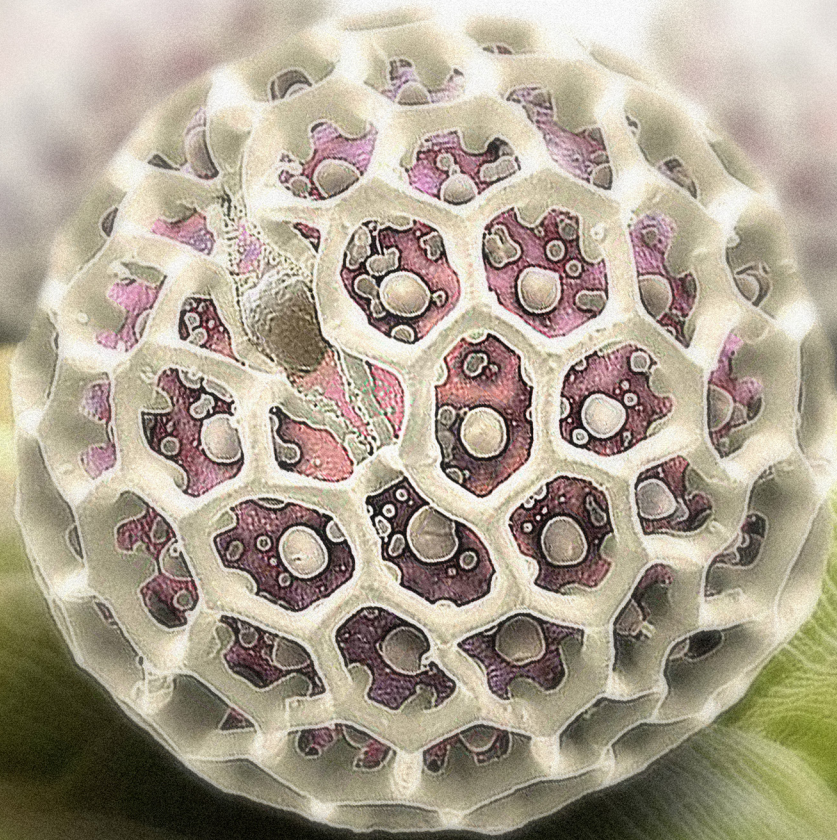


BIENVENIDAS Y BIENVENIDOS AL

**XXXVI**

CONGRESO CHILENO  
DE **MICROBIOLOGÍA**



**2-5 Diciembre 2014**

Hotel Club La Serena - La Serena

[WWW.SOMICH.CL](http://WWW.SOMICH.CL)

# Índice

<b>4</b>	Directorio SOMICH
<b>5</b>	Comité Organizador
<b>7</b>	Conferencias 9
<b>13</b>	SIMPOSIO 1
<b>17</b>	SIMPOSIO 2
<b>21</b>	SIMPOSIO 3
<b>26</b>	SIMPOSIO 4
<b>31</b>	SIMPOSIO 5
<b>36</b>	SIMPOSIO 6
<b>41</b>	SIMPOSIO 7
<b>45</b>	SIMPOSIO 8
<b>51</b>	SIMPOSIO 9
<b>56</b>	SIMPOSIO 10
<b>62</b>	SIMPOSIO 11
<b>67</b>	SIMPOSIO JOVENES MICROBIOLOGOS
<b>72</b>	SIMPOSIO SOCHINF
<b>77</b>	SIMPOSIO SOCHMHA 1
<b>81</b>	SIMPOSIO SOCHMHA 2
<b>85</b>	INCORPORACIONES 1
<b>89</b>	Incorporaciones 2
<b>96</b>	Incorporaciones 3
<b>103</b>	Comunicaciones Orales 1
<b>110</b>	Comunicaciones Orales 2
<b>118</b>	Comunicaciones Orales 3
<b>126</b>	Comunicaciones Libres Paneles 1
<b>189</b>	Comunicaciones Libres Paneles 2
<b>257</b>	Comunicaciones Libres Paneles 3
<b>318</b>	Indexo de Autor

# Directorio SOMICH



**Presidente**  
Dr. Nicolas Giuliani

Departamento de Biología  
Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile.



**Vicepresidente**  
Dr. Claudio Martínez

Departamento de Ciencia y Tecnología  
de Alimentos Centro de Estudios en  
Ciencia y Tecnología de Alimentos  
Universidad de Santiago de Chile.



**Tesorera**  
Dra. Cecilia Toro

Instituto de Ciencias Biomédicas  
Facultad de Medicina Universidad de  
Chile.



**Secretaria**  
Dra. Claudia Saavedra

Escuela de Bioquímica Facultad  
de Ciencias Biológicas Universidad  
Andrés Bello.



Dr. Omar Orellana  
(Presidente 2008-2012)

Programa de Biología Celular y  
Molecular Facultad de Medicina  
Universidad de Chile.



Dr. Francisco P. Chávez

Departamento de Biología  
Facultad de Ciencias  
Universidad de Chile



Dra. Carola Otth Lagunas

Instituto de Microbiología Clínica,  
Facultad de Medicina  
Universidad Austral de Chile.



Dr. Carlos Blondel

Departamento de Bioquímica y  
Biología Molecular.  
Facultad de Ciencias Químicas y  
Farmacéuticas  
Universidad de Chile.



Dr. Francisco Remonsellez

Departamento de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería y Ciencias  
Geológicas  
Universidad Católica del Norte.

# Comité Organizador

**Sra. Bengoa Soledad (SOCHMHA)**

**Dra. Bueno Susan (PUC)**

**Dr. Calderón Iván (UNAB)**

**Dr. Collao Bernardo (UNAB)**

**Sr. Cornejo Jaime (SOCHMHA)**

**Dr. Castillo Luis (U. de La Serena)**

**Dr. Chávez Francisco (UCH)**

**Dr. Ferreira Arturo (UCH)**

**Dr. Gil Fernando (UNAB)**

**Dr. González Gerardo (UDEDEC)**

**Dr. Guilliani Nicolas (UCH)**

**Dra. Levicán Gloria (USACH)**

**Dr. López-Lastra Marcelo (PUC)**

**Dr. Martínez Claudio (USACH)**

**Dr. Orellana Omar (UCH)**

**Dra. Otth Carola (UACH)**

**Dr. Remonsellez Francisco (UCN)**

**Dra. Saavedra Claudia (UNAB)**

**Dr. Santander Javier (U. Mayor)**

**Dr. Seeger Michael (UFSM)**

**Dra. Stoll Alexandra (U. de La Serena)**

**Dra. Toro Cecilia (UCH)**

**Dra. Vásquez Mónica (PUC)**



# Conferencias

## El mundo del RNA y el origen de la vida

Lazcano, A<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad Autónoma de México.

Aunque ignoramos como surgió la vida en la Tierra, las evidencias disponibles sugieren que hace unos 3.5 mil millones de años el planeta ya se encontraba poblado por una microbiota extraordinariamente diversa. Desafortunadamente, la ausencia de rocas sedimentarias de las épocas tempranas de la historia del planeta nos impide reconstruir las condiciones ambientales que existían cuando apareció la vida. Es decir, no conocemos cual es era la composición de la atmósfera terrestre, la temperatura de la superficie de nuestro planeta, o el pH de los mares primitivos. Sin embargo, la presencia de aminoácidos, bases nitrogenadas, compuestos lipídicos y otros monómeros de importancia bioquímica en meteoritos condríticos, junto con los resultados obtenidos en experimentos como el llevado a cabo en 1953 por Stanley L. Miller, apoyan fuertemente la llamada hipótesis heterótrofa de A. I. Oparin, que sugirió desde 1924 que la vida surgió en nuestro planeta como resultado de la evolución de sistemas de compuestos orgánicos de origen abiótico. El descubrimiento accidental de las ribozimas ha validado las hipótesis propuestas de manera independiente desde los años 1960s por Rich, Woese, Crick y Orgel, que sugirieron la existencia de una fase primitiva en donde la replicación de los genomas y la catálisis dependían de RNA. Aunque estamos lejos de entender la manera en que surgieron las primeras moléculas de RNA o de algún polímero equivalente, el llamado mundo del RNA permite entender la ubicuidad de moléculas de RNA y de ribonucleótidos en muchos procesos celulares básicos, e implica que el origen del código genético y el surgimiento de la vida ya no se puedan considerar como sinónimos.



## Las respuestas inmune inatas que controlan la infección del intestino por *Salmonella Typhimurium*

### Innate immune responses controlling *Salmonella Typhimurium* gut infection

Hardt, W<sup>1,10</sup> Institute of Microbiology, Swiss Federal Institute of Technology in Zurich.

*Salmonella typhimurium* (S.Tm) is a common cause of infectious diarrhea. A mouse model allows dissecting the roles of the pathogen's virulence factors, the microbiota and the host's innate defenses in the disease. I will discuss recent findings demonstrating the key importance of innate defense in protecting the host during the initial phase of the infection.

The intestinal epithelium is an essential barrier separating the sterile organs of the body from dense populations of gut lumen microorganisms. Some enteropathogens, such as *S. Tm*, can invade into and breach this barrier. We used the mouse model of *Salmonella* diarrhea to analyze if epithelium-intrinsic defenses might help protecting the host. Microscopy revealed an initial phase where *S. Tm* invades and grows within the absorptive epithelium. This niche is restricted by NAIP1-6, NLRC4 or caspase-1/-11-specific expulsion of infected epithelial cells, reducing gut tissue loads by as much as ~100-fold. Bone-marrow chimeras and epithelium-specific ablation suggest that epithelium-intrinsic inflammasomes drive this response. We speculate that expulsion of infected enterocytes may represent a generic defense against infections of the intestinal epithelium.

## Empaquetamiento artificial de los componentes del divisoma.

### Wrapping divisome elements in artificial containers.

Vicente, M<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Centro Nacional de Biotecnología-CSIC.

Partial assemblies of the *Escherichia coli* divisome have been reconstructed *in vitro*, from simple nanodiscs to complex giant vesicles (GUVs). Nanodiscs allowed to measure the affinity between FtsZ polymers or oligomers and ZipA when tethered to a lipid bilayer (Hernández-Rocamora *et al.*, 2012, *J. Biol. Chem.***287**: 30097-30104). In *E. coli*, FtsZ and ZipA, together with FtsA form the proto-ring, the structure initiating divisome assembly. FtsZ polymerization can be induced by addition of GTP to permeable GUVs in which ZipA has been attached. This causes the shrinkage and invagination of the vesicle resembling the membrane invagination observed, together with the loss of permeability barrier, in cells producing high amounts of ZipA (Cabré *et al.*, 2013, *J. Biol. Chem.***288**: 26625-26634).

Maxicells were used to probe properties and interactions of the divisome components. They are nucleoid-free cells in which protein synthesis is possible (Sancar *et al.*, 1979, *J. Bacteriol.***137**: 692-693). Although their nucleoid is degraded after the induction of non-repairable damage caused by UV-light irradiation, plasmids, due to their smaller size, remain intact and their genes are expressed.

Maxicells retain proteins and functions of living cells. For example, fluorescently tagged MinD and MinE, two components of one of the septum placement mechanisms in *E. coli*, retain their pole to pole oscillation which is therefore independent of the nucleoid. Other proteins as SlmA, one component of the alternative septum placement mechanism mediated by nucleoid occlusion (NO), as well as the FtsZ protein itself, are degraded (Pazos, *et al.*, 2014, *PLoS ONE***9**(3): e91984. doi:10.1371/journal.pone.0091984).

In maxicells ZipA helps to stabilize FtsZ. Stabilization requires the FZB domain of ZipA to interact with the C-terminal central hub domain of FtsZ. FtsA\*, which partly suppresses the requirement of ZipA for septation, is not efficient at stabilizing FtsZ (Pazos *et al.*, 2013, *J. Biol. Chem.***288**: 3219-3226). Even in the total absence of NO, the placement of FtsZ can be directed by the Min oscillations. Membrane anchoring is needed to organize FtsZ into rings and in addition the C-terminal hub of FtsZ is required for their correct placement. ZapA and ZapB are non-essential proteins that interact with each other and associate with FtsZ to promote and stabilize the FtsZ-ring. ZapB promotes the assembly of FtsZ into protofilaments and bundles. In maxicells ZapB localized to the division site independently from the nucleoid. A direct interaction of ZapB with FtsZ was found. Once the FtsZ ring disassembles after septation ZapA and ZapB may migrate from midcell to the pole taking FtsZ with them (Pazos *et al.*, 2013, *Environmental Microbiol.* **15**: 3282-3291).

## Host directed therapies for targeting pathogenic eukaryotes.

**Satoskar, A<sup>1</sup>**,<sup>1</sup>Pathology and Microbiology, The Ohio State University.

Infections caused by viruses, bacteria, parasites and fungi are responsible for high morbidity and mortality worldwide. Over the last four decades, discovery of several new antimicrobial drugs has led to significant improvements in the clinical management of infectious diseases. However, due to the rapid emergence of drug resistance, a high prevalence of co-infections and increased incidence of infections caused by emerging pathogens, there is a constant need for novel drugs and therapeutic strategies for treating infectious diseases. This is especially important for obligate intracellular bacteria (e.g., *Mycobacteria*) and parasites (e.g., *Leishmania*), which reside within host cells and cause chronic disease. Recently, a new paradigm has emerged for treating infections caused by intracellular pathogens, which focuses on identifying and targeting host pathways that are critical for invasion, survival and multiplication of pathogens. This presentation will be an overview of novel host targeted therapies that are under development for the treatment of infections caused by pathogenic eukaryotes such as *Leishmania*.

## Megaterremotos en Chile

Vargas, G<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad de Chile.

En los últimos diez años una serie de terremotos gigantes con características excepcionales en el mundo han cambiado dramáticamente nuestra visión del origen e impacto de estos procesos. El margen de subducción chileno se caracteriza por una alta tasa y variedad de terremotos, incluidos los terremotos gigantes, y entre ellos el mayor registrado, el megaterremoto Mw9.5 de Valdivia en 1960. Resultados de estudios recientes y en curso muestran que estos megaterremotos ( $M_w > 8.8$ ) se caracterizan por ciclos sísmicos de gran escala temporal y espacial, y eventualmente comportamientos no-lineales, antes no considerados a partir del registro instrumental e histórico, usualmente demasiado corto. Por otro lado, el potencial de grandes terremotos en estructuras corticales activas relacionadas con márgenes tectónicos de primer orden puede ser muchas veces menospreciado erróneamente, en parte debido a las bajas tasas de deslizamiento en esas fallas, complejidades en la ruptura y/o fallas cubiertas. Ejemplos recientes en el mundo muestran que es urgente estudiar el comportamiento de estas estructuras a escala geológica y evaluar así su potencial para producir grandes terremotos ( $M_w > 7$ ), que en magnitud pueden ser menos importantes que los generados en el contacto de subducción, pero cuyo impacto puede ser localmente mucho mayor. Un ejemplo de este tipo de estructuras activas y con un gran potencial sismogénico es la Falla San Ramón, ubicada en el borde oriente de Santiago, capital de Chile, recientemente puesta en evidencia y que ha generado grandes terremotos en torno a 17-19 ka y 8 ka.

# SIMPOSIO 1

**Ecología microbiana en la era Omics**

## Simposio 1

### **Microbial environmental preferences and correlations with gene content.**

**Tamames, J<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup> Centro Nacional de Biotecnología-CSIC, Madrid.

In this study, we present a comprehensive analysis of the relationships between microbial taxa and different environments, in an attempt to describe the existence of environmental preferences and thus to determine the most significant characteristics modulating microbial distribution. This is complemented with phylogenetic and metabolic information for individual taxa to determine the relationships between metabolic capacities, phylogenetic descent and environmental preferences. The aim of the study is determining to what extent metabolic content is determined by the environment, and if the possible influence is noticeable at genomic level. The results indicate a strong influence of the phylogeny in the genomic content, although the influence of the environment is notable for some particular metabolic classes. This allowed to discover sets of genes that can act as environmental markers and predictors of the possible habitats for new species.

