequence Analysis* (MLSA). Para ello, se concatenaron los genes *housekeeping* 16S, *gyrB*, *rpoD* y *rpoB* y se realizó un árbol filogenético usando MEGA 7. Para determinar la proximidad entre especies se calculó la identidad promedio de nucleótidos (ANI, *Average Nucleotide Identity*) utilizando JSpeciesWS. Filogenéticamente, *Pseudomonas* sp. Ca10SN1 se agrupa de forma aislada respecto al conjunto de las cepas analizadas, la ANI respecto a la cepa más cercana (*Pseudomonas mendocina ymp*) fue de 79,01±2,24 (corte: 95%). Se detectó una nueva integrasa de integrón (*intlP_{sca}*) con motivo ALRR. Además, se identificaron 19 CALIN's (*clusters of attC sites lacking integron-integrases*) insertos en 13 sitios a lo largo del cromosoma, y 1 profago lambda completo. Las herramientas usadas han demostrado ser confiables para la delineación de especies y la identificación de cepas en *Pseudomonas* spp. El conjunto de los resultados obtenidos no solo sugiere que *Pseudomonas* sp. Ca10SN1 pertenece a un nuevo linaje de *Pseudomonas*, sino que también evidencian la diversidad de nuevas integrasas de integrón de origen ambiental.

ESTABILIDAD POBLACIONAL DE INTRONES GRUPO II CLASE C-ATT C: S.MA.I2 Y SH.SP.I4.

Fernando Martín Alonso (1)*, Gisela Parmeciano Di Noto (1), Cecilia Quiroga (1), María Paula Quiroga (1), Daniela Centrón (1)

(1) Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica. Facultad de Medicina. (IMPaM), Buenos Aires, Argentina.

Los intrones del Grupo II (GII) son elementos móviles con actividad ribozímica. Dentro de este grupo se encuentran los intrones de clase C-*attC*, los cuales comparten el sitio blanco de las integrasas de integrón que son los sitios de recombinación de los genes *cassettes* (*attC*). Estos intrones en particular, invaden los sitios *attCs* insertándose en el *inverse core site* (ICS) de los mismos, reconociéndolos por su secuencia a nivel ADN así como también por su estructura secundaria. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la permanencia de los intrones del GII de clase C-*attC* en los genomas bacterianos. Para ello, se estudió el mantenimiento de 2 intrones de clase C-*attC*: *S.ma.I2* y *Sh.sp.I4*, localizados en los genomas de los aislamientos clínicos de *Serratia marcesens* SCH909 y *Shewanella* sp. Sh95, respectivamente. Se partió de colonias individuales de cada aislamiento portador de un intrón y se realizaron subcultivos sucesivos diarios durante 30 días en medio líquido Luria Bertani (LB) a 37°C con agitación. A los días 7, 20 y 30 se sembraron placas de LB agar a partir de los subcultivos y se realizó una PCR a partir de 30 colonias mediante la técnica de hervido. Luego se realizaron reacciones de PCR con *primers* específicos para detectar la presencia de ambos intrones. Tanto el intrón *S.ma.I2* como *Sh.sp.I4* se mantuvieron en el 100% de las colonias analizadas hasta los 30 días de subcultivo. En función de estos resultados, se continuó el ensayo con el intrón *S.ma.I2* durante seis meses, al cabo de los cuales se evidenció nuevamente su mantenimiento en el 100% de las colonias analizadas. Los resultados obtenidos indicarían que estos intrones se mantienen de forma estable en el genoma bacteriano una vez adquiridos. A partir de este sitio de invasión, estos intrones son susceptibles de seguir diseminándose activamente mediante eventos de transferencia horizontal genética gracias a su capacidad de movilización, pero principalmente por la acción de las integrasas de los integrones que contienen a los genes *cassettes* invadidos por intrones y por los rangos de huésped de los plásmidos en los que suelen localizarse.

CARACTERÍSTICAS DEL GEN *INT11* QUE PERMITEN SU ADAPTACIÓN AL NICHOS HUMANO

Verónica Elizabeth Álvarez (1)*, Luciana Chamosa(1), Andrés Iriarte(2), Marcelo H. Cassini(3),
María Paula Quiroga(1), Daniela Centrón(1).

(1) Instituto de Microbiología y Parasitología Médica, Universidad de Buenos Aires-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IMPam, UBA-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Higiene, Universidad de La República, Montevideo, Uruguay. (3) Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Los integrones de clase 1 son el mecanismo de transferencia horizontal de resistencia antibiótica más exitoso en cepas clínicas Gram-negativas. El objetivo de este trabajo fue identificar los aspectos genéticos de la diseminación global del gen *int11* en diferentes nichos y su adaptación al humano. Se buscaron alelos de *int11* con Blastn (AF313471). Se analizó procedencia, grado de impacto antrópico, taxa, presencia de Tn402 y fuerza promotora de los alelos. Se buscaron SNPs (SNP-sites) y se realizó filogenia por máxima verosimilitud (MEGA 7). Se anotó el hábitat de 2978 genomas bacterianos (GenBank, BacMap) y se calculó el índice de adaptación de codones "CAI". Se estudió el mantenimiento de *int11* (1, 7 y 30 días) en 3 experimentos independientes con subcultivos diarios de 100 µl de inóculo en 1,9 ml de caldo LB para 4 cepas clínicas *int11* positivas: *Klebsiella pneumoniae* 666, *Serratia marcescens* 909, *Pseudomonas aeruginosa* TFQ1 y *Acinetobacter baumannii* 144; y 4 cepas ambientales: *Rahnella aqualitis* 9AL34, *Pseudomonas antarctica* 1SL5, *Escherichia coli* 4lgSN1, y *Acinetobacter* 1lgSN3. Se realizaron colony-PCR, PCR de los subcultivos y secuenciación. Se hallaron 90 alelos de *int11*, 37 ambientales, 44 clínicos y 9 de ambos nichos ("multi-hábitat"). 4 alelos "multi-hábitat" (AF313471, AY509004, KF040452, KJ186152) tenían una frecuencia mayor al 20%. El 73,3% eran alelos únicos. Se encontraron 187 SNPs a lo largo de *int11*. Se observó una alta similitud entre el CAI de *int11* y de especies bacterianas procedentes de agua marina y dulce, suelo, extremófilos, tracto gastrointestinal, cavidad oral y patógenos humanos (CAI>0.7). No se observaron mutaciones en las 4 cepas clínicas (día 30), mientras que las cepas ambientales evidenciaron una pérdida brusca de *int11* (día 1). Al día 30 se observó la delección de *int11* en 4lgSN1, 9AL34 y 1lgSN3. Se hallaron 900 pb de *int11* en 4lgSN1 y 1SL5 sin mutaciones, al realizar PCR de una alícuota de los subcultivos del día 30, sugiriendo que *int11* se conserva completo y trasmite verticalmente en cepas clínicas, pero en cepas ambientales sólo se logra un mantenimiento a nivel poblacional. Los resultados evidencian un flujo dinámico de los alelos de *int11* en particular en nichos humanos (tracto oral y gastrointestinal y cepas patógenas) que han permitido probablemente su expansión desde la aparición de los seres humanos especialmente desde la era antibiótica, pero con una transmisión diferencial entre cepas ambientales y clínicas.

NUEVO INTEGRÓN DE CLASE 1 INSERTO EN LA ISLA DE PATOGENICIDAD PAPI-1 DE *Pseudomonas aeruginosa*

Verónica Elizabeth Álvarez (1)*, Elisabet Vilacoba (1), Nicolás Donis (1), Gabriela Delgado (2),
María Paula Quiroga (1), Daniela Centrón (1)

(1) Instituto de Microbiología y Parasitología Médica, (IMPaM, UBA-CONICET), CABA, Argentina. (2)
Laboratorio de Microbiología, Hospital del Niño Jesús, San Miguel de Tucumán, Argentina

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista ubicuo en el ambiente. En el nicho intrahospitalario causa infecciones en pacientes inmunocomprometidos produciendo un arsenal de factores de virulencia y resistencia antibiótica. La cepa PA14 fue descrita como la más virulenta dentro de la especie debido a la presencia de 2 islas de patogenicidad (PAPI-1 y PAPI-2). PAPI-1 tiene 108 kb, es movilizable y posee genes homólogos en patógenos de humanos y de plantas. Debido a que no hay descripciones de factores de patogenicidad asociados a determinantes de resistencia a antibióticos (RA), el objetivo del presente trabajo fue realizar una comparación de las islas PAPI-1 asociadas a RA y su mantenimiento a lo largo del tiempo. Se obtuvieron 84 genomas de *P. aeruginosa* de GenBank (Mayo, 2017). Utilizando la secuencia de la isla PAPI-1 de PA14 (AY273869) en Blastn, se identificaron 30 candidatos de los 84 genomas que contenían una región con una identidad mayor al 70% con la isla. Se agregó la cepa *P. aeruginosa* PATFQ1 aislada en nuestro laboratorio (2009) de un paciente con Fibrosis Quística que presenta la isla invadida por un integrón del tipo Tn402. Se localizó PAPI-1 en cada genoma (IslandViewer 4, RAST) y se compararon las islas con ACT. Los ensayos de mantenimiento se realizaron por triplicado en experimentos independientes; el gen *cassette bla_{GES-1}* y la inserción de la isla PAPI-1 fueron identificados por PCR (n=30 por réplica). Se observó que las islas PAPI-1 halladas, siempre estaban insertas en un gen ARNt^{Lys} y que cada una de ellas presentaba diferentes combinaciones de los genes descritos en la isla PAPI-1 de PA14. La PAPI-1 de la cepa PATFQ1 era la única que había sido invadida por un integrón de clase 1 con los genes *cassettes bla_{GES-1}* y *aac(6)-IId*, los cuales le confieren un antibiograma de resistencia extrema (XDR). Ensayos de mantenimiento mostraron que tanto la isla PAPI-1 como el gen *cassette bla_{GES-1}* se mantenían durante 30 días en el 100% de las colonias. Estos resultados evidencian la plasticidad de la isla PAPI-1 que le permite adaptarse a los diferentes nichos de *P. aeruginosa*, así como adquirir determinantes de resistencia antibiótica asociados a elementos móviles y mantenerlos en el tiempo. Es la primera vez que se describe una misma plataforma genética para la diseminación de virulencia y resistencia antibiótica en bacterias Gram-Negativas, con su eventual capacidad de transmisión debido a su localización en plataformas movilizables.

NOVEDOSO HALLAZGO DE DISPERSIÓN DE LA INTEGRASA DE CLASE 1 EN AISLAMIENTOS DE SITIOS CON BAJO IMPACTO ANTRÓPICO Y AISLAMIENTOS CLÍNICOS DEL NOROESTE ARGENTINO

Gabriela D'Amico González (1)*, Luciana Chamosa (3), María Paula Quiroga (2,3), Pablo Power (1,2), Daniela Centrón (2,3)

(1) Laboratorio de Resistencia Bacteriana, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2) CONICET. (3) Lab. de Investigaciones en Mecanismos de Resistencia a Antibióticos, Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

Los integrones de clase 1 son elementos genéticos muy exitosos en la adquisición y asociados a la diseminación de genes de resistencia a antibióticos entre los aislamientos de origen clínico. Su estructura comprende el gen de la integrasa (*intI1*) que codifica una recombinasa sitio-específica, una región reguladora y un sitio de recombinación (*attI1*), seguido por una región variable formada por uno o más genes *cassettes*. Nuestro objetivo es analizar la frecuencia de *intI1* en la región Noroeste de Argentina, y la dispersión de los alelos encontrados. Se recolectaron muestras de suelo y sedimento de 8 sitios del Parque Provincial Universitario Sierra de San Javier y del Parque Nacional Los Alisos de la provincia de Tucumán en 2015. Las muestras recolectadas con hisopos estériles se sembraron en placas de agar nutritivo sin antibióticos e incubaron a temperatura ambiente por 4 días. Se tomaron colonias aisladas fenotípicamente diferentes de cada sitio, se extrajo el ADN total, y se amplificó el gen codificante de ARNr 16S por PCR. Para evaluar presencia o ausencia de *intI1* se utilizaron 2 combinaciones de cebadores específicos con el fin de recuperar diferentes alelos que pudieran estar presentes en las muestras. Los productos obtenidos se secuenciaron y se analizaron con Sequencher y *Basic Local Alignment Tool* (BLAST). Las cepas que arrojaron resultados positivos se identificaron por MALDI-TOFF. Sobre un total de 33 aislamientos, las 2 cepas *intI1*-positivas se identificaron como *Kluyvera intermedia* (6%) presentando un 100% de identidad nucleotídica con un alelo que solo fue reportado previamente en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* aislado de un paciente con fibrosis quística en San Miguel de Tucumán. Estos resultados indicarían, por un lado, una menor frecuencia de *intI1* en esta región que en la Patagonia según datos previos de nuestro laboratorio. Por otro lado, la circulación de un alelo característico de *intI1* en muestras ambientales y hospitalarias de la misma región, evidencia la ocurrencia de eventos de transferencia horizontal genética, destacando la relevancia del ambiente como potencial reservorio de genes de resistencia y la adaptación exitosa del gen *intI1* a diferentes condiciones ambientales aún en ausencia de presión de selección antibiótica.

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A COLISTINA EN *Escherichia coli* FECALES AISLADAS DE CERDOS DEL MÓDULO PRODUCTIVO PORCINO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE CASILDA

Paula de Oña (1), Erica Rabe (1), Claudio Patalano (1), Cecilia Casabonne (2),
Jorgelina Cerrutti (1)*

(1) Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario (UNR). Casilda. Argentina. (2)
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. Rosario. Argentina.

Estudios demostraron que la utilización de antimicrobianos (ATM) en porcinos genera selección de bacterias resistentes dentro de la microbiota coliforme, las cuales pueden contaminar alimentos de origen animal. Uno de los ATM incorporados en dietas comerciales de porcinos es la colistina (COL). Se utiliza en humanos para bacterias Gram negativas resistentes a múltiples ATM. Anteriormente, la resistencia adquirida a COL era debida a mutaciones en genes cromosómicos. Recientemente se informó la detección de resistencia a COL a través de plásmidos. Se han descrito cuatro variantes del gen *mcr* (*Mobile Colistin Resistance*), *mcr-1* es la más frecuente. Nuestro objetivo fue evaluar la sensibilidad a COL de cepas de *Escherichia coli* aisladas de cerdos sanos del Módulo Productivo Porcino (MPP) de la Facultad y analizar la aparición de resistencia en relación con el tiempo de administración de COL en la dieta. Se estudiaron muestras de materia fecal (MF) recolectadas por hisopado anal a lechones desde los 23 hasta los 108 días de vida. Los cerdos fueron alimentados con una dieta a base de maíz, soja y una premezcla con sulfato de colistina al 10% desde los 7 días de vida. Los últimos 14 días el alimento no contenía COL. Se procedió al cultivo de las muestras de MF en medio selectivo para enterobacterias. Se seleccionaron colonias al azar para cada cerdo y mediante pruebas bioquímicas se identificaron las *E. coli*. Luego, se determinó la sensibilidad a COL por el método de pre-difusión con Tabletas Rosco-Neosensitabs®, considerado *método aceptado*. Algunas de las cepas resistentes a COL (n=14), se les realizó la detección del gen *mcr-1* por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (n=11). El 18% de cepas *E. coli* aisladas (14/77) fueron resistentes (R) a COL y 2,5% con sensibilidad intermedia (I) (2/77) en cerdos (n=29) que compartían el mismo lugar y dieta. Las mayores prevalencias de R aparecieron a partir de los 77 días de alimentados con COL (R 26,5%; I 5,9%). En el último muestreo, con 14 días sin COL en el alimento la resistencia se mantuvo (R 31%). El gen *mcr-1* se detectó solo en 2 cepas del último grupo muestreado. Con estos resultados, es evidente la necesidad de incorporar a los animales de producción en los cuales se utiliza COL en la dieta para la vigilancia epidemiológica. El método utilizado permite detectar resistencia a COL tanto cromosómica como plasmídica, por lo tanto quedaría por dilucidar cuál es el mecanismo en las cepas R con gen *mcr-1* no detectable.

SESION DE POSTERS MG

ÁREA TEMÁTICA

Otros

SELECCIÓN DE AGARICOMYCETES NATIVOS DE LA SELVA PARANAENSE SECRETORES DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS CON ACTIVIDAD FIBRINOLÍTICA

Gabriela Alejandra Acosta (1)*, María Isabel Fonseca (1), Julia Inés Fariña (2), Pedro Darío Zapata (1)

(1) Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones (InBioMis), FCEQyN-UNaM, Posadas, Argentina. (2) Laboratorio de Biotecnología Fúngica. PROIMI-CONICET, S.M. Tucumán, Argentina.

El mal funcionamiento del sistema plasminógeno/plasmina para disolver el trombo, dejando grandes residuos adheridos en las paredes endoteliales y otros circulando que pueden causar ataques al corazón y otras enfermedades cardiovasculares, son una de las principales causas de muerte en el mundo. Muchos de los productos utilizados en terapia clínica trombolítica presentan desventajas tales como, baja especificidad sobre fibrina y costos relativamente altos. Por ello, el creciente interés en la obtención de las proteasas fibrinolíticas con costo reducido y con características farmacológicas apropiadas, ha llevado a buscar nuevas fuentes de obtención de las mismas, cobrando gran importancia aquellas producidas por microorganismos. En este sentido, los Agaricomycetes son productores de enzimas proteolíticas extracelulares con actividades fibrinolítica. El objetivo de este trabajo fue seleccionar cepas de Agaricomycetes nativos de la selva Paranaense capaces de secretar enzimas proteolíticas con actividad fibrinolítica. Para ello, se realizó un *screening* para determinar la actividad proteolítica y fibrinolítica de 35 cepas de Agaricomycetes nativos de la selva Paranaense, pertenecientes al cepario Laboratorio de Biotecnología Molecular (InBioMis). Los hongos se activaron en medio sólido conteniendo: 12,7 g/l extracto de malta y 17 g/l agar, durante 5 días a 28°C. A partir del cual se cortaron tacos de 7 mm de micelio joven y se inoculó en 20 ml de medio nutritivo conteniendo: 35 g/l glucosa, 5 g/l peptona de soja, 5 g/l extracto de carne, 2 g/l NaCl, 0,5 g/l KH₂PO₄ y 0,5 g/l MgSO₄·7H₂O, e incubados 7 días a 28°C. El sobrenadante de cultivo se separó del micelio por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 min. La actividad proteolítica se determinó en placas de Agar-Leche descremada. En cada placa se realizaron pocillos de 5 mm, en los cuales se colocó 10 µl de sobrenadante y se incubó a 37°C por 24 h. La actividad proteolítica se determinó por la presencia de halos de degradación. La actividad fibrinolítica se reveló mediante el método de placa de fibrina de Astrup & Mullertz (1952). De las 35 cepas analizadas, 12 revelaron actividad proteolítica; de las cuales 2 presentaron actividad fibrinolítica. Ambas cepas, pertenecientes al género *Schizophyllum*, fueron seleccionadas con el fin de optimizar la producción enzimática para aplicarlas como agentes trombolíticos.

AISLAMIENTOS SECUENCIALES DE *Stenotrophomonas maltophilia* DE TRES PACIENTES FIBROQUÍSTICOS: CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA

Eliana Alcaraz (1)*, Daniela Centrón (2), José Di Conza (1), Laura Friedman (1), Carlos García (1), Beatriz Passerini de Rossi (1)

(1) Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Stenotrophomonas maltophilia (Sm) es un patógeno nosocomial multirresistente cuya prevalencia a nivel mundial en pacientes con fibrosis quística (FQ) se ha incrementado en los últimos años. El objetivo fue caracterizar 13 aislamientos de Sm obtenidos entre 2014-2017 de esputos de 3 pacientes FQ atendidos en centros de salud de Argentina: 6 aislamientos de una mujer de 22 años de Curitiba, Brasil (1318, 1321, 1326, 1336, 1340 y 1342; IMPAM UBA-CONICET), 4 aislamientos de un varón de 14 años (SF2, SF3, SF5 y SF8; H Dr Alassia de Santa Fe), y 3 aislamientos de un varón de 17 años (GU5 y GU6 de la misma muestra y GU14; H Dr Gutiérrez). Se incluyó la cepa de referencia K279a aislada de un paciente oncológico. La caracterización incluyó: formación de biofilms (biomasa y producción de EPS); motilidades *swimming-twitching*; producción de proteasas y nitrato reductasa; detección de *narG* (*nitrate reductase*) y *stmPr-1* (*alkaline serine protease*); sensibilidad a trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), levofloxacina y minociclina y genotipificación por ERIC-PCR. Los 6 aislamientos secuenciales no presentaron motilidad ni actividad proteolítica y formaron biofilms muy pobres. Los aislamientos de pacientes masculinos formaron biofilms fuertes cuya producción de biomasa fue similar a la de K279a pero con menor producción de EPS; todos fueron proteolíticos salvo GU14. GU5, GU6 y GU14 solo presentaron motilidad *twitching* mientras que los aislamientos de Santa Fe mostraron ambas motilidades. Solo se detectaron *narG* y actividad de nitrato reductasa en SF2 y K279a. Todos los aislamientos amplificaron *stmPr-1*, sugiriendo la posible presencia de mutaciones en aquellos no proteolíticos. Todos los aislamientos fueron sensibles a minociclina, 3/13 (23%) fueron sensibles a TMS y 7/13 (54%) a levofloxacina. La genotipificación reveló que los 6 aislamientos secuenciales estaban clonalmente relacionados, en cambio solo algunos aislamientos de los otros dos pacientes presentaron relación clonal (SF3-SF5, GU5-GU14), mientras que los 2 aislamientos una misma muestra no estaban relacionados. En conclusión, los aislamientos de los 3 pacientes mostraron diferencias respecto a la formación de biofilms y otros factores de virulencia. Los resultados de la genotipificación sugieren la persistencia de ciertos clones en el pulmón fibroquístico. La detección de aislamientos resistentes a TMS, en los que investigaremos la presencia de integrones de clase 1 y 2, es relevante ya que es la droga de elección.

DETECCION DE *Cryptosporidium* sp. EN AGUAS DEL RIO HUACO HASTA LA CAPITAL DE LA CIUDAD DE LA RIOJA

Evelyn Barrera (1)*, Gómez Celeste (1), Cerezuela Flavia (1), Recchioni Liliana (2), Soloaga Alejandra (1), Córdoba Patricia (1).

(1) Departamento de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de La Rioja. (2) Departamento de Ciencias Aplicadas. Universidad Nacional de La Rioja.

En Argentina *Cryptosporidium*, fue detectado con potencial zoonótico produciendo patologías en la población inmunocomprometida e inmunocompetentes. La Rioja se caracteriza por baja precipitación anual y la ciudad capital se abastece de agua del Rio huaco para potabilizarla y distribuirla. Dicho Rio, ubicado en las márgenes del cordón montañoso del Velazco, atraviesa zonas rurales con vacas, caballos, cabritos y cerdos. Desconocemos la presencia de este agente en el curso de este rio. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la presencia de *Cryptosporidium* spp. en 9 puntos en el curso del Rio huaco hasta la ciudad capital en tres épocas del año. Se recolectaron 10 litros de agua en cada uno de los puntos durante verano, invierno y primavera, correspondiente a 27 muestras totales. Los puntos de toma de muestras fueron Rio huaco arriba, Rio huaco abajo, sanagasta, dique oeste, dique este, el puesto, el puente y dos puntos de la capital, el centro de la ciudad y el Universidad nacional de La Rioja. Las muestras fueron filtradas por Equipo Millipore con filtro de 0.45 µm en equipo Millipore, luego concentradas por Telemann y visualizados por coloración de Ziehl-Neelsen (Z-N) modificada. La carga parasitaria se realizó por cruces considerándose positivo a partir de la visualización de más de 5 ooquistes en adelante. Los resultados muestran que de las 27 muestras obtenidas 20 (74%) fueron positivas. El 100% de las muestras obtenidas en primavera y verano fueron positivas mientras que el 66% de ellas lo fue en el invierno. Las cargas de parásitos observados por esta metodología fueron más numerosas en primavera, disminuyendo en el verano y el invierno, este último con 3 muestras negativas. Las muestras del agua potable, del centro de la ciudad y de la Universidad fueron negativas en invierno cuando disminuye su carga parasitaria. La presencia de *Cryptosporidium* spp. en el agua estudiada es un marcador de contaminación fecal que puede provenir de varios animales reservorios. Aunque aún no conocemos su potencial zoonótico, este agente no es monitoreado en el agua potable y parece no ser retenido por los procedimientos de la potabilización en nuestra ciudad. Una medida de vigilancia adecuada en las aguas superficiales es necesaria considerando que resiste las altas temperaturas y la cloración.