## The ocean as a source of genes: the case of proteorhodopsin

**Pedrós-Alió, C<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup> Instituto de Ciencias del Mar.

The oceans contain  $10^{29}$  cells of bacteria and archaea and each one of these has at least 1000 genes. The potential for interesting and useful genes is, therefore, fabulous. However, the number of different taxa present in the oceans is still unknown and, moreover, recent metagenomic analysis of 4000 m deep samples collected during the Mapaspina2010 circumnavigation, showed that 80% of the sequences identified as open reading frames have no match in current data bases. Current massive parallel sequencing techniques are beginning to provide information on the identity and functional capabilities of this treasure trove of microbial life. Using the 16S rRNA coding gene we have found that the number of different bacterial taxa in one marine water sample ranges between 2000 and 6000 taxa. But the total number of taxa in the ocean remains to be estimated.

The search for interesting functional genes will be illustrated with the case of Proteorhodopsin (PR), an example of initial discovery driven research, followed by systematic search for pure cultures of bacteria with the gene and physiological studies in the laboratory. PR acts as a light driven proton pump. In this way it may provide energy to bacteria in the surface ocean when concentrations of suitable organic matter are low. Some bacteria can only use this extra energy to survive longer under starvation conditions. Flavobacteria, however, grow faster and more efficiently in the light than in the dark. Recent experiments show the intricate regulation of central metabolic pathways necessary for this positive growth effect of light. Finally, recent surveys in the deep (4000 m) and Polar winter water suggest that PR is present and sometimes active even under such dark conditions.

## Simposio 1

**Metagenómica funcional aplicada al estudio de mecanismos moleculares de adaptación a ambientes extremos.**

**Gonzalez-Pastor, J<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup> Centro de Astrobiología, Madrid.

Los microorganismos que habitan ambientes extremos han desarrollado numerosas estrategias para resistir y adaptarse a las condiciones fisicoquímicas extremas, como por ejemplo altas y bajas temperaturas, acidez, alcalinidad, salinidad, desecación, radiación, metales y/o metaloides tóxicos y elevadas presiones, entre otras. En el Centro de Astrobiología estamos interesados en el estudio de estas estrategias para comprender como la vida se puede adaptar a ambientes extremos, e inferir si la vida pudiera existir en ambientes similares en otros cuerpos planetarios. Los mecanismos de resistencia a condiciones extremas se han estudiado tradicionalmente en microorganismos cultivables. No obstante, sabemos que un porcentaje muy elevado de los microorganismos no se pueden cultivar, por ello, nuestro equipo de investigación se ha centrado en el estudio de estos mecanismos de resistencia empleando técnicas independientes de cultivo, concretamente metagenómica funcional. Para ello, hemos construido bibliotecas metagenómicas a partir de muestras de microorganismos de diversos ambientes con condiciones extremas: acidez y enriquecimiento en metales tóxicos (Río Tinto, España), hipersalinidad (salinas costeras y rizosfera de plantas halófitas en España y Chile, lagunas hipersalinas del altiplano, Argentina), bajas temperaturas (rizosfera de plantas vasculares de la Antártida) y altas temperaturas (aguas hidrotermales, Islandia). La exposición de algunas de estas bibliotecas a elevada salinidad, metales tóxicos (níquel y arsénico), acidez y radiación ha permitido seleccionar genes implicados en nuevas estrategias de resistencia a estas condiciones y que se discutirán en esta presentación.



# SIMPOSIO 2

**Nuevos biocatalizadores para la biomedicina y la biotecnología**

## Simposio 2

## Enzymatic dioxygenations and glucosylations enable the diversification of existing and the generation of novel bioactive compounds

**Hofer, B<sup>1</sup>,**<sup>1</sup> Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung.

Hydroxylations and glycosylations are important tailoring reactions, used by nature for the diversification of natural product scaffolds, in order to furnish molecules for a multitude of biological functions. We constructed recombinant biotransformation systems, based on genes from isolated bacteria as well as from metagenomic DNA, to carry out such reactions. Glucanucrases, that use sucrose as an inexpensive carbohydrate donor, were applied to glucosylate flavonoid and related structures. Aryl-hydroxylating dioxygenases, that use dioxygen as oxidizing agent, were applied, alone or in conjunction with an appropriate dehydrogenase, to introduce hydroxy groups into biphenyl analogs as well as flavonoid and related structures. These studies yielded a number of novel derivatives of the input molecules. They also revealed a couple of unexpected reactions, enzymatic as well as spontaneous. The dioxygenation of aromatic compounds also results in a second, versatile functionalization of such ring systems, the introduction of a cyclic conjugated diene substructure. We used this feature for an "escape from flatland" strategy for the generation of potentially bioactive compounds by chemically converting such molecules into compounds possessing a permanently three-dimensional core structure. These were subjected to bioactivity screens by two high content methods, cellular impedance monitoring and high-throughput automated imaging of multi-labeled cells. This identified two novel bioactive molecules, one inhibiting tubulin polymerization, the other proteasome activity.

## Síntesis enzimática de prebióticos derivados de lactosa.

### Enzymatic synthesis of lactose-derived prebiotics.

Illanes, A<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad Católica de Valparaíso.

Los galacto-oligosacáridos (GOS), son oligosacáridos no digeribles (OND) derivados de lactosa, reconocidos como prebióticos. Están compuestos de un número variable de unidades de galactosa y una unidad de glucosa terminal, estando su efecto prebiótico primordialmente asociado a los tri y tetrasacáridos. Los GOS pueden ser producidos por transgalactosilación empleando  $\beta$ -galactosidasa, una enzima usada tradicionalmente en la industria alimentaria en la hidrólisis de lactosa. En la síntesis de GOS, las condiciones de reacción deben ser tales que su potencial hidrolítico se vea limitado lo que implica reducir la actividad de agua mediante el uso de muy altas concentraciones de sustrato, planteando aquellos interesantes desafíos tecnológicos. El uso de lactosa proveniente del suero de leche como materia prima hace la tecnología atractiva por cuanto se trata de un subproducto abundante y de escaso valor intrínseco, lo que genera un amplio margen de rentabilidad al proceso.

El producto de la síntesis enzimática de GOS contiene proporciones significativas de monosacáridos (glucosa y galactosa) y lactosa residual por cuanto la conversión de la reacción no supera el 40%. Un producto con bajo contenido de monosacáridos y disacáridos es altamente apreciado en la industria alimentaria y farmacéutica al permitir su uso en alimentos hipocalóricos y de bajo contenido de lactosa para consumo de diabéticos e intolerantes y en alimentos especiales para infantes y senescentes. Ello pone énfasis en las operaciones de post-reacción (*downstream*) para la obtención de productos refinados con alto contenido de ONDs. Se presentará el panorama técnico-económico de la producción de GOS mediante síntesis a partir de lactosa, enmarcado en el campo de los alimentos saludables, revisando el estado del arte de las tecnologías de producción haciendo especial énfasis en los aspectos de ingeniería de proceso y en el trabajo realizado por el grupo de biocatálisis de la Escuela de Ingeniería Bioquímica.

## Microbial enzymes for the biosynthesis of bioplastics and Au nanoparticles

Seeger, M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Química Universidad Técnica Federico Santa María.

The synthesis of nanomaterials is of increasing interest. Advanced nanomaterials include metallic nanoparticles (NPs) and the bioplastics polyhydroxyalkanoates (PHAs). In our laboratory the production of these materials using microbial synthesis has been studied. PHAs have a wide range of applications from industrial plastic materials to bionanomedicine. These biopolymers are accumulated by diverse microorganisms as carbon storage. In this report, the synthesis of PHAs and Au nanoparticles by microbial enzymes was studied. Bioinformatic analyses of the genome from the bacterium *Burkholderia xenovorans* LB400 revealed *pha* genes encoding enzymes for the synthesis of PHAs. PHA synthase (PhaC) is the key enzyme for PHA biosynthesis. The expression of the *pha* genes in selective media was analysed by RT-PCR. PHA granules in LB400 cells were observed by electronic microscopy. The Pha enzymes from strain LB400 synthesized PHA homopolymers or co-polymers using different carbon sources and culture conditions. Strain LB400 grown on diverse sugars produced polyhydroxybutyrate. Future studies will include the scale up of the PHA production.

Diverse fungi and bacteria are able to synthesise metallic NPs. In this report, the synthesis of Au NPs by the bacterium *Cupriavidus metallidurans* CH34 was studied. We observed that CH34 cells were able to reduce Au salts into stable dispersions of Au NPs. These biogenic NPs were stable in aqueous solution. In contrast, *E. coli* was unable to synthesize a stable dispersion of Au NPs. Bacterial reductases are probably involved in the reduction of gold salts into Au NPs. Biogenic Au NPs were functionalized by adding chemical ligands for the transport of bioactive compounds such as antibiotics and antioxidant molecules. PHAs and biogenic Au NPs and their potential applications in biotechnology and biomedicine will be discussed.

Acknowledgements: Conicyt (VU,FMS), Mecesup FMS0710 and CD FMS1204 PhD fellowships (VU,FMS), FONDECYT (1110992,1070507), USM (131342, 131109) and CN&SB grants.

## SIMPOSIO 3

***Trypanosoma cruzi*: Aspectos moleculares de su interacción con el hospedero**

## Simposio 3

**Vía de escisión de bases en la reparación del DNA de *Trypanosoma cruzi*: AP endonucleasas participan en la sobrevida del parásito en condiciones de stress oxidativo.**

Sepúlveda, Sofía<sup>1</sup>, Valenzuela, Lucía<sup>1</sup>, Ponce, Iván<sup>1</sup>, Kemmerling, Ulrike<sup>1</sup>, Galanti, Norbel<sup>1</sup>, **Cabrera, G<sup>2</sup>**, <sup>1</sup>ICBM, Medicina, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.

*Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, posee tres formas celulares: epimastigote presente en los vectores triatominos; tripomastigote, que se encuentra tanto en el vector triatomino como en hospederos mamíferos y amastigote, presente en hospederos mamíferos. El parásito sobrevive al daño provocado por ROS/RNS en ambos hospederos. Proponemos que *T. cruzi* es capaz de sobrevivir a agentes oxidantes, entre otros mecanismos de detoxificación, debido a la reparación de su DNA mediante la activación la vía de reparación del DNA por escisión de bases (vía BER). Se estudió la localización, expresión y funcionalidad de dos endonucleasas apurínicas/apirimidínicas (AP) de *T. cruzi* (TcAP1 y TcAP2) que participan en esta vía. Estas enzimas se encuentran presentes y activas en las tres formas del parásito. TcAP1 y TcAP2 se localizan en el núcleo de epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes y su expresión es constitutiva. Ambas endonucleasas AP son inhibidas por la droga metoxiamina (inhibidor de la vía BER) y por un dominante negativo de la endonucleasa APE1 de humano. La sobreexpresión de TcAP1 incrementa la viabilidad de epimastigotes expuestos de forma aguda y sostenida a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y NOO<sup>•</sup>. Por otra parte, el efecto citotóxico de ROS/RNS es significativamente mayor en parásitos incubados de manera simultánea con metoxiamina, la cual incrementa la fragmentación del DNA nuclear. Nuestros resultados confirman que la vía BER se relaciona con la resistencia de *T. cruzi* al daño oxidativo del DNA, participando activamente las endonucleasas AP.

Fondecyt 1130113

## Daño y reparación del DNA: determinación de la participación de FLAP endonucleasa y DNA Glicosilasa Nth1 en la sobrevivencia de *Trypanosoma cruzi*.

Ponce, Iván<sup>1</sup>, Ormeño, Fernando<sup>1</sup>, Barrientos, Camila<sup>1</sup>, Sepúlveda, Sofía<sup>1</sup>, Valenzuela, Lucía<sup>1</sup>, Kemmerling, U<sup>1</sup>, Cabrera, Gonzalo<sup>1</sup>, **Galanti, Norbel<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>ICBM, Medicina, Universidad De Chile.

En *T. cruzi* se ha probado la presencia de la vía de reparación del DNA por escisión de bases (BER). En otros eucariontes, este mecanismo ocurre por dos vías: una corta, que resulta en la reparación del DNA por eliminación y reemplazo de un nucleótido oxidado, y otra larga, que consiste en el reemplazo de dos o más nucleótidos. Ambas vías se inician con el reconocimiento y eliminación de la base oxidada por una DNA glicosilasa. NTH1 es una glicosilasa bifuncional que reconoce y elimina derivados oxidados de pirimidinas y luego cataliza la ruptura de la hebra del DNA por una actividad DNA liasa. Por otra parte, la vía larga de reparación del DNA requiere la presencia de una enzima, la flap endonucleasa (FEN1), que reconoce y elimina sustratos de DNA de doble hebra, que presenten un flap 5' no alineado el cual es generado tanto durante la replicación del DNA o durante su reparación mediante la vía larga del mecanismo BER. Secuencias de ambas enzimas se encuentran presentes en el genoma de *T. cruzi*. Estas secuencias se clonaron, se insertaron en vectores de expresión y éstos se transfectaron en epimastigotes de *T. cruzi*. Se demostró que ambas enzimas (TcNTH1 y TcFEN1) se expresan en el parásito, con localización nuclear. Utilizando sustratos específicos, se demostró que las enzimas presentan la actividad esperada, con algunas particularidades para la TcNTH1. Se concluye que estas dos enzimas, DNA glicosilasa y Flap-endonucleasa, se encuentran presentes y activas en un organismo ancestral como *T. cruzi*, probablemente jugando un rol importante en la mantención de la integridad del genoma parasitario.

FONDECYT 1130113

## Interacción con Distintos Compartimentos Tisulares Durante la Infección Congénita de *Trypanosoma cruzi*.

### *Trypanosoma cruzi* interacts with different tissue compartments during congenital infection

Castillo, Christian<sup>1</sup>., Duaso, Juan<sup>1</sup>., Liempi, Ana<sup>1</sup>., Droguett, Daniel<sup>1,2</sup>., Carrillo, Ileana<sup>1</sup>., Figueroa, Priscilla<sup>1</sup>., Cabrera, Gonzalo<sup>1</sup>., Galanti, Norbel<sup>1</sup>., Maya, Juan Diego<sup>1</sup>., **Kemmerling, Ulrike<sup>1</sup>**., <sup>1</sup>ICBM, Medicina, Universidad De Chile.<sup>2</sup>Estomatología, Cs de la Salud, Universidad De Talca.

Diverse pathogens, including *T. cruzi*, are able to cross the placental barrier and infect both the placenta and fetus. The placental barrier is formed by the trophoblast tissue, that comprises a continuous multinucleated, non-replicating cell layer, the syncytiotrophoblast (STB), a replicating layer of cytotrophoblasts (CTB) that fuses with the STB, a basal lamina and an underlying villous stroma (VS) or connective tissue, that includes vascular endothelium. Therefore the trophoblast is the first tissue of the placental barrier to be in contact with the parasite in the maternal blood. In *ex vivo* infected human chorionic villi explants (HPCVE) as well as in placenta from women with chronic Chagas disease, the parasite induces detachment and disorganization of the trophoblast as well as selective destruction of basal laminae and collagen I in the VS. Endogenous proteases such as MMP-2 and MMP-9 (matrix metalloproteases) increase their expression and activity during this process. On the other hand, the global congenital infection rate is estimated to be less than 5%, therefore local placental antiparasitic mechanisms might exist. The trophoblast, is a renewing epithelia that forms part of the innate immune system. The turnover of the trophoblast implies a precise orchestration of various cellular processes including CTB cell proliferation, differentiation (meaning syncytial fusion by incorporating CTB cells into a non-replicative STB) and cell death. We have previously shown that *ex vivo* infection with a low concentration of parasites induces apoptosis in the trophoblast. In order to study cellular proliferation in that tissue DNA synthesis, mitotic index and proliferation markers were determined in *T. cruzi* infected and non-infected HPCVE and BeWo cells (a trophoblastic cell line). The effect of parasite infection on tissue differentiation was analyzed by assaying  $\beta$ -human chorionic gonadotropin ( $\beta$ -hCG) and syncytin, both major biochemical markers of trophoblast differentiation. Additionally, differentiation in BeWo cells by the two-color fusion assay and by desmoplakin re-distribution was also analyzed. Our results clearly show that *T. cruzi* induces epithelial turnover of the trophoblast, most likely as part of a local anti-parasitic response in the placenta.