BACTERIÓFAGOS Y SHIGELAS EN ENSALADAS PREPARADAS LISTAS PARA CONSUMIR

Hebe Barrios (1)*, Pablo Ojeda (1), Ricardo Anselmo (1)

(1) Universidad Nacional de Luján, Luján, Buenos Aires, Argentina.

La contaminación de los alimentos con *Shigella* spp. puede provenir del contacto directo o indirecto con materia fecal de personas infectadas, de aguas contaminadas, moscas, o falta de buenas prácticas del manipulador durante su preparación. El objetivo del trabajo fue verificar la presencia de *Shigella* spp. y de sus bacteriófagos específicos en ensaladas preparadas listas para consumir. Cien muestras de 250 g de zanahoria, brotes de soja, radicheta y repollo colorado, provenientes de bandejas individuales envueltas con film plástico fueron transportadas al laboratorio a 4°C y analizadas inmediatamente. Se efectuó una suspensión de cada una de las muestras en igual volumen de agua peptonada al 0,1% estéril, con agitación periódica durante 10 minutos a temperatura ambiente para luego verter el sobrenadante en un Erlenmeyer estéril de 500 ml. Veinticinco ml de la suspensión, equivalente a 25 g del producto, por duplicado, se utilizaron para detectar bacteriófagos y *Shigella* spp. Para la detección de bacteriófagos 25 ml de suspensión se colocaron en 25 ml de caldo nutritivo, de doble concentración, se adicionó 1 ml de cultivos de *S. flexneri* y de *S. sonnei*, de 24 h a 37°C en caldo nutritivo. Se incubó a 37°C por 24 h, se transfirió 10 ml a un tubo de tapa a rosca estéril, se agregó 1 ml de cloroformo, se agitó 60 segundos y se conservó a 4°C. A continuación se determinó la presencia de bacteriófagos anti *S. flexneri* y *S. sonnei* siguiendo la técnica de doble capa de agar. La determinación de shigelas en 25 ml de suspensión se efectuó colocando dicho volumen en 225 ml de caldo *Shigella* con novobiocina al 0,5 µg/ml y se continuó según metodología estándar. El 60% de las muestras contenía bacteriófagos específicos de *S. flexneri* y el 40% de bacteriófagos de *S. sonnei*, pero en ninguna muestra se detectó *Shigella* spp. La presencia de bacteriófagos específicos contra ambas shigelas demostraría una elevada contaminación por esta enterobacteria patógena. Además, los resultados negativos en la detección de *Shigella* spp. por la metodología estándar, sugeriría que se hallan en baja cantidad, ya que son extremadamente lábiles a las condiciones ambientales e incapaces de competir con la flora habitual de dichos alimentos. Estos resultados indicarían que cuando la enterobacteria se encuentra en una baja carga la detección de sus fagos específicos sería una metodología sensible para demostrar la presencia de *Shigella* spp. en alimentos.

GENOTIPIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *Bordetella pertussis* DE ARGENTINA, AGENTE CAUSAL DE UNA PATOLOGÍA INMUNOPREVENIBLE VIGENTE

Erika Bartel (1)*, Magalí Gabrielli (1), Francisco Carriquiriborde (1), Pablo Martín Aispuro (1),
Sofía Apodaca (1), Daniela Bottero (1), Daniela Hozbor (1)

(1) Laboratorio VacSal del Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas,
Universidad Nacional de La Plata-CONICET, La Plata, Argentina.

Bordetella pertussis es el principal agente causal de una patología respiratoria aguda (pertussis) que afecta preferentemente a los lactantes menores de 6 meses. El uso masivo de vacunas permitió la reducción de la morbi-mortalidad asociada a la enfermedad pero en las últimas décadas se ha registrado en varios países un resurgimiento. Como posibles causas de la nueva situación se han propuesto las bajas coberturas, la corta duración de la inmunidad conferida por las vacunas y la divergencia geno-fenotípica entre los aislamientos clínicos circulantes y las cepas de *B. pertussis* utilizadas en la producción de vacunas. En este trabajo presentamos los resultados obtenidos de la genotipificación realizada sobre nuestra colección local que construimos como Laboratorio de Referencia. Utilizamos la metodología MLST para caracterizar regiones génicas ya descritas como polimórficas en *B. pertussis*: la región promotora (*ptxP*) y la subunidad 1 (*ptxA*) de la toxina pertussis y las adhesinas pertactina (*prn*) y fimbria serotipo 3 (*fim3*). Durante el periodo 2000-2017, si bien se detectó una prevalencia de la variante *ptxA1* para la subunidad 1 de la toxina pertussis (98%), las secuencias de *ptxP*, *prn* y *fim3* presentaron diversidad génica. Así, durante el período 2000-2004 se detectó la siguiente distribución de perfiles de MLST para *ptxP-prn-fim3*: 9,4% para el perfil 1-1-A, 9,4% para 3-2-A y 81,2% para el perfil 3-2-B. Para el período 2005-2015 (n=95) el 88,4% de las muestras estudiadas correspondió al perfil 3-2-B, mientras que el 13% restante correspondió al perfil 3-2-A. De los aislamientos conteniendo el alelo A para *fim3*, el 90% fue obtenido durante el brote epidémico del año 2011. Los resultados muestran una drástica disminución de la combinación de alelos distinta de 3-2-B en dicho período. Cabe destacar que los aislamientos provenientes del período 1969-2001 (n=19) mostraron las combinaciones 1-1-A (47%), 3-2-B (42%) y 3-2-A (11%). Durante el período 2016-2017 si bien no se registraron variaciones de perfiles MLST, se detectaron dos aislamientos que no expresan PRN. Nuestros resultados muestran que el genotipo predominante que circula actualmente en nuestro país es *ptxP3*, *prn2* y *fim3B*, el cual se diferencia al del período anterior caracterizado por la co-circulación de otras variantes alélicas (principalmente 1-1-A). La disminución de la diversidad en las variantes alélicas circulantes podría responder a la presión de selección ejercida por las vacunas.

DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS PORCINA MEDIANTE DISTINTAS TÉCNICAS DE LABORATORIO EN UN ESTABLECIMIENTO SIN SIGNOS CLÍNICOS DE ENFERMEDAD

Ángel Ricardo Bence (1,4,5), Claudio Cacciato (2,4), Silvina Elena Gutiérrez (3,4), María Paula Domínguez (4), Mirentxu Indart (1), Pedro Soto (2,4), Silvia Marcela Estein (4,5)

(1) Depto. de Fisiopatología, FCV, UNCPBA, Tandil, Argentina. (2) Lab. de Microbiología Clínica y Experimental, Depto. SAMP, CIVETAN-CONICET- CIC. FCV, UNCPBA, Tandil, Argentina. (3) Lab. de Virología, Depto. SAMP, CIVETAN-CONICET-CIC, FCV, UNCPBA, Tandil, Argentina. (4) CIVETAN-CONICET-CIC. FCV, UNCPBA, Tandil, Argentina. (5) Lab. de Inmunología, Depto. SAMP, CIVETAN-CONICET-CIC, FCV, UNCPBA, Tandil, Argentina.

La brucelosis porcina es una enfermedad de gran impacto económico debido a las pérdidas reproductivas que ocasiona. Es causada por *Brucella suis* y es una zoonosis importante. El ingreso de animales enfermos en una zona indemne ocasiona tormentas de aborto, mientras que en regiones endémicas los signos clínicos no son detectables. El control de esta enfermedad se basa en la eliminación de los cerdos positivos a la serología y/o a la bacteriología. El objetivo de este estudio fue realizar un muestreo serológico exploratorio en un establecimiento de producción porcina de pequeña escala ubicado en el partido de Tandil (pcia. de Bs. As.) para determinar la presencia de brucelosis. El plantel contaba con un padrillo y 10 madres. Los animales no presentaban sintomatología compatible con la enfermedad y no se detectaban abortos desde hace 5 años. Se obtuvieron muestras de sangre sin anticoagulante de todos los animales y los sueros se analizaron en las pruebas de BPA, Rosa de Bengala y Polarización de la Fluorescencia de acuerdo a la normativa oficial. Dado que todos los animales resultaron seropositivos, se obtuvieron muestras de sangre entera, se realizó el lavaje prepucial (LP) al padrillo y los hisopados vaginales (HV) a 8/10 cerdas. Las muestras de sangre se sembraron en un medio bifásico. Se hicieron improntas del LP y de los HV y se sembraron por duplicado en Agar Brucella y en medio Skirrow. Los cultivos se incubaron 10 días a 37°C en atmósfera con 5% de CO₂. Las improntas se fijaron con etanol y se incubaron con un conjugado anti-*Brucella* marcado con Isotiocianato de Fluoresceína para la inmunodetección por Inmunofluorescencia Directa (IFD). Todos los hemocultivos resultaron bacteriológicamente negativos. Se observaron colonias compatibles con *B. suis* en los cultivos del LP y en 1/8 HV. Los aislamientos se enviaron a tipificar al Instituto Malbrán donde se identificaron como *B. suis* biovar 1. La IFD detectó el LP positivo y 2/8 HV positivos (uno en coincidencia con la bacteriología) demostrando ser más sensible que el cultivo. Los resultados de este trabajo confirman que la brucelosis porcina en una zona endémica es una enfermedad silente que cursa en ausencia de manifestaciones clínicas. La presencia de *B. suis* en el LP y en 2/8 HV demuestra que los cerdos eran portadores y potenciales eliminadores de la bacteria con el consiguiente riesgo para la producción y para la salud humana.

GENÓMICA COMPARATIVA DE UNA CEPA DE *Escherichia coli* PORTADORA DE UNA INTEGRASA DE CLASE 1 AISLADA DE UN SITIO DE BAJO IMPACTO ANTRÓPICO

Luciana S. Chamosa (1)*, Verónica E. Álvarez (1), María Paula Quiroga (1), Daniela Centrón (1).

(1) Laboratorio de Investigaciones en Mecanismos de Resistencia a Antibióticos, IMPaM (UBA-CONICET), Facultad de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

El uso irracional de antibióticos y el frecuente aislamiento de cepas bacterianas multirresistentes en la clínica son situaciones conocidas en Argentina. *Escherichia coli* 4lgSN1, aislada de suelo de un sitio con bajo impacto antrópico, es portadora de una integrasa de clase 1. El objetivo del presente trabajo consistió en efectuar genómica comparativa de dicha cepa con respecto a otras relacionadas filogenéticamente de diferentes hábitats. El genoma se secuenció por PacBio e Illumina, se anotó con RAST y se curó manualmente mediante Artemis, Blast y *softwares* como Phaster, ResFinder, ISfinder e IslandViewer. Se obtuvo 1 *contig* correspondiente al cromosoma de *E. coli* 4lgSN1, el cual poseía 99,98% de identidad por BLAST al compararla con la cepa comensal *E. coli* K-12 subs. MG1655 y 99% con la cepa clínica *E. coli* O157:H7 str. Sakai, con un 100% y 91% de cobertura, respectivamente. Se identificó un integrón de clase 1 inserto en *XerD*, con un gen *cassette* de resistencia a trimetoprima (*dfxB2*). *IntI1* se encontró truncado en el cromosoma, y por otro lado, el gen completo tanto por mapeo con BWA, como por estudios de mantenimiento en los que se detectó su pérdida en el 60% de las colonias al primer día de subcultivo. En el estudio comparativo con la cepa comensal, se encontró que se diferencian en la ausencia del profago CPZ-55, la presencia de un sistema CRISPR/Cas de menor tamaño y copias extras (de 1 a 3) de las secuencias de inserción IS1, IS2 e IS5. También hay deleciones que involucran genes cromosómicos y de profagos (ej: CP4-6 y DLP12), así como una inversión mediada por IS2. Adicionalmente se encontraron variaciones en el regulador global *crp*. A su vez, *E. coli* 4lgSN1 no posee los factores de virulencia característicos de la cepa clínica *E. coli* O157:H7 str. Sakai. La genómica comparativa nos permite concluir que pese a la gran sintenia observada al realizar estudios de ACT, los tres genomas se diferencian por cambios en el número de copias, variedad de elementos móviles y rearrreglos genómicos, que podrían influir en la adaptación al hábitat. La secuenciación y los experimentos en la cepa 4lgSN1 sugieren una población mixta con una mayor proporción de células portadoras de *intI1* deletado, que de bacterias con *intI1* completo. Esta investigación nos abre un nuevo interrogante sobre la influencia de los factores ambientales en el mantenimiento de *intI1* a nivel poblacional en las cepas ambientales

INCORPORACIÓN Y TRASLOCACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA EN PLANTAS DE ALFALFA EN SIMBIOSIS CON *Sinorhizobium meliloti*

Natalie De Valois (1), Myriam Sara Zawoznik (1), María Daniela Groppa (1,2), María Patricia Benavides (1,2), María Florencia Iannone (1,2)*

(1) Cátedra de Química Biológica Vegetal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2) IQUIFIB (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina.

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es un componente clave de las pasturas de las zonas templadas de nuestro país por su calidad nutritiva, su productividad, su plasticidad y su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico al asociarse de manera simbiótica con la bacteria *Sinorhizobium meliloti*. Dado que en los últimos años se ha incrementado el uso de nanopartículas (NPs) con diversos fines, es importante conocer la movilidad y el impacto que estas pueden tener sobre sistemas biológicos complejos, como el de las leguminosas en simbiosis con rizobios. Para avanzar en este sentido se realizó un ensayo en cámara de cultivo en el que se hicieron crecer plantas de alfalfa preinoculadas con *S. meliloti* (INTA-Castelar) sobre un sustrato inerte, con riego periódico con solución Hoagland sin nitrógeno y la incorporación de 50 ppm de magnetita. Luego de un mes de crecimiento, mediante estudios de magnetometría de muestra vibrante (VSM) se verificó el ingreso y la traslocación de estas NPs a los tejidos vegetales; además se midieron algunos parámetros de crecimiento y de desempeño simbiótico para evaluar cómo afectaron a este sistema biológico. Se observaron fuertes señales superparamagnéticas en las raíces de las plantas expuestas a NPs de magnetita. Dicha señal fue menor en la parte aérea. El contenido de leghemoglobina y la biomasa de nódulos fue el doble en los tratamientos con NPs respecto del control. Asimismo, se observó un incremento del 15 % en el contenido de clorofila. Para saber si las NPs podrían tener un efecto directo sobre el microsimbionte, se estudió la multiplicación *in vitro* de *S. meliloti* en presencia de distintas concentraciones de NPs de magnetita (desde 5 hasta 50 ppm). No hubo efectos significativos sobre la constante de crecimiento ni sobre el número de generaciones, aunque se detectó un aumento del 15 % en el contenido de polisacáridos extracelulares liberados al medio de cultivo (EPS) y del 36% en el de polisacáridos capsulares (CPS) en presencia de 25 ppm de magnetita; con 10 ppm los aumentos fueron de 3 % y 22 %, respectivamente. Concluimos que las NPs de magnetita ingresan a las raíces de la alfalfa (e incluso se traslocan a la parte aérea), pero no tienen un efecto desfavorable sobre el funcionamiento de la simbiosis rizobio-leguminosa; por el contrario, este parece estar estimulado. El efecto de estas nanopartículas sobre la biosíntesis de polisacáridos de superficie por parte de *Sinorhizobium meliloti* justifica mayor investigación.

¿AFECTAN LAS NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA LA ASOCIACIÓN SIMBIÓTICA SOJA- *Bradyrhizobium japonicum*?

Nathalie De Valois (1), Myriam Sara Zawoznik (1), María Daniela Groppa (1,2), María Patricia Benavides (1,2), María Florencia Iannone (1,2)*

(1) Cátedra de Química Biológica Vegetal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2) IQUIFIB (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina

En los últimos años ha crecido el uso de nanopartículas (NPs), sin embargo, se sabe poco acerca de la posible toxicidad de los nanomateriales liberados al ambiente. *Bradyrhizobium japonicum* se asocia simbióticamente con la soja e incorpora nitrógeno (N) de la atmósfera a los agrosistemas. Este sistema biológico es clave para la agricultura, por su implicancia en el ciclo global del N y por ende, en la producción de alimentos. Por tal motivo, se consideró de interés evaluar si las NPs de magnetita afectan a esta asociación simbiótica. Semillas de soja previamente inoculadas con *B. japonicum* se hicieron germinar y las plantas emergidas se hicieron crecer en cámara de cultivo, regando periódicamente con solución Hoagland sin N. Se realizaron dos tratamientos: plantas control y plantas expuestas a 50 ppm de NPs de magnetita. Al mes, las plantas se descalzaron para evaluar el número de nódulos y la biomasa nodular por planta, así como el contenido de leghemoglobina de los nódulos y el de clorofila y N de la parte aérea. Se observó aumento en el tamaño promedio de los nódulos y el contenido de leghemoglobina fue algo mayor (15%). El contenido de clorofila se incrementó un 56% y el de nitrógeno un 20% en el tratamiento con NPs. También se evaluó el efecto de dichas NPs sobre la multiplicación *in vitro* de *B. japonicum* E109 (cepario INTA-Castelar). Los tratamientos fueron 1, 5, 10, 25, 50 ppm de NPs. Se estimó el crecimiento bacteriano por la técnica de microgota y se determinó la constante de crecimiento y el número de generaciones. Dichos parámetros se elevaron un 2%, 4%, 11%, 3%, 3% en los tratamientos 1, 5, 10, 25, 50 ppm de NPs, respectivamente. Por otro lado, se cuantificaron los polisacáridos extracelulares, tanto los liberados al medio (EPS) como aquellos unidos a la superficie celular (CPS), ya que estos tienen un rol importante en las etapas tempranas de la infección radicular. El contenido de EPS y de CPS se duplicó con 10 ppm de NPs, mientras que con 5 ppm solo aumentó el primero (en igual magnitud que con 10 ppm). Concluimos que a las dosis probadas, las NPs de magnetita no son tóxicas e incluso impactan favorablemente en la infectividad de *B. japonicum* y la efectividad de la simbiosis. Además, estas NPs promovieron levemente la multiplicación *in vitro* de dicha bacteria, con un notable efecto sobre la biosíntesis de polisacáridos extracelulares, lo cual podría ser importante en términos de colonización y supervivencia.

DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES Y GENOTIPOS DE *Echinococcus granulosus* SENSU LATO MEDIANTE HIGH RESOLUTION MELTING (HRM)

María Debiaggi (1,2), Luis Píanciola (3), Eliana Lucero (1), Lorena Lazzarini (1), Melina Mazzeo (3), Agustín Tartaglia (1), Silvia Soriano (1), Nora Pierangeli (1)*

(1) Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue, Cipolletti, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (3) Laboratorio Central, Subsecretaría de Salud de Neuquén, Neuquén, Argentina.

Echinococcus granulosus sensu lato (sl) causa la hidatidosis que afecta al ganado y humanos en más de 100 países. Debido a las diferencias a nivel fenotípico y genómico, este cestodo se considera un complejo integrado por 4 especies y 8 genotipos: *E. granulosus* sensu stricto (ss) (genotipos G1 y G3); *E. equinus* (G4); *E. ortleppi* (G5) y *E. canadensis* (G6-G8 y G10). Las diferencias pueden manifestarse en el ciclo biológico, patogenicidad, antigenicidad, entre otros. El conocimiento de la presencia de las especies/genotipos del parásito en un determinado lugar tiene importantes implicancias en la epidemiología y control de la enfermedad. En Neuquén, una provincia con alta endemicidad, se han descrito los genotipos G1, G3, G6 y G7. El método *gold standard* para la identificación molecular de los genotipos es PCR/secuenciación. Sin embargo, para estudios a gran escala resulta una técnica compleja y costosa. La técnica HRM permite la detección de pequeñas variaciones en la secuencia de ADN y es más simple, rápida y económica que PCR/secuenciación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la técnica de HRM como una alternativa en la diferenciación de especies/genotipos de quistes hidatídicos (QH) en diferentes hospedadores. Se extrajo el ADN de protoescolices y/o membrana germinal de 44 QH obtenidos en humanos y ganado de Neuquén. Se amplificó un fragmento del gen mitocondrial *cox1* (450 pb) por real-time PCR. La amplificación fue seguida por análisis de HRM y los resultados se analizaron con el software Bio-Rad Precision Melt Analysis 1.2. Los resultados se compararon con los obtenidos por PCR/secuenciación del mismo fragmento de ADN en cada muestra. Los genotipos identificados por secuenciación fueron: *E. granulosus* ss G1 y *E. canadensis* G6 y G7. El análisis por HRM mostró dos curvas de melting, correspondientes a *E. granulosus* ss y *E. canadensis*. Las medias de la temperatura de melting (°C) fueron para G1: 79,18 y para G6/G7: 77,96. La técnica HRM permitió diferenciar estas especies pero no pudo distinguir G6 de G7. Los resultados obtenidos muestran que el análisis por HRM es una técnica rápida y confiable para distinguir las especies de *E. granulosus* sl evaluadas. El protocolo utilizado no permitió la diferenciación entre los genotipos G6 y G7, por lo que deberán realizarse ajustes que permitan diferenciarlos. La implementación de HRM en el programa de control de Neuquén podría facilitar y economizar recursos en los estudios de epidemiología molecular.

CONTROL DE BOLSAS DE NUTRICIÓN PARENTERAL CON CALDO DE CULTIVO AUTOMATIZADO

Fabiana del Valle Sánchez (1)*, José Assa (2), Adriana Elías (1), Julio Faedda (2), Horacio Prette, Benedicto Kolton (1)

(1) Cátedra de Bioestadística, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. (2) Hospital del Niño Jesús, San Miguel de Tucumán, Argentina.

La Nutrición Parenteral (NP) es de elección en aquellos casos de pacientes críticos que debido al cuadro clínico no admiten alimentación por vía oral, presentándose esta situación tanto en adultos como niños. La NP debe ser segura y efectiva ya que es incorporada al paciente por vía central o periférica. Realizar los controles de calidad pertinentes al producto, son de vital importancia en todo laboratorio que se dedica a este rubro. El control de las (NP) con caldo de cultivo automatizado, asegura la temprana detección del crecimiento bacteriano (CB) aeróbico y anaeróbico facultativo, debido a la modificación del PH que provoca cambio en la coloración de la base del tubo que contiene el medio, lo que ocasiona una alarma visual y sonora en un plazo corto de tiempo, permitiendo el retiro del mercado de la NP con inconveniente antes de ser colocada al paciente, de esta manera se evita una complicación mayor. Ésta Técnica permite una detección temprana de crecimiento bacteriano, comparado con la Técnica Tradicional de Filtración por Membrana que requiere más tiempo para su detección. Analizar Concordancia Estadística de CB entre el Método Automatizado y el de Filtración por Membrana. Diseño metodológico Experimental, Analítico de Casos y Controles. Se seleccionaron 32 bolsas control con NP. De 16 bolsas se sacaron 3 alícuotas de 4 ml y se inyectaron en frascos de Hemocultivos llevándose a incubar. El volumen restante se filtró por membrana incubándose 7 días a 28°C y luego 7 días a 37 °C. Las 16 bolsas restantes fueron inoculadas con 1 ml de suspensión de 4 cepas patrones (4 bolsas c/u). De cada bolsa se sacaron tres alícuotas de 4 ml que fueron inyectadas en frascos de hemocultivo. El volumen restante se filtró por membrana con igual procedimiento anterior. Se midieron los tiempos de positividad. Estudio Estadístico: Análisis de Concordancia 5%. 1) En el 28% de las bolsas con caldo de cultivo automatizado el resultado fue positivo a un tiempo promedio de $8,4 \pm 1,2$ h - 2) En el 100% de las bolsas con filtración por membrana el resultado fue negativo al tiempo promedio del cultivo automatizado. 3) Concordancia del 72% de casos negativos. El método automatizado detecta más tempranamente el CB, comparado con el de Filtración por Membrana que requiere más de 24 hs para los casos positivos. Lo que permite al laboratorio descartar tempranamente las NP detectadas positivas.