FONDECYT Projects N°1120230 (UK), N° 1130189 (JM), N°1130113 (NG)



## Interacción calreticulina de *Trypanosoma cruzi* / endotelioscitos: Un preámbulo necesario para sus acciones antiangiogénicas y antitumorales

**Ferreira, L<sup>1</sup>**, Rosas, Carlos<sup>2</sup>, Peña, Jaime<sup>2</sup>, González, Andrea<sup>2</sup>, Valck, Carolina<sup>2</sup>, Abello, Paula<sup>2</sup>, <sup>1</sup>ICBM, Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Inmunología, Medicina, Universidad de Chile.

*Trypanosoma cruzi* calreticulín (TcCRT) es una 45-kDa ER-residente chaperona, gene-clonada, secuenciada, y expresada en nuestro laboratorio. Hemos propuesto que, porque TcCRT transloca desde el ER al exterior y tiene afinidad por dominios colágenos, se une a C1 y inhibe el sistema del complemento (C), un brazo defensivo inmune central, y mejora la infectividad. Por otro lado, al interactuar con células endoteliales (ECs), TcCRT es un potente inhibidor de la angiogénesis. Así, TcCRT inhibe la migración y proliferación de ECs arteriales y venosas, quimiotaxis y morfogénesis capilar en cuatro especies distintas (*H. sapiens sapiens*, *R. rattus*, *M. musculus*, *G. gallus*). En estos ensayos, TcCRT muestra un efecto antiangiogénico y antitumoral mayor, a concentraciones iguales, que el CRT humano (HuCRT). Aquí proponemos que el TcCRT externalizado se une a C1q y que este componente del complemento puentea TcCRT con receptores de superficie (más probablemente cC1qR, ahora conocido como CRT), en ECs, promoviendo así su infección, inhibición de la angiogénesis y, por lo tanto, un retraso en el crecimiento tumoral. TcCRT también puede unirse directamente a ECs a través de los dominios colágenos presentes en los receptores de clase A de los receptores de escoria (SREC-A). Como se esperaba, la interacción TcCRT / EC se favorece por la fase fluida de C1q y se inhibe por los fragmentos de anticuerpo anti-TcCRT  $F(ab)'_2$  y por el fucoídano purificado, un ligando específico para SREC-A. De acuerdo con estos resultados, el crecimiento de un adenocarcinoma mamario en ratones infectados con *T. cruzi* trypomastigotes se retrasa, un resultado totalmente reproducido con TcCRT recombinante. Además, el efecto anti-tumoral de la infección con *T. cruzi* es revertido por los fragmentos de anticuerpo anti-TcCRT  $F(ab)'_2$ , involucrando así causalmente esta molécula en el efecto anti-neoplásico de la infección parasitaria.

Financiado por FONDECYT 11399, ECOS-CONICYT, PIA ACT 112

# SIMPOSIO 4

## Molecular biology of complex retroviruses

## The role of the cellular RNA helicase DDX3 in the initiation of HIV-1 translation

Soto-Rifo, Ricardo<sup>1</sup>, Rubilar, Paulina<sup>2</sup>, Ohlmann, Theophile **OHLMANN**<sup>1</sup>,<sup>1</sup>CIRI, INSERM U1111 ENS de Lyon.<sup>2</sup>CIRI, INSERM U1111 ENS Lyon.

Translation initiation takes place on the HIV-1 genomic RNA (gRNA) by a dual mechanism that utilizes either IRES elements or the 5' cap-dependent ribosomal scanning. In the latter case, the TAR RNA motif present at the 5' end of the HIV-1 transcripts is a potent inhibitor of translation. Therefore, in order to overcome this structural constraint, we show that the HIV-1 genomic RNA can recruit the cellular DEAD-box RNA helicase DDX3 to assist ribosomal binding and translation. As such, DDX3 clamps to TAR to remodel the 5' terminal end of the genomic RNA in an ATP-dependent manner in order to promote the assembly of a pre-translation initiation complex. These complexes are visualized as large cytoplasmic foci in the cytoplasm of HIV-1 expressing cells and contain the translation initiation factors eIF4G and PABP that are necessary to promote ribosome recruitment. Our results show a novel molecular mechanism by which HIV-1 exploits a host factor to overcome the structural constraints imposed by its 5'-UTR.

Work supported by ANRS

## Control post-transcripcional en VIH Post-transcriptional control of HIV gene expression

**Soto-Rifo**<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.

Human Immunodeficiency virus (HIV) gene expression is highly complex and tightly regulated. Viral transcription depends on the host RNAPII and involves the synthesis of different transcripts that are classified depending on their splicing status as fully spliced, partially spliced and full-length unspliced. As a classical cellular mRNA, viral transcripts that are fully spliced follow the canonical mRNA metabolism pathway including the splicing-dependent recruitment of multisubunit complexes such as the TREX complex and the exon-junction complex, which are responsible of coupling NXF1-dependent nuclear export with translation. In sharp contrast, gene expression from partially spliced and the unspliced viral transcript requires the use of an alternative nuclear export pathway in order to avoid quality control mechanisms that normally retain and degrade misprocessed, intron-containing, mRNAs within the cell nucleus. As such, the viral protein Rev binds exclusively to this class of viral transcripts and drives their nuclear export through the non-canonical CRM1-dependent pathway. Our data demonstrate that the viral protein Rev plays a critical role in coupling nuclear export and translation of the HIV-1 full-length unspliced mRNA. Analyses of the molecular mechanism at play reveal that Rev promotes the recruitment of the nuclear cap-binding complex (CBC) to this viral transcript leading to an enhanced nuclear export and translation.

Financiado por Fondecyt 11121339

## The 5'untranslated region of the human T-cell lymphotropic virus type 1 mRNA enables cap-independent translation initiation.

Olivares, Eduardo<sup>2</sup>, Landry, Dori M<sup>1</sup>, Cáceres, C. Joaquín<sup>2</sup>, Pino, Karla<sup>2</sup>, Thompson, Sunnie R. <sup>1</sup>, **Lopez-Lastra, Marcelo<sup>2</sup>**,  
<sup>1</sup>Department of Microbiology University of Alabama at Birmingham.<sup>2</sup>Laboratorio de Virología Molecular, Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile.

Translation initiation of the vast majority of eukaryotic mRNAs occurs by a cap-dependent mechanism. This mechanism involves the recognition of the 5'cap structure (m<sup>7</sup>GpppN) by eukaryotic translation initiation factors (eIFs), recruitment of the 40S ribosomal subunit, and ribosome scanning of the 5' untranslated region (5'UTR) in a 5' to 3' direction until the initiation codon is recognized. An alternative mechanism of initiation exists, in which the 40S ribosomal subunit is directly recruited to an internal site within the 5'UTR in a cap-independent fashion. It is known that the mRNA of some complex retroviruses including the human and simian immunodeficiency viruses, HIV and SIV, can initiate translation using a canonical cap-dependent mechanism or through an internal ribosome entry site (IRES). In this study we show that the 5'untranslated region of the human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) full-length mRNA harbors an IRES. Cap-independent translational activity was evaluated and demonstrated using dual luciferase bicistronic mRNAs in rabbit reticulocyte lysate, in mammalian cell culture, and in *Xenopus laevis* oocytes. Characterization of the HTLV-1 IRES shows that its activity is dependent on the ribosomal protein S25 (RPS25) and that its function is highly sensitive to the drug edeine. Together, these findings suggest that the 5'UTR of the HTLV-1 full length mRNA enables internal recruitment of the eukaryotic translation initiation complex. However, the recognition of the initiation codon requires ribosome scanning. These results suggest that after internal recruitment by the HTLV-1 IRES a scanning step takes place for the 40S ribosomal subunit to be positioned at the translation initiation codon. FONDECYT No 1130270 and Proyecto P09/016-F, ICM.

## Direct binding to the ribosome, a common viral strategy to divert the cellular translation machinery.

Deforges, Jules <sup>1</sup>, Ulryck, Nathalie <sup>1</sup>, Chamond, Nathalie <sup>1,2</sup>, Ameer, Melissa <sup>1</sup>, Locker, Nicolas <sup>3</sup>, Sargueil, Bruno <sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratoire de Cristallographie et RMN biologiques, UMR 8015 CNRS Université Paris Descartes, Paris France. <sup>2</sup>Laboratoire de Cristallographie et RMN biologiques ? UMR 8015 CNRS Université Paris Descartes ? Paris France. <sup>3</sup>Faculty of Health and Medical Sciences, School of Biosciences and Medicine University of Surrey.

Translation initiation is the process by which an mRNA recruits the translation machinery and positions the initiation triplet in the peptidyl site (P site) of the ribosome before translation starts. This highly regulated step is therefore responsible for at least part of the efficiency of translation, and of the accuracy of choice of the starting codon. In prokaryotes, this is achieved through mRNA-16S rRNA base pairing. For eukaryotes assembly of the translation machinery is a complex process that requires at least 11 proteins to recruit and correctly position the ribosome. A key step of this process is the interaction of the initiation complex with the extremities of the mRNA. Namely, eIF4E anchors the complex on the 5' cap structure, while the poly-A binding protein that binds the 3' tail. Alternative mechanisms allow the translation of viral mRNA which are often neither capped nor poly adenylated. In a phenomenon known as Internal entry of the ribosome, the viral RNA interacts with one or several component of the translation machinery to position the ribosome directly on the initiation codon. We recently identified structures that directly interact with the 40S subunit of the ribosome in several different viruses including HIV and KSHV (Kaposi Sarcoma-associated Herpes Virus). Comparing those examples with those described in literature I will discuss the generality of such property in viruses and evaluate the possibility of eukaryotic mRNA to recruit the ribosome through base pairing.

# SIMPOSIO 5

**Fitopatógenos – su biocontrol y vías de señalización**

## Simposio 5

### Ecología de fitopatógenos y la eficiencia en su control biológico

**Olalde, V<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> CINVESTAV Unidad Irapuato.

El aislamiento de microorganismos para el control biológico de organismos fitopatógenos se ha vuelto una práctica común. Sin embargo, en la gran mayoría de los casos se realizan pruebas de enfrentamiento contra uno o dos cepas del patógeno. Y con estos resultados en muchos de las ocasiones se generan un producto biotecnológico. En este sentido, la presente plática pretende mostrar que muchos otros factores hay que tomar en cuenta para que el control biológico con estos microorganismos y que el control tienda a ser más efectivo. Entre esas consideraciones está la biodiversidad de cepas del patógeno, su virulencia como su comportamiento a diferentes factores abióticos como temperaturas, pH, tiempo de vida de las formas de resistencia, ciclo de vida, etc. Así mismo, es indispensable conocer las características del agente biocontrolador, su capacidad de crecimiento en diferentes temperaturas y pHs. Su capacidad para sobrevivir a diferentes condiciones ambientales, salinidad del suelo, temperatura, humedad, pHs, variedades de plantas etc. Todo ese conocimiento permitirá realizar de manera más efectiva el uso de microorganismos para el control biológico de organismos fitopatógenos.



## Vías de señalización para la defensa en plantas es inducida por moléculas de percepción de quórum

Hernández-Reyes, C<sup>1</sup>,<sup>1</sup> Justus-Liebig-Universität Giessen.

La protección en plantas en contra de fitopatógenos es de suma importancia para la agricultura y ciencias del medio ambiente. La activación de sistemas de defensa, así como su reforzamiento, es necesario para la elaboración de nuevos productos para el biocontrol de plantas de cultivo. La distribución sistemática y el modo de acción de estos agentes de protección es un paso esencial para asegurar el rendimiento de los cultivos. Aquí se describirá el modo de acción y la alteración fisiológica de las plantas después del tratamiento con moléculas derivadas de bacterias. N-acil-homoserina-lactonas (AHLs por sus siglas en inglés) son moléculas derivadas de bacterias Gram negativo y son utilizadas para la comunicación y control de la comunidad bacteriana (percepción de quórum). Además, estas moléculas pueden tener un efecto positivo en las plantas dependiendo de la longitud de la cadena de Carbono; AHLs cortos promueven el crecimiento de las plantas mientras que AHLs largos pueden primar (efecto "priming") las plantas para un sistema de defensa más eficiente y rápido ante diversos patógenos. La resistencia inducida por AHLs (AIR en inglés) es basado en una respuesta sistemática de la planta de manera dependiente a la vía de señalización de ácido salicílico/oxolipinas, donde el modo de acción es el inducción de señales de defensa en células de guarda y el reforzamiento de la pared celular. El efecto es reconocido por la reprogramación de alrededor de 300 genes a nivel de transcripción, activación de MAP quinasas y factores de transcripción de defensa, incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y compuestos fenólicos, así como el aumento de aposiciones en la pared celular. AIR es un modelo de defensa para el primado de plantas y abre puertas para nuevas estrategias para la protección de plantas y su biocontrol.

**Biocontrol de fitopatógenos fúngicos por *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens*.**

Jofre, E<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad Nacional de Río Cuarto.

Sclerotinia stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and soybean late season diseases, including septoria brown spot, frogeye leaf spot and leaf blight, cause important yield losses. The biological control of these diseases, based on the inoculation of bacterial agents, is considered a friendly environmental alternative to diminish the indiscriminate use of chemical fungicides. This work was conducted to identify the antifungal compounds produced by two previously isolated *Bacillus* sp. strains: ARP23 and MEP218. Both strains were subjected to further analysis to determine their taxonomic position and to identify the compounds responsible for their antifungal activity as well as to evaluate the efficiency of these strains to control sclerotinia stem rot in soybean and soybean late season diseases, under greenhouse and field conditions, respectively. Both strains, renamed as *Bacillus amyloliquefaciens* ARP23 and MEP218, were able to produce antifungal compounds belonging to the cyclic lipopeptide family. Mass spectra showed the presence of surfactin C<sub>15</sub>, fengycins A (C<sub>16</sub>-C<sub>17</sub>) and B (C<sub>16</sub>) isoforms in supernatants from strain ARP23 cultures, whereas the major lipopeptide produced by strain MEP218 was iturin A C<sub>15</sub>. Foliar application of *B. amyloliquefaciens* on soybean plants prior to *S. sclerotiorum* infection resulted in significant protection against sclerotinia stem rot compared to non-inoculated plants or plants inoculated with a non-lipopeptide producing *B. subtilis* strain. In order to evaluate the behavior of these bacterial strains under field conditions an inoculant based on *B. amyloliquefaciens* was formulated, and its effectiveness against soybean late season diseases was evaluated in field trials during 2008-2009, 2010-2011, and 2013-2014. Reduction in symptoms severity, delayed defoliation, and increased soybean yield were observed in plants treated with *B. amyloliquefaciens* compared to non-treated plants or plants treated with chemical fungicides Amistar Xtra® and Opera.

## Simposio 5

**Evaluación de cepas nativas de *Bacillus* respecto de los mecanismos involucrados en el biocontrol sobre *Botrytis cinerea* en tomate**

Salvatierra, R<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas CEAZA.