VERIFICACIÓN DEL PROCESO DE DESINFECCIÓN DE LAS DISTINTAS ÁREAS DE UN LABORATORIO ESPECIALIZADO EN LA ELABORACIÓN DE NUTRICIÓN PARENTERAL EXTEMPORÁNEA

Fabiana del Valle Sánchez (1)*, José Assa (2), Adriana Elías (1), Julio Faedda (2), Horacio Prette, Benedicto Kolton (1)

(1) Cátedra de Bioestadística, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. (2) Hospital del Niño Jesús, San Miguel de Tucumán, Argentina.

El proceso de desinfección de las diferentes áreas de trabajo en un laboratorio especializado en elaborar Nutrición Parenteral Extemporánea (NPE), debe realizarse de acuerdo a normas previstas en procedimientos estandarizados y uso de desinfectantes apropiados para evitar la contaminación del producto final que tiene características de calidad inyectable ya que los mismos son colocados por vía central o periférica en pacientes en estado crítico que no pueden alimentarse por vía oral. Los desinfectantes empleados no solo deben proporcionar excelentes condiciones sanitarias e inhibición del crecimiento microbiano, sino también ser seguros en el manipuleo por parte del personal capacitado y no ocasionar corrosión en el material de uso común en este tipo de laboratorio. Las buenas prácticas del control interno de calidad, brindan oportunidades de mejoras continuas que aseguran la calidad del producto elaborado. 1- Comparar el crecimiento microbiano en muestras obtenidas por placas de contacto de diferentes áreas del laboratorio antes y después de la limpieza. 2- Evaluar la efectividad de los desinfectantes usados frente al crecimiento microbiano. Estudio Exploratorio Descriptivo de corte Transversal. Las muestras fueron tomadas con placas de contacto en diferentes áreas (mesadas, pisos, campanas y paredes) del laboratorio antes y después de llevar a cabo la técnica de limpieza según normas vigentes, con la utilización de 3 desinfectantes (D1, D2 y D3) apropiados para este tipo de laboratorio y con rotación mensual, durante el período 2014 – 2017. Las propiedades requeridas para los desinfectantes, debían incluir una actividad antimicrobiana amplia, rápida y estable. Estudio Estadístico: Análisis de la Varianza de Kruskal & Wallis con tres factores (mes, año y desinfectante) y Postest de Conover. Se formaron 17 grupos al considerar mes, año y desinfectante. Se llevaron a cabo 421 placas de contacto, siendo un promedio por grupo de 25 placas. Las medianas obtenidas indicaron < 1 UFC. No se observaron diferencias significativas en UFC. Kruskal & Wallis ($H=4,83$; $p =0,06$). Se verificó la correcta desinfección de las distintas áreas de trabajo del laboratorio. Los tres desinfectantes empleados mostraron elevada efectividad antimicrobiana, lo que permite utilizarlos llevando a cabo el circuito preestablecido por normativas.

**ESTUDIOS GENÓMICOS DE LEVADURAS PATAGÓNICAS DE INTERÉS INDUSTRIAL:
Saccharomyces eubayanus & *Saccharomyces uvarum***

Juan I. Eizaguirre (1)*, M. Eugenia Rodríguez (2), Christian Lopes (2), Jose Paulo Sampaio (3),
Chris T. Hittinger (4), Diego Libkind (1)

(1) Laboratorio de Microbiología Aplicada, Biotecnología y Bioinformática de levaduras (MABBlev). Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales (IPATEC). CONICET - Universidad Nacional del Comahue. Bariloche, Argentina. (2) Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos, Biotecnología y Energías Alternativas (PROBIEN, CONICET-UNCo), Neuquén, ARGENTINA. (3) UCIBIO-REQUIMTE, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal. (4) Laboratory of Genetics, Genome Center of Wisconsin, DOE Great Lakes Bioenergy Research Center, Wisconsin Energy Institute, J. F. Crow Institute for the Study of Evolution, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53706, USA.

Las levaduras del género *Saccharomyces* tienen una larga asociación con la humanidad como agentes fermentadores y son necesarias para la producción de numerosas bebidas y alimentos. Sin embargo, a pesar de la indiscutida importancia para la investigación básica y aplicada de este género, algunos aspectos de su biología permanecen aún desconocidos. La ecología de *Saccharomyces* es uno de ellos, siendo muy poco lo que se sabe sobre su evolución, distribución biogeográfica y la estructura de sus poblaciones en ambientes naturales. En los bosques Andino Patagónicos abundan las especies criotolerantes *S. eubayanus* y *S. uvarum*, haciendo de este lugar un hábitat interesante para tratar de comprender alguna de estas características. Los estudios de secuenciación y genómica comparativa de aislamientos salvajes y de cepas industriales están permitiendo determinar no solo aspectos ecológicos sino también el origen de cepas domesticadas por la acción del hombre. En el presente trabajo, se mapearon y analizaron un total de 145 genomas de *S. eubayanus*, a fin de estudiar la estructura poblacional de la especie en la Patagonia Andina. Para ello, se obtuvieron alrededor de 1 Mpb de SNPs lo que permitió generar un árbol filogenómico, donde se pudieron distinguir las 5 sub-poblaciones de *S. eubayanus* descritas hasta el momento. A su vez, se encontraron cepas provenientes de Chile y de bosques marginales en la Patagonia Argentina formando clados independientes, lo que sugiere la existencia de nuevas sub-poblaciones para la especie. Dado que esta especie es parental del híbrido Lager, se estudiaron un total de 33 genes relevantes para la industria cervecera en 42 genomas ensamblados de novo. Para el caso de *S. uvarum*, se trabajó principalmente con cepas provenientes de fermentaciones espontáneas de chicha de manzana y se hizo hincapié en alteraciones genéticas (introgresiones, hibridaciones, etc) responsables de las características fenotípicas en las cepas domesticadas. Mediante un análisis de divergencia, se encontró una cepa con dos grandes introgresiones de *S. eubayanus* en los cromosomas XV y XVI (~100 Kpb) alojando 54 ORFs. Los estudios genómicos en levaduras son cada vez más accesibles y son una herramienta útil y robusta, tanto para el análisis de aspectos ecológicos como para características de importancia industrial.

DETERMINACIÓN DE *Pseudomonas aeruginosa* EN AGUA DE CONSUMO CAPTADA EN ZONAS RURALES DEL PARTIDO DE TANDIL

Gabriela Gerez (1)*, Juliana González (1), Rosario Barranquero (2), Anahí Tabera (1)

(1) Laboratorio de Microbiología de los Alimentos. Departamento de Tecnología y Calidad de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina. (2) CINEA, Facultad de Ciencias Humanas, UNCPBA, Tandil, Argentina.

En las zonas rurales del partido de Tandil el aprovechamiento del recurso hídrico para consumo se efectúa a través del bombeo de agua subterránea mediante pozos de captación. El agua subterránea captada es vulnerable a la contaminación microbiológica, principalmente por la falta de mantenimiento del sistema de distribución de agua y a la cercanía de pozos absorbentes de aguas residuales a los pozos de captación; los cuales no reciben ningún tratamiento. Uno de los microorganismos que se analizan a la hora de evaluar la calidad del agua es *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Esta bacteria se encuentra en heces, suelo, agua y aguas residuales, pudiendo proliferar en ambientes acuáticos y en la superficie de materias orgánicas que se encuentran en contacto con el agua. El espectro de infecciones que puede causar este microorganismo es muy amplio y depende del estado inmunitario del huésped. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de *P. aeruginosa* en 7 muestras de agua de consumo, procedentes de escuelas y domicilios de zonas rurales del partido de Tandil. Las muestras se analizaron a través de métodos internacionales estandarizados; por medio de cultivo de enriquecimiento en caldo Verde de Malaquita. A partir de allí se aislaron colonias presuntivas por agotamiento en Agar Cetrimide. Estas fueron repicadas en distintos medios para el desarrollo de ensayos confirmatorios (BHI -Brain Heart Infusion-, Agar P, Agar F, TSA -Trypteina Soya Agar- y Agar Leche). También fueron realizadas distintas pruebas bioquímicas (oxidasa, reducción de nitratos, utilización de citrato, licuefacción de gelatina y metabolismo de distintos azúcares). Los resultados del presente estudio evidenciaron en las muestras analizadas una alta presencia (42,85%) de este microorganismo patógeno. Es necesario implementar acciones para su control, realizando tratamientos con cloro, evaluaciones del estado de las perforaciones existentes; y en caso que sea necesario el reemplazo por nuevas perforaciones, debido a que *P. aeruginosa* es capaz de sobrevivir y multiplicarse en aguas tratadas.

**EL EFECTO INHIBIDOR *IN VITRO* DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS PRODUCIDOS POR
Weissella confusa CYS2-2 AISLADA DE JENGIBRE ESPIRAL DE AMAZONIA**

Israel Lara (1), Clara Ortega (1), Gabriela N. Tenea (1)*

(1) Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.

Los péptidos antimicrobianos producidos por bacterias ácido lácticas son candidatos satisfactorios para sustituir los conservantes químicos o los antibióticos. En este estudio, los péptidos antimicrobianos producidos por la cepa *Weissella confusa* Cys2-2 de jengibre espiral, una flor nativa de la Amazonía ecuatoriana, se evaluaron por su capacidad de inhibir varios patógenos alimentarios. Los resultados indicaron que Cys2-2 muestra un amplio espectro de inhibición frente bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. De acuerdo con los métodos moleculares los genes putativos que codifican para las bacteriocinas se detectaron en el plásmido, el peso molecular del péptido fue de aproximadamente 10 kDa y la producción máxima se registró en la fase estacionaria temprana. La bacteriocina Cys2-2 disminuyó de manera eficiente la viabilidad de las células patógenas en una vía dependiente de la dosis tanto en fase vegetativa como exponencial. El crecimiento de *E. coli* disminuyó con 2,89 log en 6 horas de incubación, cuando se trató con extracto crudo que contenía bacteriocina Cys2-2, mientras que la bacteriocina precipitada tuvo un efecto marginal (1,45 log de reducción). No obstante, la actividad se restableció al co-tratamiento de la bacteriocina Cys2-2 con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), lo que indica que las bacterias patógenas se sensibilizan frente los péptidos activos *in vitro*. Sin embargo, el nivel de inhibición depende en parte de la cepa del patógeno, su estado fisiológico y el tiempo de incubación.

CELULITIS ABSCEDADA POR *Mycobacterium tuberculosis*: COMUNICACIÓN DE UN CASO

Sabina Lissarrague (1)*, Gaston Delpech (2), Mónica Sparo (1)

(1) Cátedra de Microbiología y Parasitología (CUDEMyP), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, sede Tandil, Tandil, Argentina. (2) Microbiología Clínica, Medicina, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Argentina.