A partir de un screening de aproximadamente 1200 aislados bacterianos de distintas zonas agrícolas de la Región de Coquimbo, obtenidos con un protocolo para aislamiento de *Bacillus* de suelo, se seleccionaron 6 cepas por su capacidad antagónica contra hongos fitopatógenos. Estas cepas fueron identificadas como *Bacillus* por observación morfológica y análisis molecular 16S rDNA. Los 6 aislados seleccionados amplificaron diferencialmente para genes de moléculas antibióticas: sufractina, fengicina, bacilomicina, iturina y  $\beta$ -glucanasa; y mostraron efecto directo sobre *B. cinerea*, a partir de sustancias secretadas al medio y la producción de metabolitos volátiles, se observó malformaciones en hifas de *B. cinerea* cuando el hongo se enfrentó con las cepas bacterianas. Utilizando 2 cepas, se realizó un ensayo de biocontrol en plantas de tomate para dilucidar si las bacterias además del efecto directo sobre *B. cinerea* inducen resistencia sistémica (ISR) y/o promueven el crecimiento. Se establecieron 3 tratamientos: las cepas de *Bacillus* aplicadas vía foliar (2 ml;  $6 \times 10^5$  UFC/mL), vía raíz (10 ml;  $6 \times 10^5$  UFC/mL) y vía foliar/raíz simultáneamente. 24 h después de la aplicación de las bacterias se asperjó *B. cinerea* (1 mL/planta;  $1 \times 10^6$  conidias/mL), se usó un testigo absoluto y un testigo inoculado con *B. cinerea* utilizando 25 plantas/tratamiento, además se aplicaron las bacterias en plantas sin aspersión de *B. cinerea*. Las 2 cepas redujeron sobre un 60% la severidad e incidencia de *B. cinerea* lo que se correlacionó positivamente ( $r > 0,5$ ) con la producción de biomasa. Menor incidencia y severidad se obtuvo con aplicación vía raíz respecto a foliar, demostrando ISR. Se verificó promoción del crecimiento aprox. 20% mayor producción de biomasa respecto a los testigos. Se obtuvieron los mejores resultados con la aplicación raíz/foliar dado que se aprovecha el efecto directo y la ISR, los resultados demuestran que cepas nativas de *Bacillus* son efectivos agentes biocontrol de *B. cinerea* en tomate.

# SIMPOSIO 6

## **Novel Advances on Respiratory Virus: Pathogenesis and Profilaxis**

## The good, the bad and the ugly consequences of CD8 T cell memory to RSV

Varga, S<sup>1</sup>,<sup>1</sup> The University of Iowa.

CD8 T cells play a critical role in anti-viral immune responses and mediate viral clearance following a respiratory syncytial virus (RSV) infection. Here we questioned if memory CD8 T cells alone could provide protective immunity against RSV in the absence of CD4 T cell memory and antibodies. High magnitude CD8 T cell memory responses were generated by immunizing naïve mice with dendritic cells pulsed with an RSV-derived peptide followed by a boost with a recombinant *Listeria monocytogenes* engineered to express the same RSV-derived epitope. Memory CD8 T cells significantly reduced viral titers following RSV challenge at the cost of increased immunopathology. RSV-specific memory CD8 T cell responses were associated with significantly increased airway dysfunction, weight loss, and mortality as compared to mock-immunized controls. High magnitude CD8 T cell memory responses led to the induction of a pro-inflammatory cytokine storm in the serum following RSV challenge. Depletion of the inflammatory cytokine TNF- $\alpha$  in prime-boosted mice led to a significant amelioration of weight loss and survival of all subjects. Furthermore, the severe immunopathology and mortality was observed only in prime-boosted mice upon RSV challenge and not following infection with a recombinant influenza virus strain that expresses the same RSV-derived epitope. Our results demonstrate that memory CD8 T cells can mediate protection against RSV infection, but induce the development of significant immunopathology.

## Interference with immunological and neurological synapses as a virulence mechanism of human Respiratory Syncytial Virus.

**Kalergis, A<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Human Respiratory Syncytial Virus (hRSV) is the leading cause of bronchiolitis and pneumonia in young children worldwide. The recurrent hRSV outbreaks and reinfections are the cause of significant public health burden and associate with an inefficient viral immunity, even after disease resolution. Furthermore, hRSV can also cause severe symptoms, such as dyspnea and chest wall retractions. Recently, neurological symptoms have also been associated with hRSV-respiratory infection and include seizures, central apnea, lethargy, feeding or swallowing difficulties, abnormalities in muscle tone, strabismus, abnormalities in the CSF and encephalopathy. Although several mouse- and human cell-based studies have shown that hRSV infection prevents naïve T cell activation by antigen-presenting cells, the mechanism underlying such inhibition remains unknown. We have shown that the hRSV nucleoprotein (N) could be at least partially responsible of inhibiting T cell activation during infection by this virus. Early after infection, the N protein is expressed on the surface of epithelial and dendritic cells, after interacting with trans-Golgi and lysosomal compartments. Further, experiments on supported lipid bilayers loaded with peptide-MHC complexes, showed that surface-anchored N protein prevented immunological synapse assembly by naïve CD4+ T cells. Synapse assembly inhibition was in part due to reduced TCR signaling and pMHC clustering at the T cell-bilayer interface, suggesting that protein N interferes with pMHC-TCR interactions. Moreover, N protein co-localized with the TCR independently of pMHC, consistent with a possible interaction with TCR complex components. Based on these data, we conclude that hRSV N protein expression at the cell surface of infected cells inhibits T cell activation. These data suggest that inhibition of synapse assembly can be a major virulence factor that contributes to impairing acquired immunity and enhances susceptibility to reinfection by hRSV.

## Respiratory Syncytial Virus Vaccines For Children: Are We there Yet?

**Piedra, P<sup>1</sup>,**<sup>1</sup> Baylor College of Medicine.

**Introduction.** Respiratory Syncytial Virus (RSV) is the major pathogen of infants and young children worldwide causing significant morbidity and at times mortality. Currently, we do not have an approved RSV vaccine for the prevention of RSV-related morbidity. However, there are over 40 RSV vaccine candidates in preclinical and clinical development. Major groups being considered for vaccination are 1) the pregnant women to protect the infants, 2) infants, 3) young children and 4) elderly adults. Major epidemiologic gaps in knowledge include the burden of RSV disease in pregnant women, identifying the major spreaders of RSV during the epidemic, and determining the morbidity with recurrent RSV infection in children older than 5 years old and adults less than 50 years old. This presentation we limits its discussion to children less than 5 years of age. **Objectives.** To present data on the burden of RSV disease in children less than 5 years of age, to provide an in-vitro and in vivo correlate of protection against severe RSV disease, to review the experience with the formalin-inactivated RSV lot 100X vaccine studies of the 1960s, to discuss lessons learned from the past and present RSV vaccine programs, and to propose a possible progression with RSV candidate vaccines into phase II and phase III safety and efficacy trials. **Conclusion.** Prevention of RSV is a global unmet need of the 21st century. Infants, children and elderly adults experience the major burden of RSV morbidity and mortality. Vaccines, in general, are the most cost effective method for the control and prevention of major infectious diseases. There is a Global need for a safe and effective RSV vaccine that can reduce the burden of RSV disease in high-risk groups which include infants, children and elderly adults.

## New strategies based on attenuated *Mycobacterium* to promote protective immunity against the human Metapneumovirus

Bueno, S<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Pontificia Universidad Católica de Chile.

The human metapneumovirus (hMPV) is one of the leading causes of childhood hospitalization and a major health burden worldwide. Unfortunately, due to an inefficient immunological memory, hMPV infection provides limited immune protection. The inadequate immune response causes severe lung inflammation leading to airway obstruction with excessive immune cell recruitment. It is likely that an effective clearance of hMPV require a balanced Th1 type immune response, involving the participation of activated, IFN- $\gamma$  secreting, T cells. A recognized inducer of Th1 immunity is *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG), which has been used for decades to protect newborns from tuberculosis. Here, we show that the re-infection worsens the viral illness in Balb/c mice, questioning the safety of vaccines based on attenuated virus. We also observed a Th1 pattern of cytokines in animals through a normal infection course. The immunization with the recombinant BCG strain expressing the Phosphoprotein (P) from hMPV induces a protective Th1 immunity. We show that immunized mice were protected from illness, evaluated as weight loss, inflammatory cells recruitment in airway and lung histopathology. Also, BCG-P immunization reduced the viral replication in lungs. The recombinant vaccine induced the activation of hMPV-specific T cells producing IFN- $\gamma$  and IL-2, which protected from hMPV infection when transferred in to *naïve* mice. These data strongly support the notion that recombinant BCG induces protective Th1 immunity and could be considered as a prototype for an efficient vaccine against hMPV.



# SIMPOSIO 7

Regulación de la expresión génica en *Salmonella*

**RNA pequeños: sensores y efectores de la respuesta bacteriana al cambio ambiental.****Small RNAs: sensors and effectors of the bacterial response to environmental changes.**

**Figueroa-Bossi, Nara**<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centre de Génétique Moléculaire CNRS CNRS, Gif sur Yvette, Franci.

In less than 20 years, small non-coding RNAs have emerged as the most ubiquitous regulatory molecules in living organisms, from Archea and bacteria to plants and animals. Their implication in transformative biological processes, including development and disease is well documented, and research aimed at better understanding the mechanisms of RNA-mediated regulation is very active. Progress in bacterial genomic analyses has allowed the characterization of the small regulatory RNA (sRNA) repertoires of several bacterial species thus opening up new avenues of research, as novel regulatory networks involving sRNAs are being uncovered.

A key role of bacterial small regulatory RNAs is their implication in adaptation of bacterial cells to environmental changes and stress. The so-called "trans-encoded" sRNAs repress or activate the expression of target genes by a mechanism that involves imperfect base-pairing between the sRNA and target messenger RNAs (mRNA). In Gram-negative bacteria, this action is intimately connected to the function of chaperone protein Hfq. This RNA-binding protein, in the form of a hexameric ring structure, contributes to the stability of the sRNA molecules and provides a physical platform for the sRNA-target mRNA interaction. A relevant feature of the mechanism is that one sRNA can control multiple targets and by doing so, the sRNA places itself at nodal positions in regulatory networks. Through a combined approach of mutant analysis and biochemistry, our laboratory has discovered and dissected several novel regulatory mechanisms involving sRNAs in *Salmonella enterica* that can either activate or inhibit their respective targets. The consequences of their regulatory action impacts several cellular processes such as sugar import, aminoacid transport, iron homeostasis, mutagenesis and the envelope stress response. These examples will be presented and the general implications of our results discussed.

## El factor de terminación Rho y su papel en silenciamiento génico.

### Recruitment of Rho factor by post-transcriptional regulators

Bossi, L<sup>1,1</sup> CNRS, Université Paris-Sud.

Rho factor is a hexameric helicase that promotes transcription termination in bacteria. Rho anchors to specific RNA sequences called *rut* (rho utilization) sites in the nascent RNA and uses its ATP-fueled translocase activity to catch up with the transcription elongation complex and force it to dissociate from the DNA template. Besides contributing to the punctuation of transcription units in bacterial genomes, Rho participates in the quality control of the overall transcriptional process by suppressing R-loop formation, antisense transcription and preventing conflicts between transcription and DNA replication. In addition, Rho is recruited in specific gene regulatory mechanisms. Two distinct patterns for conditional Rho recruitment have emerged. One pattern renews the classical concept of transcriptional polarity whereby intragenic *rut* sites, that are normally masked by translating ribosomes, become accessible to Rho if translation is uncoupled from transcription. Representative of this type of mechanism is that used by the small RNA ChiX to downregulate the distal gene of the bicistronic *chiP-chiQ* operon in *Salmonella* and *E.coli*. ChiX pairs with a sequence near the 5' end of *chiP* mRNA blocking *chiP* translation. As a result, a *rut* site within the early portion of *chiP* mRNA becomes available for Rho binding, causing transcription to stop prematurely. Thus, through Rho recruitment, the small RNA can silence a gene distant from its pairing site. The second pattern has the *rut* sequence in the 5' untranslated region of the target gene and participating in an RNA conformation modulated by the binding of a ligand (small molecule or protein). We found this mechanism to operate in the repression of the *E.coli pgaA* gene by global regulator CsrA. Upon binding to the leader region of *pgaA* mRNA, CsrA disrupts a secondary structure that sequesters a *rut* site. By exposing the *rut* sequence, CsrA promotes transcription termination within the leader.

## Mechanism of anti-silencing of virulence genes in *Salmonella*.

Kenney, L<sup>1</sup>,<sup>1</sup> University of Illinois.

The EnvZ/OmpR two-component system controls expression of the SsrA/B two-component system located on *Salmonella* Pathogenicity Island 2. SPI-2 encodes a type III secretion system which functions as a nanomachine to inject bacterial effector proteins into eukaryotic cells. During the intracellular phase of infection, *Salmonella* switch from secreting type three secretion system structural components to secreting effectors into the macrophage cytoplasm, enabling *Salmonella* to replicate in the phagocytic vacuole. Major questions remain regarding how bacteria survive the acidified vacuole and how acidification affects bacterial secretion. To address these questions, we employed a DNA-based FRET biosensor ("I-switch") to measure bacterial cytoplasmic pH and immunofluorescence to monitor effector secretion during infection. Surprisingly, we observed a rapid drop in bacterial cytoplasmic pH upon phagocytosis that was not predicted by current models. Cytoplasmic acidification was completely dependent on the OmpR response regulator, but did not require known OmpR-regulated genes. Secretion followed acidification and blocking acidification of the macrophage vacuole resulted in a neutralized bacterial cytoplasm, which in turn blocked secretion. Based upon these findings, we developed a novel model for *Salmonella* infection involving an acid-dependent secretion process. Thus, when *Salmonella* is in an acidified intracellular compartment, its cytoplasm also acidifies. This acidification requires OmpR and drives activation and assembly of the SPI-2 type three secretion system as well as effector secretion.

Supported by VA 1I01BX000372, NIH R01GM079 and MBI, NUS.

# SIMPOSIO 8

## Microbial RNA Biology

## Expression of non-coding RNAs in response to stress in *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Orellana, O<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, De Medicina, Universidad De Chile.

A consortium of microorganisms adapted to grow in acidic environments containing high metal concentrations participate in the bioleaching of minerals. Among them, the Gram negative, chemolithotrophic, autotrophic, facultative aerobic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* is one of the best known. In the presence of oxygen this organism can utilize either Fe<sup>2+</sup> or sulfur reduced compounds as electron donors. We are currently interested in the identification and the roles of non-coding RNAs (sRNAs and tRNAs) in response to stress in *A. ferrooxidans*.

By means of bioinformatic analyses 96 genes encoding tRNAs were detected in the genome of *A. ferrooxidans* type strain ATCC 23270, being 37 of these genes located in an integrative conjugative genetic element named ICEAfe1. Encoded tRNAs are amino acylated *in vivo* in *A. ferrooxidans*, although they are transcribed at very low levels. We still do not know the role of these tRNA genes in *A. ferrooxidans*.

Concerning sRNAs, we wanted to identify those that respond to treatment of cells with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Two strategies were used for this purpose: 1. Bioinformatic prediction of transcription promoters and terminators in intergenic regions (IGR) of *A. ferrooxidans* genome to detect possible transcription units. Predictions were compared to RNA deep sequencing data. Ten possible sRNAs that changed their expression upon H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment of cells were detected. By means of this strategy, 10 possible sRNAs that change their level upon treatment were detected. 2. As an alternative strategy, the identification of sRNAs that bind to the RNA chaperone Hfq (protein that facilitates the interaction between sRNAs and target mRNAs) were identified by RNA deep sequencing. Currently we are working in the validation of target mRNAs of the identified sRNAs by each strategy.