La tuberculosis (TB) constituye un problema global de salud pública. La TB cutánea es una patología poco frecuente (1% de todos los casos); no obstante, su aumento en los últimos años se ha adjudicado a la epidemia del VIH y el incremento de pacientes con inmunosupresión farmacológica. La TB cutánea presenta una gran variedad de formas clínicas, dependiendo de cómo llega el *Mycobacterium tuberculosis* a la piel y del estado inmunológico del individuo. Objetivo: comunicar un caso de celulitis abscedada por *M. tuberculosis* en miembro superior izquierdo en un adulto atendido en el Hospital Ramón Santamarina de Tandil, Provincia de Buenos Aires. Paciente de 76 años de edad, género masculino, con antecedente de artritis reumatoidea y en tratamiento con inmunosupresores. Ingresó al Servicio de Traumatología del Hospital Ramón Santamarina de Tandil el día 14 de Junio 2017. Motivo de consulta: toilette programada de celulitis abscedada en mano izquierda. Se realizó sinovectomía y descompresión del canal del carpo. Se tomaron muestras de tejido palmar para diagnóstico microbiológico y anatomía patológica. Para el diagnóstico microbiológico se transportaron inmediatamente las muestras al Laboratorio de Microbiología. Una porción del tejido se inoculó en medios enriquecidos y selectivos (de acuerdo a procedimientos estándar) para bacterias aerobias y anaerobias y, se realizaron coloraciones para su examen directo (tinciones de Giemsa, Gram y Z-Neelsen). Otra parte de la muestra se envió al Servicio de Micobacterias, A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán, para la búsqueda de *M. tuberculosis* mediante cultivo y análisis de los productos de restricción de amplicones de 439 pb del gen hsp65 amplificados por PCR (PRA); también se investigó la resistencia a rifampicina e isoniacida mediante MAS-PCR (Multiplex AlleleSpecific Polymerase Chain Reaction). En la tinción de Z-Neelsen de la muestra de tejido se observaron bacilos ácido alcohol resistentes (Positivo, +). El Servicio de Micobacterias confirmó la baciloscopía directa mediante el aislamiento de *Complejo M. tuberculosis*; no se detectó resistencia a Isoniacida y Rifampicina. En pacientes inmunosuprimidos son más frecuentes las presentaciones extrapulmonares y más fácil la diseminación a la piel, ya sea hematógena, linfática o directa desde otro foco no cutáneo. Aunque la incidencia de TB cutánea es baja, se debe considerar en pacientes que presentan lesiones cutáneas atípicas que sugieren una infección crónica subyacente.

**PRODUCCIÓN DE QUITINASAS EN AISLAMIENTOS AUTÓCTONOS DE *BACILLUS* SPP
PROVENIENTES DE SUELOS DE LAS CIUDADES DE RESISTENCIA Y CORRIENTES,
ARGENTINA**

Liliana Lösch (1,2), Gioia Marino (3), Luis Merino (1,2)*

(1) Área de Bacteriología- Instituto de Medicina Regional - Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Argentina. (2) Facultad de Medicina - Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Argentina. (3) Hospital Avelino Castelán, Resistencia, Argentina.

El control de agentes patógenos e insectos vectores mediante el empleo de microorganismos con efecto antagonista es una práctica muy difundida y la búsqueda constante de aislamientos autóctonos efectivos para el control biológico es una actividad que actualmente es considerada de gran importancia en todo el mundo. El objetivo de este trabajo fue aislar cepas de *Bacillus* spp. a partir de muestras de suelos de parques y plazas de las ciudades de Resistencia y Corrientes, evaluar su capacidad quitinolítica "in vitro" y detectar los genes codificantes de diferentes familias de quitinasas mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se obtuvieron 20 aislamientos de *Bacillus* que fueron identificadas mediante API 50CH y MALDI-TOF. Su actividad quitinolítica se determinó en un medio mínimo conteniendo quitina coloidal y Posteriormente se realizó la PCR utilizando 4 pares de primers diseñados para detectar la presencia de genes codificantes de 4 familias de quitinasas. Once aislamientos presentaron producción de quitinasa "in vitro" mientras que genes codificantes de la enzima se detectaron en 12. El gen de la endoquitinasa de *B. thuringiensis* estuvo presente en los aislamientos 1I, 1II, 1III, 3II, 4II, 14B, 18B y 22B. El gen de una exoquitinasa de *B. cereus* fue detectado en las cepas 1I, 14B, 18B y 22B. El gen de la familia 18 de quitinasas fue positivo en los aislamientos 2IV y 13B. En las cepas 2IV, 13B, 16B y 17B se detectó el gen codificante de la familia 19 de quitinasas. Puede concluirse que: a) La detección fenotípica de la producción de quitinasas es menos sensible que la detección de los genes codificantes mediante PCR. b) Se logró amplificar fragmentos de diferentes familias de quitinasas en una misma cepa y genes de determinadas familias según la especie estudiada, lo que indica una gran variabilidad de posibilidades según la especie nativa recuperada. c) Para poder detectar todas las familias de quitinasas, es necesaria la utilización de varios pares de primers. d) Los aislamientos de *Bacillus* estudiados poseen genes que codifican para diferentes quitinasas, las que podrían ser estudiadas en trabajos futuros a fin de determinar si todas poseen la misma capacidad enzimática. Los resultados obtenidos son similares a los encontrados en publicaciones previas y sientan las bases para futuros estudios con miras a evaluar la actividad de estas quitinasas como control biológico contra hongos fitopatógenos e insectos vectores.

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE HAMBURGUESAS OBTENIDAS EN PUESTOS AMBULANTES DE LA CIUDAD DE SALTA

María Noel Maidana Kulesza (1)*, María Eugenia Acosta (1,2)

(1) Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. Salta.
Argentina.

En la ciudad de Salta se encuentra en constante expansión la modalidad de venta de los Food Trucks. La falta de control sobre sus condiciones higiénicas y los productos que expenden, conlleva el riesgo de ocasionar serios problemas de salud. Entre los productos de consumo masivo expedido por los mismos se encuentran las hamburguesas de carne vacuna. Cuando las condiciones de manipulación no son adecuadas pueden ser vehículo de infecciones y/o intoxicaciones. *Escherichia coli* enterohemorrágico es considerado el patógeno más importante dentro de las cepas enterovirulentas y es responsable del SUH, siendo el serotipo O157:H7 el predominante en Argentina. El estudio de microorganismos Indicadores proporciona una perspectiva sencilla para estimar factores de seguridad microbiológica. El objetivo del presente trabajo es determinar la calidad bacteriológica de hamburguesas obtenidas de puestos ambulantes de la ciudad de Salta. La muestra corresponde a 20 puestos seleccionados al azar y 40 hamburguesas obtenidas en los mismos. Se estudia microorganismos aerobios mesófilos por el método de recuento de colonias a 30°C mediante la técnica de siembra en profundidad según Norma ISO 4833-1:2013; se identifica coliformes totales mediante el Método del Número Más Probable según Norma ISO 4831, 1991; se determina microorganismos coliformes termotolerantes a 44°C; se aíslan cepas de *E. coli* en agar EMB y se utilizan pruebas IMVIC y TSI; y para la rotipificación de *E. coli* O157:H7 se utiliza un kit de ensayo inmunoabsorbente marcado con oro. Se establece características higiénicas de los puestos de venta. El 25% de los puestos no presenta condiciones adecuadas de higiene. El 65% no se abastece de agua de red. Ninguno posee sanitarios. El total de los manipuladores carece de elementos de higiene. El 55% de las muestras supera el orden de 10^4 UFC/g, excediendo los máximos permitidos por el CAA. El 60% posee más de 100 Coliformes por gramo; 14 muestras presentan Coliformes de origen fecal, de los cuales el 64% se identificaron como *E. coli* y 3 como serovar O157:H7. Los resultados obtenidos muestran una relación directa entre los puestos con mayores carencias higiénicas y la presencia de patógenos en las hamburguesas pudiendo ser fuente causal de enfermedades de origen alimentario.

INOCULACIÓN FOLIAR COMPLEMENTARIA EN CULTIVO DE SOJA

Laura Maneiro (1)*, Fabio Montero(1)

(1) Rizobacter Argentina S.A., Pergamino, Argentina.

La soja presenta una alta acumulación de proteínas y requiere 70 a 80 kg de N por tonelada de semilla, siendo la fijación biológica de N su principal fuente de abastecimiento. La nodulación proveniente de la inoculación con rizobios a la semilla (IRS) puede ser maximizada con la inoculación foliar complementaria (IFC). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la IFC sobre la nodulación en soja bajo condiciones controladas. Se trató semilla de soja con inoculante Rizoliq TOP® y/o fitosanitario Standak Top®. A los 4 días desde el tratamiento, se sembró en macetas con suelo libre de *Bradyrhizobium* spp., en cámara de crecimiento de plantas bajo condiciones controladas. La IFC se aplicó a los 10 o 20 días desde la siembra (dds), con inoculante Rizoliq® o Rizoliq TOP®, ambos en dosis equivalentes a 0,5 o 1 L/ha. El riego se efectuó con agua purificada, manteniendo la Capacidad de Campo del suelo. Se trabajó con un diseño completamente aleatorizado con 12 repeticiones y a los 35 dds se determinó número y masa seca de nódulos por planta en raíz primaria y total. Las comparaciones de medias se efectuaron según la prueba Scott & Knott ($\alpha= 0,05$), utilizando Infostat versión 2017. Los resultados indican que, para ninguna de las variables se hallaron diferencias significativas por efecto de la dosis (0,5 o 1L/ha) o el tipo de inoculante foliar (Rizoliq® o Rizoliq TOP®). Se encontró una respuesta significativa de la nodulación de soja por efecto de la IFC, básicamente a nivel de raíces secundarias, contribuyendo a la nodulación total por planta. En tratamientos sin IRS, la IFC no fue capaz de desencadenar nodulación en la raíz primaria. Este resultado es el esperado bajo la IFC, porque las bacterias se incorporan al suelo en forma dispersa, sin localización en la semilla como ocurre en la IRS. Las respuestas de nodulación a la IFC fueron mayores en los tratamientos con IRS. Adicionalmente, la IFC como única fuente de inoculación fue más efectiva en los tratamientos de semilla con Standak Top® respecto al testigo sin tratar. Asimismo, se observó mayor respuesta a la IFC a los 10 dds con respecto a los 20 dds; este hecho podría ser el resultado del corto tiempo de cultivo llevado a cabo en la cámara de crecimiento, 35 días, posiblemente insuficiente para ver efectos de una pulverización con inoculante sólo 15 días antes -20 dds-. Los resultados sugieren que la IFC podría contribuir a la IRS, incrementando la nodulación de soja.

ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA DE CEPAS DE *Streptococcus uberis* FORMADORAS DE BIOFILM MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Melina V. Moliva* (1), Andrea L. Cristofolini (2), Cecilia I. Merkis (2), Elina B. Reinoso (1)

(1) Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales. U.N.R.C. Río Cuarto. Argentina. (2) Facultad de Agronomía y Veterinaria. U.N.R.C. Río Cuarto. Argentina.

Streptococcus uberis es uno de los principales patógenos ambientales asociados a mastitis bovina. En estudios previos hemos demostrado que cepas de *S. uberis* aisladas de leche, son capaces de producir biofilm. La matriz del biofilm se compone de células microbianas, polisacáridos, agua y otros productos extracelulares, los cuales proporcionan un sitio resguardado y protegido para el crecimiento bacteriano. En el presente trabajo se estudió la estructura de dos cepas de *S. uberis* categorizadas cada una como moderada y fuertemente productoras de biofilm mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Los ensayos se realizaron en diferentes periodos de incubación a 24, 48 y 72 h. Se permitió que el biofilm se formara sobre cubreobjetos de vidrio de 11 mm de diámetro, incluidos en placas de microtitulación de poliestireno de 24 pocillos con medio tripticosa soya. Una vez formado el biofilm, los cubreobjetos se fijaron con formol al 4% y se deshidrataron en diferentes concentraciones de etanol. Luego fueron secados y observados en microscopio electrónico de barrido. En este estudio se pudo determinar las características morfológicas relacionadas al crecimiento bacteriano en forma de biofilm. En las imágenes se observó una mayor cantidad de células en división a las 24 h, presentando forma y tamaño homogéneo, lo cual fue disminuyendo en el tiempo; a las 48 h las células formadoras de biofilm alcanzaron el mayor diámetro y área. Finalmente a las 72 h se observó una disminución en la producción de biofilm. Los resultados contribuyen a un mejor conocimiento de la estructura del biofilm, los cuales podrían servir para el desarrollo futuro de estrategias tendientes a controlar este agente patógeno.