Supported by Fondecyt 1110203 (OO) and 1120746 (GL). Mecosup (A.P.) and Conicyt fellowships (C.A. y F.R.),

## Efectos del estrés oxidativo sobre la traducción en bacterias.

### Effects of oxidative stress on bacterial translation.

**Katz, A<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.

When pathogenic bacteria infect a host, they are exposed and forced to adapt to several types of cellular stress. Failure to adapt to any of these conditions will prevent a successful infective process. Within cellular perturbations, oxidative stress is common to all vertebrate pathogens, as during infection pathogens must confront the oxidative burst attack from the immune system. In order to survive to these stressful conditions bacteria must adapt, increasing the synthesis of cellular defenses and decreasing production of some of the oxidation targets including proteins and nucleic acids. It is known that bacterial response to oxidative stress depends on the action of several transcription factors including SoxR, OxyR, PerR and/or NorR. In contrast, although it has been described that several macromolecules involved in translation are oxidized, little is known about the functional effects of these oxidations on the translation machinery and their role in the adaptive response. Changes in translation might come from direct oxidation of the RNA involved in the process (tRNA, rRNA, mRNA or regulatory sRNA) which could directly modify the translation efficiencies of specific genes. Additionally, oxidation of proteins involved in tRNA processing, stability or aminoacylation could affect the levels of tRNA or their aminoacylated fraction. Accordingly, our results indicate that cellular concentrations of tRNA<sup>Gly</sup> decrease in *Escherichia coli* during oxidative stress, potentially affecting ATP synthesis, biofilm formation or metallic ions homeostasis. Here we propose that changes affecting the efficiency of codon decoding will have global effects modifying the proteome of stressed bacteria

Supported by Conicyt Inserción a la Academia 79130044

## Simposio 8

**El Virus de la Inmunodeficiencia Humana de tipo 1 induce la disgregación de los gránulos de estrés para contrarrestar la respuesta celular anti-viral.****HIV-1-induced disassembly of stress granules to counter host anti-viral stress responses.**

**Valiente, F<sup>1</sup>.**, Moulard, A<sup>2</sup>.,<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas - Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.<sup>2</sup>Medicine and Microbiology & Immunology McGill University.

Stress granules (SG) are translationally silent sites of RNA triage induced by environmental stresses including viral infection. Previously, we showed that HIV-1 significantly impairs SG assembly in favour of the assembly of Staufen1-containing HIV-1-dependent ribonucleoproteins. Here we show that HIV-1 Gag blocks SG assembly irrespective of eIF2a phosphorylation and even when SG assembly is forced by overexpression of Ras-GAP SH3 domain-binding protein (G3BP1) or TIAR. The overexposed loops in the amino-terminal capsid domain of Gag and host eukaryotic elongation factor 2 (eEF2) are found to be critical for the SG blockade via interaction. Moreover, cyclophilin A (CypA) stabilizes the Gag-eEF2 association. eEF2 depletion not only lifts the SG blockade but also results in impaired virus production and infectivity. Gag also disassembles preformed SGs by recruiting G3BP1, thereby displacing eEF2, revealing another unsuspected virus-host interaction involved in the HIV-1-imposed SG blockade. This work provides evidence for a new role for the HIV-1 structural protein Gag to prevent anti-viral stress responses by remodelling cellular RNPs suggesting that viral mRNA translation is maintained during various cellular stresses.

This work was supported by a grant from the Canadian Institutes of Health Research (MOP-38111) and F.V.-E. was a recipient of a Postdoctoral Fellowship from Becas Chile.



## Assembly and specificity of CRISPR-Cas DNA interference complexes

**Randau, L<sup>1</sup>,**<sup>1</sup> Max Planck Institute of Terrestrial Microbiology.

In type I CRISPR-Cas systems, a complex of Cas proteins (termed Cascade) binds the CRISPR RNAs (crRNAs) and mediates crRNA-guided targeting and degradation of viral DNA. The co-evolution of CRISPR-Cas systems and viral anti-CRISPR measures led to a diversification of Cascade assemblies that were classified into different CRISPR subtypes. We have reconstituted a complete archaeal type I-A Cascade complex from six Cas protein subunits and synthetic crRNAs. This ribonucleoprotein complex was shown to be active and to cleave DNA in dependence of crRNA complementarity and a three nucleotide protospacer-adjacent motif ( Plagens et al., 2014; Nucl. Acids Res.). The catalytic Cas3 enzyme is an integral part of this Cascade complex which is in contrast to Cas3 recruitment by type I-E Cascade. The universal small subunit Csa5 was identified to bind single-stranded DNA. A second Cascade complex (type I-B, *Clostridium thermocellum*) was assembled from four recombinant Cas proteins and the RNA endonuclease Cas6b was used to generate crRNAs (Richter et al., 2012; Nucl. Acids Res.). The availability of these reconstituted recombinant complexes allows for mutational studies of the involved protein and nucleic acid components in order to elucidate the mechanism of DNA target selection and specificity.

## Simposio 8

### The Pros and Cons of Mistranslating the Genetic Code

**Ibba, M<sup>1</sup>,**<sup>1</sup> Ohio State University.

During mRNA decoding at the ribosome deviations from stringent codon identity, or “mistranslation,” are generally deleterious and infrequent. Observations of organisms that decode some codons ambiguously, and the discovery of a compensatory increase in mistranslation frequency to combat environmental stress have changed the way we view “errors” in decoding. Modern tools for the study of the frequency and phenotypic effects of mistranslation can provide quantitative and sensitive measurements of decoding errors that were previously inaccessible. Mistranslation with non-protein amino acids, in particular, is an enticing prospect for new drug therapies and the study of molecular evolution.

# SIMPOSIO 9

## Signaling and pathogenesis in Fungi

## Unconventional secretion and fungal pathogenesis

**Rodriguez, M<sup>1</sup>,**<sup>1</sup> Center for Technological Development in Health (CDTS) of the Oswaldo Cruz Foundation.

Secretion in the Fungi differs from most eukaryotic cells mainly because of the presence of a cell wall. It is assumed that trans-cell wall passage is an additional and obligatory step of secretion in fungal cells. Nevertheless, secretion of fungal macromolecules also includes other particularities. For instance, one key characteristic of fungal extracellular molecules is a general predominance of proteins lacking the signal peptide that is characteristic of conventionally secreted proteins.

Fungal cells are also known for their efficacy to secrete molecules of non-protein nature that are essential for both physiology and pathogenesis, including polysaccharides and pigments. For instance, *C. neoformans* secretes massive amounts of polysaccharides both in vitro and during infection. Melanin is synthesized intracellularly and finally deposited on the cell wall of most fungal species. These fungal extracellular macromolecules do not carry any known secretion signal, reinforcing the concept that the physiology of fungal cells is largely dependent on non-canonical pathways of secretion. Recent studies by our group demonstrate that regulators of unconventional secretion in other eukaryotes are required for polysaccharide export and pathogenesis in *C. neoformans*. Golgi reassembly and stacking protein (GRASP), aminophospholipid translocase 1 (Apt1 flippase), autophagy protein 7 (Atg7) and the vacuolar-sorting protein Snf7, which are required for unconventional protein secretion in a number of eukaryotes, participate in polysaccharide export in *C. neoformans*. Deletion of the genes required for expression of these secretion regulators resulted in *C. neoformans* mutants with attenuated pathogenesis in mice models of infection. These results support the notion that unconventional secretion and virulence are strictly connected in *C. neoformans*, suggesting that secretory pathways might be promising drug targets.

## El rol de la hifa de *Candida albicans* en la dirección del crecimiento y su implicancia en la patogenicidad.

### Directional growth and pathogenesis in *Candida albicans* hyphae.

Brand, A<sup>1</sup>,<sup>1</sup> University of Aberdeen.

*Candida albicans* lives as a commensal yeast in humans but, in immunocompromised patients, the fungus can form invasive hyphae that penetrate epithelial cell layers and solid organ tissue, causing problems ranging from superficial irritations to life-threatening infections. The formation of polarised structures is a common feature of fungal pathogens and the ability to control the direction of growth is vital for successful host invasion. We have been studying the control of growth direction in *C. albicans* during two key growth stages – initial cell polarisation and hyphal extension through the environment.

The direction of hyphal germination in *C. albicans* is random but, in an applied electric field, hyphae grow towards the cathode. This offers a method to dissect the regulation of directional growth. The cathodal polarisation of wild-type cells is enhanced by extracellular  $[Ca^{2+}]$ . However,  $Ca^{2+}$  influx itself does not appear to determine the site of polarisation, instead boosting the signals derived from the small GTPases, Rsr1 and Cdc42. In cells expressing hyper-active Rsr1 or Cdc42, directional polarisation is still enhanced by extracellular  $[Ca^{2+}]$  but it is anodal. Thus the direction of polarisation can be completely reversed by altering the equilibrium of GTP- and GDP-bound Rsr1 or Cdc42. After morphogenesis, adhered hyphae explore their environment by adopting an asymmetric tip morphology. Live-cell fluorescence microscopy in nanofabricated chambers showed that polarity complexes translocate apically towards new sites of contact, which correlates with growth along surface contours and penetration of underlying gaps. Rsr1 is required for this behaviour. Its deletion affects Spitzenkörper positioning and causes hyphal tips to ignore contact-derived signals. The mutant fails to respond to surface contours and is highly attenuated in virulence, indicating that Rsr1-mediated directional control of hyphal growth is essential for normal host invasion.

## Simposio 9

**Regulación por luz en *Aspergillus nidulans***  
**Light regulation in *Aspergillus nidulans***

**Fischer, R<sup>1</sup>.,<sup>1</sup> Karlsruhe Institute of Technology.**

Light perception has been a crucial step in evolution, because it is not only used as primary energy source of photosynthetic organisms, but also for orientation in the environment. Only a few different chromophores have evolved as photoreceptors, some of which are retinal-, flavin- or tetrapyrrol-based. Those chromophores are bound to proteins and undergo e.g. conformational changes upon light perception. The chromophore changes hence cause conformational changes of the protein, which in turn change their activity. Light responses may be fast, but can also involve slow developmental changes of the entire organism. The latter response normally requires the differential regulation of hundreds or thousands of genes. In the case of filamentous fungi, many physiological and developmental processes are controlled by light. For instance *Aspergillus nidulans* senses red and blue light, which control asexual or sexual reproduction but also secondary metabolite formation. We have discovered phytochrome as one of the photoreceptors in this fungus and thus demonstrated that this chromophore is conserved from plants to lower eukaryotes. Transcriptional analyses revealed that hundreds of genes are differentially expressed upon illumination. Taking two of the genes, the mechanism of light regulation has been studied. We found that phytochrome along with a flavin-based blue-light receptor controls gene induction. In a novel approach we are trying to identify novel components of the light-sensing system using mutagenesis. "Blind" mutants were isolated, and their characterization is under way. The aim is to identify the corresponding mutations by whole-genome sequencing.

## Fungal circadian clocks and photobiology: molecular mechanisms and physiological consequences.

Larrondo, L<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile.

The necrotrophic fungus *Botrytis cinerea* is a phytopathogen that infects over 200 plant species, and not surprisingly ranks as the second most important plant pathogenic fungus based on its scientific-economic relevance. In order to understand how environmental signals affect its pathogenic potential, we have started assessing the effect of light and circadian regulation on this fungus. Thus, we have identified that some, but not all light responses, are processed by a LOV domain transcription factor, which is the orthologue of *Neurospora crassa* WC-1. Thus, light modulates pathogenicity, and a strain that is devoid of BcWC-1 generates smaller lesions in the light, but not in the dark (where it behaves like the WT). Thus, the role of BcWC-1 in light regulation is being addressed by RNA-seq analyses. We have also started the characterization of the *B. cinerea* circadian clock, which is composed of the FRQ protein and a transcriptional complex formed by WC-1 and WC-2. Our results indicate that *bcfreq* mRNA presents daily oscillations in a light-dark cycle and in constant darkness (DD), rhythms which are lost in a *bcwc-1 KO* strain. We have observed oscillatory levels of the BcFRQ protein under temperature cycles and DD. Both the *bcfreq* mRNA and BcFRQ protein anticipate cyclical-environmental changes (light or temperature), a key characteristic of circadian behavior. Importantly, we have observed an impaired infection process using *bcfreq* and *bcwc-1 KO* strains. Moreover, we demonstrate that the outcome of the plant- fungal pathogen interaction using *Arabidopsis thaliana* and *B. cinerea* as working model varies with the time of day. Altogether, these results provide the first evidence indicating the existence of a circadian clock in this necrotrophic pathogen, putting forward the concept that fungal clocks can synchronize key elements of virulence and pathogenesis.

Fondecyt 1131030, MN-FISB NC120043

# SIMPOSIO 10

**Bioleaching: a new and integrative vision of an old issue**



## Membrane separation for the treatment of mine waters and leaching solutions - recovery of strategical elements

Repke, J<sup>1</sup>,<sup>1</sup> TU Bergakademie Freiberg.

Aqueous systems may have a variety of ingredients. On the one hand it may be a valuable strategic substance occurring partly in highly diluted natural sources or process streams. On the other hand, pollutants may be present that are released due to anthropogenic influences or incurred in process solutions. The more complex the system under consideration, the higher the probability that both characteristics can occur simultaneously - as a formerly "worthless" substance, released into the environment a separation from the compartment can change its material characteristic in a recyclable expensive element. In view of the current scientific debate over the strategic elements the focus is directed more and more with respect to sustainable methods. Regarding such complex material flows in terms of resource problems, possible production technologies are currently under discussion. The ideas range from the re-activation of abandoned mine sites, the leaching of old mine dumps, to the treatment of pollutant landfills and their leachate.

In the framework of various research projects these issues - from pollutant separation to resource recovery - are intensively investigated at the Institute of Thermal Process Engineering, Environmental and Natural Products Process Engineering.

Within this research projects membrane separation technologies are investigated as the core application for a sustainable physicochemical treatment of the process streams. After a short introduction on membrane technology, an overview of membrane treatment investigations of Acid Mine Drainage, Uranium contaminated effluents and the separation of strategic elements from leaching processes is given. The successful application of new separation methods for highly complex solutions can lead to new sustainable hybrid treatment systems for the winning of strategic elements.

This works was supported by European Social Fund, SIEMENS AG, WISMUT GmbH and Helmholtz-Center Dresden Rossendorf

## Leaching of Strategic Elements from Ores and Secondary Resources.

Schopf, S<sup>1</sup>,<sup>1</sup> TU Bergakademie Freiberg.

High-tech products nowadays often contain an increasing number of elements, some of them in trace concentrations in corresponding alloys. Due to this fact and due to politically controlled markets, the price of some elements increased to an extent which raises the question, whether these elements can be obtained from complex ores or secondary resource also in Germany. Among the elements of interest are indium (e. g. for flat screens), germanium (e. g. for infrared optics), rhenium (e. g. for alloys in aircraft engines), vanadium (for durable steels), and antimony (for various alloys).

Indium occurs, for example, in sphalerite (ZnS) in the lead-zinc-tin deposits in the ore mountain region around Freiberg. Therefore, sphalerite leaching experiments were performed in shake flasks in several media by pure and mixed cultures, and compared to abiotic controls. In 9K and DSM 882 medium mixed cultures from various source as well as *Acidithiobacillus ferrooxidans* DSM14882<sup>T</sup> within a month leached between 80 and 100% of the zinc. Interestingly an increase in the solids loading resulted in a lower increase of indium in solution as compared to zinc in solution. Analyses of the microbial community of waters in the mine "Reiche Zeche" were performed to identify leaching communities which work effectively under conditions of this deposit. Microscopic investigation revealed that *A. ferrooxidans* DSM14882 attached quite differently to different minerals, and did not grow to thick biofilms on sphalerite. Germanium, rhenium, vanadium, and antimony occur, for example, in "Theisenschlamm" resulting from fine-grained flue dust of former copper smelters and deposited in the Mansfeld area, Germany. While "Theisenschlamm" for a long time has been considered an environmental problem, it is now being investigated as a possible source of valuable metals. After initial experiments on the enrichment of appropriate bacterial strains, the success of the bioleaching process in shake flasks was monitored via changes of redox potential and pH. In order to balance the yield of dissolved metals, a precise analysis of the solids before and after leaching and of the pregnant leaching solution itself was performed and showed that target metals had been leached to some extent. Bioreactor experiments will allow to further increase the yield of target metals and to control the process in terms of selectivity.

This works as part of the Biohydrometallurgical Center Freiberg was supported the Dr.-Erich-Krüger-Foundation and by an exchange grant of the Deutsche Forschungsgemeinschaft.

## Bioleaching and follow-up precipitation enable indium recovery from sphalerite ore and flotation tailings

Kermer, R<sup>1</sup>,<sup>1</sup> G.E.O.S. Ingenieurgesellschaft.

In the Freiberg mining field located in the lower Erzgebirge Mountains, Germany, mining has been carried out from the end of the 12th century until the last third of the 20th century. In this area a polymetallic Ag-Pb-Zn vein deposit was mined mainly for silver, lead and zinc until closure in 1969. As a legacy numerous waste rock dumps evolved. Two flotation tailings ponds ("David Schacht" and "Hammerberg") were operated in the central Freiberg mining field during the last mining period (1937-1969) when the ore was beneficiated by flotation processes. Due to the growing industrial demand for critical/strategic elements as raw materials various R&D projects were launched to re-assess such mining residues for their potential to cover this need. Within the presented project the aforementioned tailings dams are currently investigated with the aim to recover strategically important raw materials and simultaneously reduce environmental problems. In 2013, as part of this work, a drilling campaign was conducted and amongst others a 30 m deep borehole was drilled in the tailings dam "David Schacht". The recovered material was investigated for potential exploitation of residual valuable metals e. g. zinc or indium by using alternative technologies like bioleaching. The dumps consist of fine grained flotation tailings with quartz, feldspar, mica as major and the sulphide minerals pyrite, arsenopyrite, galena and sphalerite as minor components. The flotation plants achieved metal yields of 60 – 80%. Thus the tailings contain considerable amounts of sulphides not recovered by flotation resulting in metal contents of about 0.5 – 1.5% zinc, 0.3 – 1.0% lead as well as arsenic and cadmium. Beside iron, copper and cadmium, sphalerite contains significant amounts of indium (up to 0.38% (w/w)) leading to indium contents of up to 70 mg/kg in the mine tailings. Preliminary thermodynamic assessment showed a comparatively small Eh-pH-range where bioleaching is possible and indium is not hydrolytically precipitated. Shake flask and column bioleaching experiments of the original polymetallic sphalerite ore from the Freiberg mining district with 400 mg/kg indium showed maximum zinc and indium recovery of almost 100 and 80 %, respectively. First bioleaching approaches of the tailings material achieved zinc and indium yields of up to 80% and confirmed previous results obtained for bioleaching of the original sphalerite material. With regard to the follow-up indium recovery from the PLS (pregnant leaching solution) a stepwise precipitation process is being developed involving combined iron/indium precipitation and subsequent processing of the indium pre-precipitate.

The authors would like to thank the Federal Ministry of Education and Research of Germany for financial support of the project (Sponsoring number 033R095B).

## Genomic and evolutionary insights into adaptation of "*Thiobacillus prosperus*" (*Acidihalobacillus prosperus* sp. nov) to saline and acidic environments

Cardenas, J<sup>1</sup>,<sup>1</sup>Center for Bioinformatics and Genome Biology Universidad Andres Bello / Fundacion Ciencia & Vida.

"*Thiobacillus prosperus*" is a poorly studied halophilic (up to 0.6 M NaCl) and acidophilic (pH < 3) bacterium with iron- and sulfur- oxidizing capabilities. Genomic and taxonomic studies demonstrate that it is a novel member of the halophilic *Ectothiorhodospiraceae* family and we propose the name "*Acidihalobacillus prosperus*" to reflect its true taxonomic position. The genome sequence of *A. prosperus* can be plundered for clues as to how this microorganism can live simultaneously in high salt and low pH and how these capacities evolved. Deep phylogenetic studies suggest that the ancestor of *A. prosperus* was a halophile that later acquired genes by horizontal gene transfer for adaptation to acidic environments. This raises questions as to the origin, mechanism(s) of gene transfer, evolutionary timing and selective pressures of such events. Metabolic reconstruction coupled to the prediction of genes and gene islands potentially involved in horizontal gene transfer (HGT) suggest that genes for salt tolerance were inherited by vertical descent, whereas those involved in acid tolerance were later incorporated into the genome by HGT mainly derived from *Acidithiobacillus*-like organisms. These latter genes are predicted to encode energy metabolism functions such as iron-oxidation, and also acid tolerance (e.g amino acid decarboxylases), many transporters (for both uptake and export functions) and some outer membrane proteins. We argue that genes involved in acid tolerance were not acquired suddenly in one event, but rather their acquisition was stepwise as the inferred ancestral organisms "walked down" a pH gradient from neutral to acid conditions during evolution. Thus a complete "lifestyle" change from halophilic neutrophile to acidophilic neutrophile is proposed to have been mediated by HGT.

FONDECYT 1130683, FONDECYT 3140005, Basal Program of CONICYT PFB16 and Bioplatforms Australia Omics Grant.

## Microscopic and molecular insights in the biofilm lifestyle of acidophilic leaching microorganisms.

Vera, M<sup>1</sup>,<sup>1</sup> Universität Duisburg-Essen.

Bioleaching of metal sulfides is an interfacial process where biofilm formation is an essential step to achieve good leaching efficiencies. In metal-oxidizing bacterial biofilms, the extracellular polymeric substances (EPS) are responsible for the electrostatic mediation of cell attachment to metal sulfides due to its complexation of iron (III) ions, while their second function is the oxidative dissolution of the metal sulfide. Biofilm formation is a genetically regulated process where the microorganisms involved undergo a series of changes in their gene expression resulting in molecular adaptations to their new sessile lifestyle. One of the main phenotypic changes is an intense EPS production. A high-throughput proteomic comparison from biofilm cells attached to pyrite ( $\text{FeS}_2$ ) and planktonic cells of the mesophilic iron and/or sulfur oxidizer *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 was done. Several proteins were found to be up-regulated in biofilm cells. Among them, membrane and outer membrane proteins probably involved in osmotic regulation, extracellular polysaccharide biosynthesis and protein secretion, as well as proteins probably involved in cofactor metabolism were present. A functional LuxIR-type I Quorum Sensing system is encoded in *A. ferrooxidans*. We have shown that the external addition of long chain N-acyl homoserine lactones (AHLs) stimulate its biofilm formation on pyrite and sulfur surfaces. Results revealed that some AHLs mixtures had inhibitory effects on pyrite leaching on pure and binary cultures with other metal oxidizing species. Some of them correlated with changes in biofilm formation patterns on pyrite coupons. We also provide evidences that *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidiferrobacter* spp. produce AHLs. Our results strongly suggest that cell-cell interactions play an important role in the regulation of biofilm formation processes in acidophilic leaching bacteria. Their understanding may consequently be used to develop attempts to influence biomining/bioremediation processes.

Financed by CONICYT-DAAD "ALECHILE" International Collaboration Grant numbers 55260560 (DAAD) / 2011-672 (CONICYT) and Fondecyt Regular 1120295.

# SIMPOSIO 11

## Microbiología en la Acuicultura Sustentable

Simposio 11

**Secuenciación masiva de última generación del piojo del salmón *Caligus rogercresseyi*: una mirada integrativa sobre procesos biológicos complejos.**

Gallardo, C<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad de Concepción.

## Epidemiología de la infección por *Piscirickettsia salmonis* en salmones de cultivo en Chile

Mardones, F<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad Austral de Chile.

*Piscirickettsia salmonis* es el agente causal de la piscirickettsiosis, enfermedad bacteriana de tipo septicémica y principal causa de mortalidad en salmones de cultivo en el sur de Chile. Su alto endemismo estaría relacionado con la alta carga de cultivo de salmones o presión de carga. Por esta razón, el objetivo principal de este estudio fue cuantificar la asociación entre la biomasa en el cultivo de salmones y la dinámica temporal y espacial de esta enfermedad.

Un total de 914 ciclos de producción fueron analizados en este estudio epidemiológico desde Noviembre, 2008 a Julio, 2014 en las regiones X, XI y XII de Chile, incluyendo Salmón del Atlántico (SA), Trucha Arcoíris (TA) y Salmón Coho (SC). Esta información incluyó la ubicación espacial de cada centro, especie, fechas de ingreso y cosecha, así como variables demográficas y sanitarias registradas en forma mensual, en especial, la mortalidad registrada por *P. salmonis*. Adicionalmente a los análisis descriptivos y patrones de tendencias, los análisis incluyeron una serie de regresiones de tipo multivariada ajustando por el componente temporal y espacial.

Un 80.4% de los ciclos de cultivos reportaron mortalidades por *P. Salmonis*, sin embargo, la dinámica de piscirickettsiosis varía significativamente con la especie de cultivo, la distribución espacial de los centros de cultivo, áreas de manejo, y temporalmente. Aunque la probabilidad de reporte es mayor ( $P < 0.001$ ) en SA comparada con TA y SC, la magnitud de la presentación de la enfermedad (cantidad de peces muertos producto de *P. salmonis* sobre el total de peces sembrados por ciclo) fue mayor ( $P < 0.001$ ) en TA comparada con las otras especies. La biomasa máxima alcanzada durante el ciclo, aparece positivamente relacionada con un mayor mortalidad por *P. salmonis*. ( $P < 0.001$ ). Este estudio permite comprender la dinámica de la infección mas prevalente y mortal que afecta a salmones de cultivo en Chile, entregando resultados que permiten evaluar la conformación de los barrios productivos así como la optimización de sistemas de vigilancia epidemiológica actuales.



## Fagoterapia en Acuicultura

**Bastias, R<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Universidad Católica de Valparaíso.

La acuicultura es una de las industrias que ha experimentado un mayor crecimiento a nivel mundial en los últimos años. La intensificación de los sistemas de producción ha generado también un incremento en las enfermedades bacterianas que afectan a esta actividad. Debido a la creciente preocupación por el uso excesivo de antibióticos en acuicultura, los bacteriófagos han sido propuestos como una alternativa para controlar las infecciones bacterianas. Los bacteriófagos son capaces de lisar la célula hospedera y son altamente específicos, por lo que no afectarían a la microbiota natural del pez ni del ambiente. Uno de los patógenos más recurrentes en acuicultura es *Vibrio anguillarum*, que puede producir vibriosis en más de 50 especies de peces. Este trabajo presenta el aislamiento de bacteriófagos capaces de infectar esta bacteria y su potencial uso para prevenir la vibriosis en peces. Se lograron aislar 10 bacteriófagos, los que fueron caracterizados en su morfología y material genético. Todos los bacteriófagos presentaron un rango de hospedero estrecho infectando principalmente cepas de *V. anguillarum*. Desafíos realizados a pequeña y gran escala con esta bacteriamuestran que los bacteriófagos fueron capaces de reducir en más de un 90% la mortalidad causada por vibriosis en *Salmo salar*. Además, desafíos realizados en placas de cultivo muestran que estos bacteriófagos también son capaces de reducir en más de un 20% la mortalidad causada por esta bacteria en larvas de *Sparus aurata*. Estos resultados sugieren fuertemente que los bacteriófagos son una buena alternativa para prevenir la vibriosis causada por *V. anguillarum* en peces.

## Patogénesis bacteriana y vacunas recombinantes para peces.

### Bacterial pathogenesis and live recombinant vaccines for fish

Santander, J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor.

In all kinds of intensive aquaculture, where single or multiple species are reared in high densities, infectious disease agents are easily transmitted. In those intensive systems, vaccination is one of the most important enhancers of productivity. Teleosts have the most primitive adaptive immune system. However, in terms of functionality the teleost immune system is similar to birds and mammals. On the other hand, bacterial pathogens of mammals and birds present conserved regulatory mechanisms that control virulence factors. In this context, deletion of conserved genes that control virulence factors have been successfully used as measure to construct live attenuated bacterial vaccines for mammals and birds. Based on the hypothesis that specific conserved genes that control virulence factors or essential genes for bacterial physiology could be used as universal tools to design live attenuated recombinant bacterial vaccines, we are designing strategies to needle-free delivering recombinant antigens or DNA vaccines to aquatic hosts. Here, using the catfish host and *Edwardsiella ictaluri*, one of the most ancient representatives of the Enterobacteriaceae family, we describe some basic mechanisms for pathogenic bacteria attenuation and fish immune protection. We also describe a balanced-lethal system to achieve the syntheses of heterologous antigens, a key step for live recombinant vaccine design. Finally, we describe the immune stimulant properties of the lipopolysaccharide, a non-toxic molecule for fish, and its use in fish vaccination. We conclude that through the genetic manipulation of bacterial fish pathogens, it is possible to develop oral-bath live attenuate recombinant vaccines for the global aquaculture industry to increase sustainable food production.

# SIMPOSIO JOVENES MICROBIOLOGOS

## Mecanismos y señales involucrados en la proliferación de *Trichomonas vaginalis*.

Muñoz, C<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta.

*Trichomonas vaginalis* es el agente causante de la tricomoniasis humana, una infección de transmisión sexual con una incidencia anual de ~276 millones de casos en el mundo. La proliferación celular es un paso crítico en la colonización del epitelio urogenital por parte del parásito. Sin embargo, los mecanismos implicados en la proliferación de *T. vaginalis* no son conocidos.

En este trabajo, tres factores de crecimiento de *T. vaginalis* se clonaron y expresaron en *E.coli* (TvFC1, TvFC2 y TvFC3). Los ensayos de proliferación se realizaron en presencia o ausencia de factores de crecimiento recombinantes de *T. vaginalis* (TvFCr). La localización celular se determinó por inmunofluorescencia e inmunoelectromicroscopía, mientras que la marcación metabólica con metionina S<sup>35</sup> y la inmunoprecipitación fueron utilizadas para identificar los factores de crecimiento secretados. Ensayos con oligonucleótidos antisentido contra TvFC3 fueron realizados para bloquear la proliferación, y la inhibición en la expresión de ARNm se cuantificó mediante q-PCR.

Los resultados mostraron un aumento dosis-dependiente, en el número de parásitos (40-60%) en cultivos de *T. vaginalis* incubados con los TvFCr respecto a los controles. La microscopía confocal reveló que los TvFCr están presentes principalmente en las primeras horas de cultivo. La microscopía electrónica mostró que TvFC1 y TvFC3 estaban localizados al interior de vesículas secretoras o endocíticas, mientras que TvFC2 se observó en estructuras semejantes a lisosomas. El secretoma de *T. vaginalis* marcado con metionina S<sup>35</sup>, seguido por inmunoprecipitación con anticuerpo policlonal, mostró que los factores de crecimiento de *T. vaginalis* son secretados por el parásito. Finalmente, ensayos con oligonucleótidos antisentido, mostraron un 65% de inhibición en la proliferación y un 61% de inhibición de la traducción del ARNm del gen TVAG\_218120. Éste cuerpo de evidencias, sugiere fuertemente que *invitro*, la proliferación de *T. vaginalis* es inducida por factores de crecimiento secretados por el protozoo.

Proyecto Fondecyt 1131007

## Hongos filamentosos cultivables asociados con esponjas marinas Antárticas y su potencial antimicrobiano, antitumoral y antioxidante.