TRANSFORMACIÓN MICROBIANA DE LOS POLIFENOLES DEL ORUJO DE UVA. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Sofía Murúa S. (1)*, Delia Pappano (1), Daniel A. Bustos (1)

(1) Universidad Nacional de San Juan, Instituto de Ciencias Básicas, San Juan, Argentina.

Actualmente la industria vitivinícola genera como residuo el orujo de uva, que contiene un elevado contenido de polifenoles, considerados un gran grupo de antioxidantes naturales. El presente trabajo tiene tres objetivos: evaluar la capacidad antioxidante de seis extractos etanol:agua del orujo de uva, obtenidos en diferentes condiciones de extracción; biotransformar al extracto de mayor capacidad antioxidante mediante *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium crustosum* y *Penicillium spp.*, y probar el desarrollo del biofilm correspondiente a la cepa que más incrementó la capacidad antioxidante para, luego, evaluar la capacidad de biotransformación de la colonia. Para evaluar la capacidad antioxidante se utilizó la técnica del DPPH y para evaluar el contenido de polifenoles totales (PFT) el método de Folin-Ciocalteu. Los ensayos para llevar a cabo la biotransformación preliminar se realizaron por duplicado con cada microorganismo con 30 ml medio de cultivo Czapek, en sala a temperatura controlada (35°C) y expuestos a la luz, tomando muestras cada 48 hs, durante 15 días. Para probar el desarrollo del biofilm de la cepa seleccionada se inoculó la misma en dos tubos de poliestireno en iguales condiciones que la biotransformación preliminar. Para evaluar la formación de biofilm en las paredes de los tubos se procedió a teñir con cristal violeta al 1% v/v durante 24 hs y luego Posterior elución con alcohol/acetona para cuantificar la formación de la biopelícula mediante densidad óptica a 595 nm. El extracto obtenido utilizando como solvente EtOH:H₂O (1:1), a 50 °C y sonicado durante 30 minutos, fué el que mayor capacidad antioxidante y contenido de PFT dió, por lo que se utilizó como sustrato para las biotransformaciones. Luego de biotransformar se observó que el microorganismo *A. terreus* es el que más aumentó la capacidad antioxidante y el contenido de PFT del extracto puro, por lo que se utilizó para evaluar el desarrollo de biofilm. Al evaluar el desarrollo de biofilm las absorbancias fueron de 0,002 y 0,003, lo que demuestra la no existencia de biofilm, por lo que se prueba que el microorganismo seleccionado, aún cuando aumenta la capacidad antioxidante, no forma biopelícula en el material elegido y en las condiciones ensayadas, lo que deja abierta la posibilidad a investigaciones más profundas sobre los posibles materiales de adherencia.

RIESGO SANITARIO POR ACTIVIDADES RECREACIONALES EN DIFERENTES AMBIENTES ACUÁTICOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Lidia Nuñez (1), Carina Tornello (1), Marta Paz (1), Julián Mantovano (1), Celio Chagas (2), Daniel Molina (3), Juan Moretton (1)

(1) Salud Pública e Higiene Ambiental, FFyB, UBA 1, CABA, Argentina. (2) Cátedra de Manejo y Conservación de Suelos. Facultad de Agronomía UBA, CABA, Argentina. (3) Servicio de Hidrografía Naval, CABA, Argentina.

Introducción: El deterioro de la calidad microbiológica de las aguas superficiales en las costas de los ríos, constituye un problema de salud pública. En los sistemas acuáticos naturales, fuentes puntuales como descargas de efluentes cloacales, desembocaduras de arroyos, o difusas como la contaminación rural y la naturaleza de la cuenca influyen en la contaminación y por ende en el riesgo sanitario cuando estas aguas se utilizan como fuentes para usos recreacionales. En los estuarios la densidad de bacterias indicadoras y agentes patógenos entéricos está directamente relacionada con las fuentes puntuales de contaminación, particularmente las descargas de efluentes industriales y domésticos no tratados. En cambio, la ganadería contribuye a la contaminación hídrica a través de la descarga a cursos de agua con sedimentos que aportan excrementos con la consecuente diseminación de patógenos. El objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar el riesgo sanitario en un arroyo localizado en la Pampa ondulada y en la costa de la Franja Sur del río de la Plata para una población expuesta al realizar actividades recreativas. **Metodología;** Se tomaron muestras estacionales en 2 puntos del Arroyo Burgos y en la costa del Río de La Plata (San Isidro, Martínez y Vicente Lopez). En dichas muestras se determinó el número de coliformes totales y *Escherichia coli*, enterococos y de *Salmonella* spp. Se realizó una evaluación cuantitativa de riesgo de infección por *Salmonella* spp. mediante el análisis cuantitativo de riesgo microbiológico para la población expuesta por realizar actividades recreacionales. **Resultados:** En el Arroyo Burgos se observaron valores medios $6,7 \times 10^3/100$ ml, $5,0 \times 10^2/100$ ml y $5,4 \times 10^2/100$ ml de coliformes totales, *E. coli* y enterococos, respectivamente. En la costa del Río de La Plata detectamos $6,0 \times 10^4/100$ ml, $8,3 \times 10^3/ml$ y $1,3 \times 10^3 /100$ ml de coliformes totales, *E. coli* y enterococos, respectivamente. En Vicente Lopez, se observaron los máximos recuentos de *E. coli* y enterococos. En el Arroyo Burgos, se detectó *Salmonella* spp. en todos los muestreos. En la costa del Río de la Plata se detectó *Salmonella* spp. en Vicente Lopez en el 40% y Martínez en un 20 % de los muestreos. El riesgo anual de infección por *Salmonella* resultó ser de $1,4 \times 10^{-3}$ y de $1,0 \times 10^{-3}$ en el río de la Plata y en el Arroyo Burgos respectivamente. **Conclusiones:** A pesar de ser diferentes ecosistemas acuáticos, no se observó diferencias en los valores estimados de riesgo sanitario.

FUNGISTASIS DE SUELOS DEL NOA CONTRA *Macrophomina phaseolina* EN UNA ROTACIÓN SOJA-MAÍZ

Sofía Sarrailhé (1)*, Jimena A. Vogrig (1,2), Marcela S. Montecchia (1,2), Melissa Aldana López Amaya (1), Olga S. Correa (1,2)

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos. Cátedra de Microbiología Agrícola. Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET – Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA). Buenos Aires, Argentina.

La fungistasis del suelo es la capacidad natural de los suelos para inhibir la germinación y el crecimiento de hongos, y puede ser una estrategia aplicada al control de enfermedades fúngicas de los cultivos. Ésta es un componente importante de la capacidad supresora de los suelos y ambas dependen de la comunidad microbiana edáfica. A su vez, el manejo de los cultivos puede impactar diferencialmente sobre las comunidades microbianas, y, en consecuencia, sobre la capacidad supresora potencial del suelo. En este trabajo, evaluamos la capacidad de fungistasis del suelo contra el hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina*, en fincas productoras de soja con un esquema de rotación con maíz cada tres años de soja. Se tomaron muestras de suelos de lotes en distintos momentos de la secuencia de rotación (maíz, primero, segundo y tercer año de soja), en dos fincas de Salta (Las Lajitas), y se evaluó su actividad antifúngica *in vitro* utilizando el método de difusión agar-celofán. Se incubaron 20 g de suelo al 40% de su capacidad de campo en placas de Petri, a 25°C y en oscuridad, durante 6 días para activar a la comunidad microbiana presente. Luego, se colocó un disco de papel celofán sobre el suelo y sobre éste un disco de agar papa glucosado al 20% y se incubaron durante 24 h para permitir la difusión de los metabolitos microbianos al medio de cultivo. Posteriormente, se inoculó *M. phaseolina* en el centro de estas placas y se incubaron por 48 h a 25°C y 12 h de luz, manteniendo las condiciones de humedad. Se midió el crecimiento del micelio del hongo y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento. Los tratamientos controles fueron placas sin suelo. Los resultados se analizaron por ANOVA y las medias se compararon por Tuckey. El mayor porcentaje de inhibición se observó en los suelos cultivados con el primer año de soja luego de la rotación con maíz. Las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) entre los suelos con el primer año de soja (53,4%) respecto del tercero (37,4%) y el maíz (30,8%). Estos resultados demuestran que la rotación con maíz aumenta la capacidad de fungistasis del suelo contra *M. phaseolina*, aunque este efecto no se mantiene luego del segundo año de soja. Este trabajo destaca el beneficio de la rotación con maíz en el cultivo de soja para el control potencial de patógenos del suelo y el manejo más sustentable de la producción.

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS OXIDATIVAS EN CULTIVOS LÍQUIDOS UTILIZANDO DISEÑOS ESTADÍSTICOS

Silvana Soledad Sawostjanik Afanasiuk (1), Gabriela Alejandra Acosta (1)*, Mario Carlos Nazareno Saparrat (2), Pedro Dario Zapata (1)

(1) Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones (InBioMis), FCEQyN-UNaM, Posadas, Argentina. (2) Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), CONICET-UNLP, La Plata, Argentina.

La producción de enzimas oxidativas utilizando hongos filamentosos ha sido ampliamente estudiada con el fin de obtener cocteles enzimáticos que puedan ser utilizados sobre sustratos complejos, como por ejemplo la lignina de la madera, aprovechando la acción sinérgica de las enzimas. Sin embargo, para algunas aplicaciones se requieren sobrenadantes enriquecidos con alguna enzima en particular, por lo cual, se recurre a la modificación de las condiciones de cultivo o adición de compuestos, con el fin de incrementar la secreción de determinada enzima. El objetivo de este trabajo fue optimizar la producción enzimática de lacasa en medio de cultivo líquido, de un hongo del género *Trametes* sp. (aislamiento LBM018), nativo de la provincia de Misiones, utilizando diseños estadísticos. Se realizó un diseño factorial de 2^{6-2} niveles con 16 corridas experimentales y 3 puntos centrales, para determinar la influencia de 6 compuestos sobre la producción enzimática. Se realizaron cultivos en medio líquido conteniendo: extracto de malta 12,7 g/L y extracto soluble de maíz 0,5 %, adicionándose CuSO_4 , ácido ferúlico, etanol, extracto de levadura, cascarilla de mandarina y bagazo de mandioca, en las concentraciones establecidas por el diseño. Una vez determinados los factores que fueron significativos, se procedió a la optimización. Para esto se realizó un diseño central compuesto ortogonal nivel 4 con 32 corridas experimentales y 3 puntos centrales. Todos los diseños y análisis se llevaron a cabo con el programa estadístico Stat Graphic Centurion. El aumento de la producción enzimática fue estimado por la medición de la actividad de la enzima lacasa, la cual se determinó espectrofotométricamente utilizando como sustrato 2,6-dimetoxifenol. Se observó que el CuSO_4 , ácido ferúlico, extracto de levadura y bagazo de mandioca tuvieron efectos significativos en la actividad enzimática lacasa $p < 0,05$. Se logró incrementar la actividad lacasa unas 700 veces por medio de la optimización, siendo los valores óptimos de cada factor los siguientes: ácido ferúlico 0,325 mM, CuSO_4 0,886 mM, extracto de levadura 0,23%, bagazo de mandioca 6,25 g/L. Se concluye que utilizando diseños estadísticos es posible optimizar la producción enzimática, realizando un reducido número de ensayos.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PROTECTORA DE *Bacillus subtilis* SUBSP. *Subtilis* (ALBA 01) FRENTE A *Setophoma terrestris* EN EL CULTIVO DE CEBOLLA

P. Sayago (1)*, F. Juncosa (1), A. Albarracín Orio (1), F. Luna (2), D. Ducasse (1,2,3)

(1) UE "IRNASUS" UCC-CONICET, Córdoba- Argentina. (2) IFRGV-CIAP-INTA, Córdoba-Argentina.