### Cultivable filamentous fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential.

Vaca, I<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los hongos filamentosos Antárticos han sido poco estudiados, particularmente aquellos provenientes de ambientes marinos. Desde un punto de vista biotecnológico, estos organismos podrían ser productores de compuestos con interesantes actividades biológicas. Durante los últimos años, nuestro laboratorio se ha dedicado a estudiar la biodiversidad y las propiedades químicas de hongos filamentosos provenientes de esponjas marinas Antárticas. Al respecto, hemos logrado establecer que la biodiversidad de hongos cultivables asociados a las esponjas marinas antárticas es muy diferente a la descrita en esponjas marinas de otros puntos del planeta. Específicamente, determinamos que en esponjas antárticas existen al menos 9 géneros de hongos filamentosos del filo Ascomycota. Interesantemente, al menos un tercio de los hongos aislados no pudieron ser identificados a nivel de género, por lo que podrían ser especies nuevas. Finalmente, se analizaron varias actividades biológicas de los metabolitos secundarios producidos por estos organismos. La realización de un "screening" molecular y químico de los aislados permitió determinar un gran potencial biosintético en estos organismos, particularmente en cepas fúngicas del género *Geomyces* y sus parientes cercanos. Estas cepas poseen gran potencial como productores de agentes antimicrobianos, antitumorales, y en menor medida, de antioxidantes. Estos resultados sugieren que los hongos marinos Antárticos podrían ser potenciales productores de futuros nuevos fármacos.

Fondecyt 11090192, Proyecto INACH G\_06-10

## Metabolismo del azufre y resistencia a antibióticos en *Salmonella Typhimurium*.

### Sulfur metabolism and antibiotic resistance in *Salmonella Typhimurium*.

Álvarez, Ricardo<sup>1</sup>, Neumann, Germán<sup>1</sup>, Frávega, Jorge<sup>1</sup>, Díaz, Fernando<sup>1</sup>, Tejías, Cristóbal<sup>1</sup>, Saavedra, Claudia P.<sup>1</sup>, Calderón, Iván L.<sup>1</sup>, **Gil, Fernando**<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

Se ha descrito que la interacción de antibióticos bactericidas con sus blancos primarios estimularían la oxidación de NADH a través de la cadena de transporte de electrones. Esto provocaría un aumento en la concentración del anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el cual puede ser dismutado a peróxido de hidrógeno y además puede dañar centros hierro-azufre de diversas enzimas, provocando la liberación de ion ferroso, siendo éste catalizador de la reacción de Fenton. En presencia de estrés oxidativo las bacterias activan sistemas globales involucrados en la respuesta antioxidante, pero además se ha propuesto un mecanismo secundario que relaciona la resistencia a antibióticos bactericidas con un aumento en la producción de sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ). El objetivo de este trabajo fue determinar la participación de genes del metabolismo del azufre en la resistencia a antibióticos bactericidas. Dentro de este estudio, se determinaron cambios de expresión frente a antibióticos bactericidas, mediante qRT-PCR, dentro de los cuales algunos presentaron una disminución en su expresión (*sseA*, *phsA*, *aspC*, entre otros). Entre los genes que presentaron un mayor aumento en su expresión están los pertenecientes al operón *cysJIH*, relacionado con la producción de  $H_2S$  a partir de sulfato. Al comparar la cepa mutante ( $\Delta cysJIH$ ) con la silvestre, la mutante resultó ser más sensible a los antibióticos ceftriaxona y novobiocina. Por otro lado, se evaluó la producción de especies reactivas de oxígeno frente a antibióticos, observándose una mayor producción en la cepa mutante. Posteriormente se evaluó la producción de  $H_2S$  en ambas cepas, resultando en una producción disminuida en la cepa mutante frente al tratamiento con antibióticos. Los resultados obtenidos sugieren que el operón *cysJIH* produce un aumento en la cantidad de  $H_2S$  frente al tratamiento con antibióticos generadores de ROS.

FONDECYT N°1130074

## Estructura de las comunidades rizobacterianas de dos plantas antárticas mediante el uso de pirosecuenciación.

### Rhizobacterial community structure of two antarctic plants by using pyrosequencing.

**Jorquera, M<sup>1</sup>**, Maruyama, Fumito <sup>2</sup>, Lagos, Lorena<sup>1</sup>, Marileo, Luis <sup>1</sup>, Navarrete, Oscar <sup>1</sup>, Cid, Fernanda <sup>1</sup>, De La Luz Mora, María <sup>1</sup>, <sup>1</sup>Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN) Universidad De La Frontera. <sup>2</sup>Department of Microbiology Kyoto University. (Patrocinado por Apoyo Al Desarrollo De Proyectos De Investigación Chile-EE.UU. (USA2013-0010) E INACH (RT\_14-12))

La rizósfera de plantas de la Antártica ha sido escasamente estudiada y prácticamente nada se sabe cómo las rizobacterias pueden contribuir a la adaptación, salud y nutrición de las plantas en tan extremas condiciones. Con la llegada de la tecnología de pirosecuenciación, ahora es posible examinar con una mayor resolución la estructura y diversidad de las comunidades rizobacterianas. El objetivo de este estudio fue determinar y comparar la estructura de las comunidades rizobacterianas asociadas a dos especies de plantas vasculares nativas del ecosistema antártico usando pirosecuenciación del gen 16S ARNr. Muestras de rizósfera de dos especies vegetales, pasto antártico (*Deschampsia Antarctica*) y clavel antártico (*Colobanthus quitensis*), fueron tomadas en la Islas Shetland del Sur, Península Antártica, durante Febrero 2014. La composición taxonómica y abundancia relativa (AR) de las comunidades rizobacterianas fueron determinadas y comparadas mediante el software Visualization tool for Taxonomic Compositions of Microbial Community (VITCOMIC). En ambas especies vegetales, los resultados revelaron mayores AR de las filas Proteobacteria (29-55%) y Actinobacteria (12-36%). En Proteobacteria, las mayores AR fueron de los órdenes Rhodobacterales (11-32%; alphaproteobacteria), Xanthomonadales (7-23%; gammaproteobacteria) y Burkholderiales (4-18%; betaproteobacteria). En Actinobacteria el orden con mayor AR correspondió a Actinomycetales (12-31%). Al comparar las estructuras de las comunidades con el software VITCOMIC, no se observó diferencias significativas tanto en la composición taxonómica como en la diversidad entre las especies vegetales muestreadas. El presente trabajo representa uno de los escasos estudios en profundidad sobre la estructura de las comunidades rizobacterianas asociadas a plantas adaptadas a ambientes extremos de Chile, como es la antártica.

Proyecto: Concurso Apoyo al Desarrollo de Proyectos de Investigación Chile-EE.UU. (USA2013-0010) e INACH (RT\_14-12)

# SIMPOSIO SOCHINF

**Resistencia a antibióticos: Situación actual y búsqueda de nuevas soluciones**



## Visión global de la resistencia en el mundo y su situación en Chile

**Pinto, M<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup>, Medicina, Universidad de Chile.

La resistencia a antimicrobianos se ha convertido en un problema global siendo considerado actualmente por la OMS como relevante en la salud pública mundial, al comprometer a microorganismos patógenos de infecciones tanto comunitarias como hospitalarias. Esta resistencia puede afectar simultáneamente a varias clases de antimicrobianos y tienen especial impacto en unidades de pacientes críticos. La vigilancia de la resistencia a nivel mundial y local en los países, se ha transformado en una necesidad imperiosa con el fin de contar con antecedentes que sustenten los esquemas terapéuticos, los protocolos de control de diseminación de cepas resistentes y la detección de la emergencia de nuevas resistencias, entre otros aspectos. A nivel mundial ha adquirido gran importancia la resistencia de patógenos prevalentes como *S. aureus*, *Enterococcus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter*, *P. aeruginosa* y *A.baumannii*.

Hallazgos significativos han sido la identificación de las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), de las serino-carbapenemasas, entre ellas KPC la más relevante, y de las metalo-betalactamasas (MBL), siendo IMP y VIM las más relevantes, que son capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas e incluso carbapenémicos. En los últimos años ha tenido también impacto mundial el hallazgo de NDM-1, una MBL asociada a resistencia múltiple. Cabe mencionar, además, la existencia de genes transferibles que sustentan la resistencia a quinolonas, aminoglicósidos y otros antimicrobianos de importancia clínica. Ante la necesidad de contar con información local, con la inclusión de un número significativo de instituciones del país, el Grupo de Resistencia de la Sociedad Chilena de Infectología inició hace siete años la vigilancia de la susceptibilidad de ciertos patógenos de importancia en la comunidad y en el hospital, datos que han sido comunicados en forma acumulada y en forma independiente a cada institución de salud, permitiendo generar recomendaciones terapéuticas locales y una información valiosa para las decisiones clínicas y epidemiológicas.

## Plataformas genéticas que diseminan resistencia a antibióticos

**González, G<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup>DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA, FAC. CIENCIAS BIOLÓGICAS, Universidad De Concepción.

El aumento constante de resistencia a los antibióticos en bacterias patógenas hospitalarias o de la comunidad es una preocupación permanente, especialmente en aquellas cepas que causan infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS). Estas bacterias pueden catalogarse, dependiendo de la amplitud del perfil de resistencia que ellas exhiban, como multiresistentes, con resistencia extrema o panresistentes. En los últimos años, las cepas productoras de b-lactamasas de espectro extendido (BLEE), en hospitales de Chile y en el mundo, han incrementado considerablemente, por lo que habitualmente las IAAS que producen son tratadas con carbapenémicos. Sin embargo, esto ha facilitado la selección de cepas resistentes a estos compuestos, cuyo principal mecanismo de resistencia es la síntesis de carbapenemasas, principalmente en enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, y también en bacilos Gram negativos no fermentadores como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, dificultando el tratamiento de las infecciones que ellas producen.

El principal fenómeno genético que contribuye a la emergencia de cepas resistentes es la adquisición de genes de resistencia, a través del mecanismo de transferencia horizontal de genes, en especial mediante conjugación bacteriana. En este fenómeno genético natural se intercambian elementos que constituyen el moviloma bacteriano, compuesto principalmente por plásmidos, bacteriófagos, transposones, elemento integrativos y conjugativos (ICEs), integrones y *cassettes* genéticos, entre otros. Colectivamente a estas estructuras se les denomina elementos genéticos móviles y es en estas estructuras donde se localizan los determinantes genéticos de la resistencia, conformando verdaderas plataformas genéticas, desde donde se expresa y modula la resistencia a antibacterianos que presenta la bacteria que las poseen.

FONDECYT 1130838

## Nuevos antibióticos para el uso clínico

**Blamey, R<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup> Hospital del Salvador, Clínica Las Condes.

El mundo enfrenta desde hace varias décadas la amenaza de la resistencia bacteriana cada vez más creciente, ya no confinada al medio nosocomial donde ha adquirido connotación por la aparición de agentes panresistentes, sino que además se ha hecho presente en forma progresiva en infecciones ambulatorias. Este fenómeno se ha acompañado por una notoria escasez en la innovación de antibióticos, lo que es acuñado por algunos expertos como la era post antibiótica. Dichas circunstancias pueden tener consecuencias impensadas no tan solo en la salud humana, sino que también en otras áreas como la agricultura, la economía y la seguridad nacional de algunos países. Varias instituciones en el mundo desarrollado, incluyendo agencias nacionales de salud, universidades, sociedades científicas y comités técnicos gubernamentales han manifestado su preocupación al respecto y han planteado diversas estrategias para enfrentar la problemática en forma multidimensional. Es así como durante los últimos años, y luego de varias décadas de silencio, ha comenzado un nuevo interés por descubrir nuevas familias de antibióticos y también se han estudiado moléculas de familias ya conocidas, pero con propiedades ventajosas frente a los patógenos que actualmente nos afectan. Entre las moléculas que han alcanzado fases avanzadas de desarrollo y que se espera puedan ser incorporadas en el uso clínico en un futuro próximo destacan nuevas cefalosporinas, inhibidores de beta-lactamasas, oxazolidinonas, quinolonas, derivados de tetraciclinas, aminoglucósidos y fluroketólidos. En etapas más tempranas de desarrollo se encuentra familias de antibióticos que afectan nuevos "target" bacterianos, como son los antibióticos borónicos.

## Tendencias actuales en la búsqueda de nuevos compuestos antibacterianos

**Vásquez, D<sup>1</sup>**, <sup>1</sup> Universidad de Chile.

Desde la aparición de los primeros antibióticos se ha avanzado enormemente en el conocimiento de su estructura, metabolismo, mecanismo de acción y toxicidad. Estos avances han permitido optimizar su uso y mejorar las terapias antimicrobianas. Sin embargo, el proceso de selección Darwiniana permite la generación de especies multiresistentes, lo que ha traído como consecuencia que ciertas infecciones sea muy difícil de tratar, comprometiendo la salud de la población. Sumado al hecho que el ritmo de desarrollo de nuevos agentes es más lento que el aumento de la tasa de resistencia a los antimicrobianos, los escasos nuevos agentes que se han introducido en la práctica clínica en los últimos años, tienen indicaciones específicas y deben utilizarse con prudencia y numerosas restricciones con el fin de lograr la máxima eficacia y seguridad. El enfoque actual para el diseño de nuevos antimicrobianos se basa en el mejoramiento de las estructuras que han perdido su actividad. Esto se logra retirando, modificando o adicionando grupos químicos que le dan la oportunidad de evadir momentáneamente la resistencia. Pero como el mecanismo de resistencia ya se encuentra desarrollado es cuestión de tiempo para que reaparezca neutralizando al nuevo antimicrobiano. De hace un tiempo se reconoce un cambio de paradigma en la búsqueda de un blanco biológico, debe poseer al menos tres características fundamentales: 1) Ser evolutivamente estable en el tiempo; 2) Crítico para la viabilidad del microorganismo y 3) Que se encuentre distribuido en las bacterias patógenas que se quiere tratar. Este es el enfoque actual hacia el cual va encaminada la búsqueda de los nuevos compuestos antibacterianos.

FONDECYT iniciación 11110516

# SIMPOSIO SOCHMHA 1

**Microorganismos de importancia en brotes alimentarios: Bacterias, Virus, Parásitos**

## Aseguramiento de la inocuidad en la cadena de alimentos en Estados Unidos, responsabilidad de la FDA

**González, N<sup>1</sup>**,<sup>1</sup> Food Drug Administration.

La "Food Drug Administration" (FDA) tiene una rica y larga historia protegiendo la salud pública en Estados Unidos. La FDA regula ambos, medicamentos y comidas en EUA. La mayoría de la comida consumida en EUA es regulada por la FDA, excepciones son carne cruda, producción avícola, y huevos (congelados, desecados, y líquidos) que son regulados por el FSIS (USDA). Desde su fundación, la FDA ha focalizado su atención en detectar organismos patógenos y contaminantes en los productos alimentarios. Esta charla dará una visión de la organización de la FDA enfocándose en el Centro para la Nutrición y Seguridad de los Alimentos (CFSAN). Mencionaré algunos ejemplos de productos alimenticios regulados por la FDA, los esfuerzos que se están llevando a cabo para hacer frente a los retos de mantener la inocuidad en la cadena del suministro de alimentos, y las prioridades de investigación llevadas a cabo en CFSAN para asegurar esta inocuidad. También me referiré a la necesidad del desarrollo de nuevos métodos rápidos para detectar contaminantes y patógenos en los alimentos regulados por la FDA en EUA.

## Virus en Aguas y Alimentos

**Gaggero, A<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La calidad del agua y, por lo tanto de la salud humana, puede ser afectada por la presencia de microorganismos patógenos que se encuentran en aguas residuales no tratadas y que son liberadas a las aguas superficiales.

Brotos de enfermedades virales de transmisión hídrica han sido descritos en muchos países y la lista de microorganismos potencialmente patógenos aumenta anualmente. Más de 140 tipos de virus son responsables de infecciones en el hombre y animales, en particular aquellos que causan gastroenteritis, siendo excretados en altas concentraciones ( $10^5 - 10^{11}/g$  de heces). La calidad microbiológica de diferentes tipos de agua se define por la determinación de coliformes totales, sin embargo, diversos estudios señalan que no hay correlación entre la presencia de estos indicadores bacterianos y contaminación viral.