(3) IPAVE-CIAP-INTA, Córdoba-Argentina.

Setophoma terrestris (St), es el agente causal de "la raíz rosada de la cebolla" (*Allium cepa* L.), una de enfermedades más severas que afectan a esta aliácea. *S. terrestris* es un hongo de suelos, conocido por infectar raíces de cebollas y de otros miembros del género *Allium*, aunque también puede infectar otros cultivos de hortalizas, como tomate, berenjena, pimienta y zanahoria. Su manejo es complejo y si bien existen algunos cultivares de cebollas resistentes, los mismos no presentan buen comportamiento frente a los aislamientos locales del patógeno. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de la cepa PGPR de *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (ALBA 01) como agente de control de *S. terrestris* y además como promotor de crecimiento de plantas de cebolla *in vivo* en condiciones de cultivo de campo. Se utilizó la cepa *B. subtilis* ALBA 01 aislada de rizósfera de cebolla en lotes infectados con *S. terrestris* y se caracterizó su capacidad de inhibición del crecimiento del hongo *in vitro*. El aislamiento de *S. terrestris* utilizado fue una cepa nativa de Mendoza: la PH06 de alta patogenicidad. Los tratamientos fueron: plantas control (sin PGPR-sin patógeno), plantas con PGPR, plantas con patógeno, y plantas con PGPR + patógeno. *B. subtilis* ALBA 01 fue inoculado y cultivado en agitación en el medio BHI durante 24 hs y en esa suspensión bacteriana se sumergieron las semillas de cebolla cv. *Val14* por 24hs a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Por otro lado también se sumergieron semillas de cebolla durante 24 hs en el mismo medio sin la cepa PGPR y en las mismas condiciones para ser usadas como plantas "sin PGPR". Luego, ambos lotes de semillas se secaron para ser sembradas a campo, y regadas por inundación como un lote standard de producción. Antes de la siembra se realizó la inoculación de las parcelas correspondientes a los tratamientos con el hongo de suelo. Para ello se multiplicó el inóculo del patógeno *S. terrestris* en granos de trigo estéril durante 28 días a 25°C . A los 40 días post emergencia se evaluó incidencia y severidad de "raíz rosada", fotosíntesis, materia seca y rendimiento. La cepa ALBA 01 mostró capacidad de promoción de crecimiento y de protección contra *S. terrestris* al disminuir la severidad de los daños del patógeno, hallándose diferencias significativas entre los tratamientos.

BACTERIOCINAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS NATIVAS EXHIBEN ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA FRENTE PATÓGENOS EN DIFERENTES MATRICES DE ALIMENTOS

Gabriela N. Tenea (1)*, Alejandro Barrigas(1), Juan Martin Guaña (1), Clara Ortega (1), Pamela Hurtado (1)

(1) Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias e Ambientales, Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.

En Ecuador, el consumo de bebidas fermentadas tradicionales y productos cárnicos es relativamente alto. El clima templado, el almacenamiento y la manipulación inadecuada son ámbitos apropiadas para el crecimiento de microorganismos patógenos y en consecuencia el aumento de enfermedades producidas por alimentos. Por lo tanto, para satisfacer las demandas de los consumidores sobre la calidad de los alimentos, es necesario desarrollar métodos naturales de preservación. Las bacterias ácido lácticas, debido a su estado GRAS (General Reconocidos Seguros) son muy atractivas para ser explotadas en la industria alimentaria y / o farmacéutica. En la presente investigación se evaluó la efectividad de bacteriocinas producidas por varias bacterias ácido lácticas aisladas de frutas silvestres nativas de la selva Amazonica del Ecuador para controlar el crecimiento de bacterias de descomposición en tres matrices de alimentos: jugo de naranja, chicha artesanal y carne cruda. Entre varias cepas seleccionadas, *Lactobacillus plantarum* Cys5-4 (Genbank No KY041686.1) mostró actividad antimicrobiana elevada frente diferentes patógenos de alimentos *in vitro* y *ex vitro*. Una reducción significativa de la viabilidad de *E. coli* (2 log reducción) se registró al añadir el extracto crudo que contenga bacteriocina Cys5-4 en jugo de naranja fresco al día 5 de almacenamiento a temperatura ambiente, mientras que se registró una disminución significativa (4 log) de las células viables de *Salmonella* desde el día 1 y se mantuvo en mismo rango durante el periodo de almacenamiento. De manera similar, en la bebida artesanal chicha se observó una reducción gradual de los dos patógenos. Un nivel significativo de reducción de coliformes totales se observó en la carne cruda hasta el día 9 de almacenamiento con refrigeración. No se detectaron cambios significativos en el pH ni modificaciones visibles del aspecto de la carne, mientras que las muestras tratadas con nitrito cambiaron de color y el pH aumento indicando la degradación del producto. El estudio reveló el alto potencial de la bacteriocina Cys5-4 para suprimir el crecimiento de bacterias patógenas, lo que indica su utilidad en la conservación de los alimentos.

MICROBIOTA SUPERFICIAL DE SALAMINES ARTESANALES A BASE DE CARNE CAPRINA DE SANTIAGO DEL ESTERO

María Noel Tevez Ciappino (1)*, Natalia Chara (1), Nadia Thir Ferreyra (1), María Mercedes Paz (1), Miriam Teresa Nediani (1)*

(1) Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero, Argentina.

Las técnicas de maduración utilizadas para procesar productos cárnicos conducen rápidamente a una colonización de la superficie distintiva por una gran cantidad de hongos y levaduras que desempeñan un papel similar en la producción de salamines. Los objetivos de este trabajo fueron: Elaborar embutidos, tipo *salamin* picado grueso, sin colorante artificial, de acuerdo a las características de un producto artesanal, a escala piloto y aislar e identificar la microbiota superficial. Se emplearon carnes magras caprinas (cortes seleccionados), cerdo y tocino de cerdo, todos procedentes de la provincia de Santiago del Estero. Se utilizaron como formulación básica la seleccionada como la más representativa dentro de la región, la cual se modificó de acuerdo a los diferentes lotes: sales de curado comerciales (nitratos y nitritos), sal de mesa, glucosa y sacarosa, ácido ascórbico. Para embutir se usaron tripas bovina natural, calibre 46 mm. Los lotes se elaboraron usándose dos formulaciones (i) 100 % carne caprina (A) y (ii) 50% carne caprina y 50% carne de cerdo (B), en las estaciones invierno y primavera, por triplicado y sin el uso de cultivos iniciadores. Se maduraron en cámara frigorífica y se controlaron las variables temperatura y humedad durante 20 días hasta la obtención de la microbiota superficial. Se analizaron 32 embutidos en cada estación y en cada formulación. Se encontraron un total de 30 aislamientos de levaduras pertenecientes a 3 géneros; *Debaryomyces* spp. (50%), *Rhodotorula* spp. (33%), y *Saccharomyces* spp. (17%) y 45 aislamientos de hongos filamentosos pertenecientes a cinco géneros; *Penicillium* spp. (44%), *Aspergillus* spp. (22%), *Eurotium* spp. (14%), *Mucor* spp. (11%) y *Scopulariopsis* spp. (9%), en la estación de invierno, mientras que en la estación de primavera se encontraron 10 aislamientos de levaduras pertenecientes a 2 géneros; *Rhodotorula* spp. (70%) y *Saccharomyces* spp. (30%) y 30 aislamientos de hongos filamentosos pertenecientes a cinco géneros; *Penicillium* spp. (40%), *Aspergillus* spp. (27%), *Mucor* spp. (20%) y *Geotrichum* spp. (13%). Los géneros dominantes fueron *Debaryomyces* spp. y *Penicillium* spp. en la estación de invierno mientras que *Rhodotorula* spp. y *Penicillium* spp. en la estación de primavera. No se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en los aislamientos de acuerdo a las formulaciones, mientras que si se observaron para el factor estación, el cual tuvo influencia en la composición de la microbiota.

SPONSORS



Nitragin[®]



Biodynamics



IV CAMAyA

IV CAMAyA

I MicroGen

Día 1

Día 2

Día 3

Registro e inscripciones (IV CAMAyA)

Bienvenida
(Salón Topacio)

Conferencia Plenaria
María Eugenia Farías
(LIMLA-PROIMI-CONICET)
(Salón Topacio)

Coffee Break (Salón Aguamarina)

MR1 · **Microorganismos promotores del crecimiento vegetal**
(Salón Topacio)

MR2 · **La ecología microbiana y su encuentro con la biotecnología ambiental**
(Salón Coral)

Almuerzo

Conferencia Plenaria
Cecilia Demergasso
(Universidad Católica del Norte, Chile)
(Salón Topacio)

MR3 · **Tópicos selectos en bioprospección para una agricultura sustentable**
(Salón Topacio)

MR4 · **Microorganismos de ambientes extremos**
(Salón Coral)

Coffee Break (Salón Aguamarina)

Comunicaciones orales 1
(Salón Topacio)

Comunicaciones orales 2
(Salón Coral)

Sesión de posters
(Salón Aguamarina)

Cocktail de Bienvenida

MR5 · **Interacciones y señalización intra e interespecíficas en comunidades bacterianas**
Actividad conjunta con SAMIGE
(Salón Topacio)

MR6 · **Diversidad y ecología de microorganismos acuáticos**
(Salón Coral)

MR7 · **Fitopatología: del campo al laboratorio, y al campo otra vez**
(Salón Acuario)

Coffee Break (Salón Aguamarina)

Conferencia Plenaria
Diego Libkind Frati
(UNComa, INBIOMA-CONICET)
(Salón Topacio)

Almuerzo

Conferencia Plenaria
Juan Pablo Busalmen
(UNMdP-INTEMA-CONICET)
(Salón Topacio)

MR8 · **El rol de los microorganismos en el tratamiento de residuos**
(Salón Topacio)

MR9 · **Comunidades bacterianas involucradas en los ciclos de P y N: cuando la agricultura deja su marca**
(Salón Coral)

MR10 · **Biocontrol de plagas**
(Salón Acuario)

Coffee Break (Salón Aguamarina)

Comunicaciones orales 3
(Salón Topacio)

Comunicaciones orales 4
(Salón Coral)

Comunicaciones orales 5
(Salón Acuario)

Sesión de posters
(Salón Aguamarina)

MR11 · **Micro-ómicas: aplicación de técnicas high throughput en el estudio global de microorganismos**
(Salón Topacio)

MR12 · **Debate de la REDCAI sobre problemáticas actuales de los bioinsumos microbianos**
(Salón Coral)

Registro e inscripciones (I MicroGen)

MR15 · **Herramientas bioinformáticas aplicadas a la parasitología**
(Salón Acuario)

Miniconferencia 1
Josefina Campos (INEI - ANLIS Malbrán)
(Salón Acuario)

Coffee Break (Salón Aguamarina)

Conferencia Plenaria
Claudio Valverde
(LBMIBS, UNQ-CONICET)
(Salón Topacio)

MR16 · **Resistencia antimicrobiana: un desafío interdisciplinario integrado**
(Salón Acuario)

Miniconferencia 2
María Margarita Rodríguez (UBA-CONICET)
(Salón Acuario)

Almuerzo

Conferencia Plenaria
Videoconferencia patrocinada por la ASM
Lawrence Wackett
(University of Minnesota)
(Salón Topacio)

MR13 · **Cuando la investigación básica se vuelve aplicada: desde el desarrollo hasta la comercialización de un bioinsumo**
(Salón Topacio)

MR14 · **Aplicaciones de la microscopía al estudio de microorganismos**
(Salón Coral)

MR17 · **Vacunología**
(Salón Acuario)

Coffee Break (Salón Aguamarina)

Comunicaciones orales 6
(Salón Topacio)
Comunicaciones orales 7
(Salón Coral)

MR18 · **Actualización en metodologías y aproximaciones al estudio de patógenos virales**
(Salón Acuario)

Miniconferencia 3
Alfonso Soler Bistué (UNSaM-CONICET)
(Salón Acuario)

Sesión de posters + CERVEZA
(Salón Aguamarina)

Ceremonia de clausura