Los virus entéricos son muy estables en el medio ambiente, mantienen su infectividad luego de los procesos de tratamiento de aguas, como también en concentraciones de compuestos clorados normalmente utilizados. Norovirus, virus hepatitis A y E (HAV y HEV), adenovirus entéricos, rotavirus, astrovirus, enterovirus y polyomavirus entre otros, han sido estudiados en los últimos años como importantes marcadores ambientales de contaminación en balnearios, estuarios, aguas residuales tratadas y no tratadas, aguas utilizadas para consumo, agua mineral, alimentos, etc. Se han descrito en todo el mundo numerosos brotes de HAV y Norovirus asociados al consumo de bivalvos, como también a hortalizas, frutas, etc. El desarrollo de métodos de concentración más eficientes y técnicas moleculares aplicadas a estudios de virología ambiental, ha permitido determinar que existe una alta prevalencia de virus en el medio ambiente, incluso en países desarrollados, lo que causa un impacto en la salud pública e importantes pérdidas económicas, principalmente a través de la transmisión de virus por agua y alimentos.

## Enfermedades parasitarias zoonóticas transmitidas por el consumo de alimentos y agua

Fredes, F<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Universidad de Chile.

Según la literatura reciente, se han descrito 1.407 especies de agentes patógenos para el ser humano. De ellos, más de la mitad (58%) son considerados zoonóticos, siendo capaces de tener otra especie animal, distinta al ser humano, como hospedero. Entre estos agentes se encuentran los que causan enfermedades parasitarias que son transmitidas desde los animales al ser humano o viceversa, por el consumo de alimentos (ETA) ya sea: (a) de origen animal, como es la ingestión de sus productos o subproductos; (b) así como los de origen vegetal o de agua, ambos contaminados con estadios o elementos de resistencia de los agentes parasitarios.

Actualmente las infecciones transmitidas por los alimentos y el agua han recibido una especial atención, debido a que se han vuelto más comunes. Por esto en la actualidad según la OMS se consideran emergentes, probablemente debido a la globalización, ya que en el pasado, el riesgo de infección humana por los parásitos se consideraba limitada a distintos regiones geográficas. Sin embargo, dichas barreras han sido poco a poco sobrepasadas, ya sea por los viajes internacionales y por los transportes de alimentos.

Otros factores que explican la emergencia de algunas infecciones parasitarias zoonóticas y ETA son: (a) el aumento de la población de personas muy sensibles, a causa del envejecimiento, la desnutrición, la infección por VIH y otras condiciones médicas subyacentes; (b) y a los cambios en el estilo de vida, tales como el aumento en el número de personas que comen comidas preparadas en restaurantes y establecimientos de comida rápida, así como de vendedores ambulantes de alimentos.

En esta presentación se revisarán las principales enfermedades parasitarias en que los alimentos y el agua han sido involucrados como fuentes de transmisión en algunos brotes nacionales e internacionales de ETAs, mostrando algunos ejemplos.



# SIMPOSIO SOCHMHA 2

**Gestión de Riesgos : Inocuidad Alimentaria y Nutricional**

## **Análisis de Riesgo: Herramienta de la salud pública para la elaboración de medidas sanitarias y el control de los alimentos.**

Cornejo, J<sup>1</sup>, <sup>1</sup> SOCHMHA.

Tradicionalmente, el Análisis de Riesgo, se ha considerado un proceso estructurado, sistemático y disciplinado para tomar decisiones sobre la inocuidad de los alimentos y su repercusión en la salud pública, habida consideración que los peligros alimentarios identificados estaban asociados principalmente a los microbios y a las sustancias químicas presentes naturalmente en los alimentos o incorporadas durante su procesamiento. Sin embargo, fenómenos poblacionales como la transición epidemiológica y demográfica, los cambios en los patrones de consumo, entre otros, han determinado cambios dramáticos en la estructura de la morbimortalidad en el mundo y en Chile, caracterizada por una disminución de las enfermedades infecciosas y un aumento de las enfermedades crónicas no transmisibles. Así, las dos primeras causas de muerte de los chilenos - las enfermedades cardiovasculares y el cáncer - están fuertemente asociadas a los hábitos alimenticios y particularmente a la ingesta excesiva de algunos nutrientes llamados "críticos". En el análisis de riesgos nutricional se aplica el mismo enfoque general que en el análisis de riesgos relativo a la inocuidad de los alimentos, pero incorporando también los riesgos directamente resultantes de una ingesta excesiva o insuficiente de alimentos, agregando de esta manera, una nueva dimensión al análisis de riesgo, convirtiéndose en una poderosa herramienta de base científica para la identificación y caracterización de los peligros y evaluación del riesgo y para el diseño de medidas sanitarias eficaces y congruentes con los problemas de salud de la población.

Simposio SOCHMHA 2

Abstract no entregado.

**Anna Pinheiro** (Universidad de Chile, Chile) **Nutrientes críticos o de riesgo: Evaluación de riesgo.**

## Ley 20.606 y su ejecución reglamentaria: Un ejemplo chileno para la gestión de riesgos.

Pérez, P<sup>1</sup>, <sup>1</sup> SOCHMHA.

El 6 de julio del año 2012, se publicó en el Diario Oficial la Ley 20.606, sobre composición nutricional de los alimentos y su publicidad. Esta Ley - que vio la luz después de más de siete años de agitada discusión parlamentaria- todavía se encuentra pendiente de ejecución reglamentaria. Esto no significa que, en los más de dos años transcurridos desde su publicación, no haya habido intentos del Ejecutivo para dar vida al decreto que se requiere para que las disposiciones legales tengan efecto. En total han sido ya cuatro los borradores de decreto para la modificación al Reglamento Sanitario de los Alimentos que ha trabajado el Ministerio de Salud, incluso fueron publicados en diciembre 2013 decretos que tenían fecha de entrada en vigencia para junio de este año. La nueva Administración, asumida en marzo, fue muy crítica con el texto confeccionado por lo que, a pocos días de iniciado su gobierno, comunicó la suspensión de los decretos para la redacción de una nueva modificación al Reglamento Sanitario de los Alimentos que diera mejor cuenta de los objetivos fijados por la Ley, tanto en materia de publicidad como de rotulación de los alimentos que excedan determinados límites de contenido de sodio, azúcares totales, grasa saturada o calorías. Es así como el 23 de octubre de 2014 concluyó el proceso de Consulta Pública de lo que será el decreto que el Ministerio de Salud espera publicar este mes de diciembre. La propuesta, que ha sido fuertemente discutida por la industria, establece exigentes límites para los referidos factores por cada 100 g de producto los que, de ser excedidos, supondrán la obligación de rotular un mensaje de advertencia, la prohibición de venta en colegios de estos alimentos y la imposibilidad de realizar a su respecto publicidad dirigida a menores de 14 años.

# INCORPORACIONES 1

## Incorporaciones 1

**Estudio de la microbiota levaduriforme de salmónidos (*Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss*), palometa (*Seriola lalandi*) y corvina (*Cilus gilberti*): rol en la nutrición y salud de los peces.****The gut yeast microbiota of salmonids (*Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss*) yellowtail (*Seriola lalandi*) and croaker (*Cilus gilberti*): role on fish nutrition and fish health.**

**Navarrete, Paola**<sup>1</sup>, Raggi, Patricia <sup>1</sup>, Caruffo, Mario<sup>1</sup>, Navarrete, Natalie<sup>1</sup>, Diaz, Angélica<sup>1</sup>, Salgado, Oscar<sup>1</sup>, Fujio, Sayaka<sup>1</sup>, Lopez, Paulina<sup>1</sup>, Navarrete, Diana<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, INTA, Universidad De Chile. (Patrocinado por Angélica Sofía Reyes Jara)

Chile es el segundo exportador de salmónidos a nivel mundial y recientemente ha diversificado su producción con el cultivo de nuevas especies de interés comercial. La microbiota bacteriana de los peces presenta múltiples beneficios para el hospedero, sin embargo el rol de la microbiota levaduriforme en su salud y nutrición ha sido poco explorado. El objetivo de este estudio fue identificar las levaduras presentes en el tracto digestivo (TD) de peces de interés comercial y evaluar su potencial benéfico utilizando el modelo pez cebra (*Danio rerio*). Mediante cultivo y PCR-TTGE, se identificaron 43 especies de levaduras en 103 muestras de salmónidos (33), corvina (48) y palometa (22). *Rhodotorula mucilaginosa* y *Debaryomyces hansenii* fueron comunes a todas las especies de peces. El perfil enzimático de las cepas, evaluado mediante API-ZYM mostró que una alta proporción de cepas produjo aminopeptidasas y lipasas, lo cual puede ser explicado por la naturaleza carnívora de estos peces. La inoculación de pez cebra con levaduras fluorescentes (DTAF), mostró que la interacción levadura-hospedero ocurre en el TD. La viabilidad de las levaduras en larvas fue evaluada por cultivo observándose 4 patrones de colonización, en base a su concentración inicial y persistencia en la larva. La inoculación de larvas de pez cebra con 4 levaduras seleccionadas resultó en una estimulación de la actividad de la fosfatasa alcalina, cuya actividad indica maduración intestinal. Para evaluar la capacidad de las levaduras para proteger de la infección por el patógeno *Vibrio anguillarum*, se estandarizó un modelo de infección en pez cebra. De 15 cepas evaluadas, 13 aumentaron la tasa de supervivencia (Kaplan Meier,  $P < 0.05$ ) de larvas desafiadas. Los resultados muestran que los peces de interés comercial en Chile contienen en su microbiota cepas de levaduras potenciales probióticos. Se revela la utilidad del pez cebra para evaluar propiedades benéficas de las cepas.

FONDECYT 11110414

## Analisis sistemático e integral de los factores que contribuyen a la enfermedad severa por virus de influenza A en humanos.

### Systematic and comprehensive analysis of factors contributing to severe influenza A virus disease in humans.

Barrera, Aldo<sup>1,6</sup>, Nuñez, Maria Jose<sup>1</sup>, Budnik, Isolda<sup>2</sup>, Marco, Claudia<sup>1</sup>, Aravena, Marta<sup>2</sup>, Gutierrez, Catalina<sup>3</sup>, Lopez, Tania<sup>3</sup>, Perez, Regina<sup>2</sup>, Vizcaya, Cecilia<sup>2</sup>, Halpin, Rebecca<sup>4</sup>, Wentworth, David E.<sup>4</sup>, Ferres, Marcela<sup>2,1</sup>, Garcia-Sastre, Adolfo<sup>5</sup>, **Medina, R. A.**<sup>2,6,5,1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>2</sup>Infectología e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>3</sup>Departamento de Infectología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>4</sup>Virology J. Craig Venter Institute. <sup>5</sup>Department of Microbiology and Global Health and Emerging Pathogens Institute Ichan School of Medicine at Mount Sinai. <sup>6</sup>Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy Pontificia Universidad Católica De Chile.

Influenza A virus affects mainly the upper respiratory tract and might cause viral pneumonia in some individuals. Disease outcome is modulated by both viral and host factors. The efficient transmissibility and the pathogenesis shown by the 2009 H1N1 pandemic strain during its emergence, emphasized the value of monitoring the clinical evolution of infected individuals to establish efficient mitigation and clinical treatment strategies, and to elucidate susceptibility factors in the general population. To date no in-depth longitudinal studies have been conducted with influenza virus patients, integrating epidemiological data, pathogenesis, clinical findings (e.g. presence of comorbidities), analysis of immune responses, and the characterization of the genome, virulence factors and antigenic properties of the virus. During 2011 to 2013, we collected nasopharyngeal swabs and blood from a total of 107 enrolled patients hospitalized with influenza A. Clinical data from each patient, and immune responses and viral genome sequences were measured at different time points. Our current analysis indicate that the majority of patients considered to be severe, had risk factors by either pre-existing comorbidities or because they belonged to high-risk age groups (individuals < 2 or >65 years). We also identified that a large proportion (51.3 %) of severely ill individuals had some level of immunosuppression, and that 6 of these individuals had an unexpected decrease in seroconversion titers (day 21+) against the homologous virus strain, in comparison to the level of antibodies in pre-infection sera (on day 1). We also found an increased variation of the viral genome from severe individuals during the acute infection. This correlates with increased virulence in *in vivo* assays. Analyses of the innate immune responses suggest that early aberrant responses (e.g. increased IL-6 and IL-10) might contribute to severe clinical disease. Thus, immunosuppression or immune deregulation may play a major role in human influenza virus pathogenesis.

## Incorporaciones 1

**El rol de comunidades microbianas raras pero muy activas en el reciclaje del nitrógeno en humedales altioplánicos.****The role of rare but very active microbial communities on nitrogen recycling in Altiplanic wetlands.**

**Molina, V<sup>1</sup>,** <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad De Playa Ancha De Ciencias De La Educación.

Las transformaciones biogeoquímicas asociadas al nitrógeno son cruciales en el ambiente acuático ya que éste puede reciclarse en el sistema y sustentar la producción biológica, o perderse en forma gaseosa ( $N_2$  o  $N_2O$ ). El nitrógeno es limitante para productores primarios y los microorganismos son los principales sostenedores en humedales altioplánicos ya que son los mejores adaptados a las condiciones extremas (radiación, congelación, salinidad, bajas tensiones de oxígeno). En este estudio se presenta una multi-aproximación metodológica basada en incubaciones con trazadores marcados (amonio y nitrógeno molecular) y análisis de la comunidad activa (cDNA) mediante pirogenotecas de 16S rRNA y RT-qPCR de grupos funcionales específicos nitrificantes. Los resultados muestran que el agua de la laguna principal y pozas aledañas del humedal incrementaron su salinidad en tres campañas realizadas entre 2011-2012. En sitios con alta salinidad la nitrificación se redujo en >50%, la incorporación de amonio aumentó ( $\sim 40 \mu M d^{-1}$ ) y la fijación de nitrógeno fue comparable con sitios con baja salinidad ( $\sim 0.02 \mu M d^{-1}$ ). Los ensamblajes nitrificantes (<1% de las secuencias pirogenotecas) fueron detectados en sitios con baja salinidad constituidos por *Nitrosospira* y *Nitrosomonas* (bacterias amonio oxidantes), *Nitrosopumilus* (arqueas amonio oxidantes), *Nitrospira* (bacterias nitrito oxidantes) y *Kuenenia* (bacterias nitrito oxidantes anaeróbicas). A pesar de ser raras, las bacterias presentaron mayor actividad de genes funcionales (subunidad a amonio monooxigenasa) que las arqueas y presentaron una correlación negativa y positiva con la salinidad y la conductividad. Una comunidad potencialmente más rica y diversa se detectó en sitios menos salinos incluyendo cianobacterias posiblemente fijadoras y otros grupos asociados al metano. En total la utilización de amonio fue más sensible al estrés salino comparado con la fijación de nitrógeno y la comunidad bacteriana amonio oxidante fue rara pero más activa que sus contrapartes arqueanas contribuyendo significativamente al reciclaje del amonio en humedales altioplánicos.

FONDECYT #1110824; #1140356



# INCORPORACIONES 2

## Identificación y caracterización in silico de de proteínas efectoras de virulencia exportadas por el Sistema de Secreción Tipo IV Dot/Icm en *Piscirickettsia salmonis*

### Identification and in silico characterization of virulence effectors secreted by the Dot/Icm Type IV Secretion System in *Piscirickettsia salmonis*

**Gómez, Fernando A.**<sup>1</sup>, Flores, Patricio<sup>2</sup>, Arredondo, Oscar<sup>2</sup>, Labra, Álvaro<sup>3</sup>, Sergio H., Marshall<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Biología, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>2</sup>Instituto de Biología, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>3</sup>Laboratorio de Patógenos Acuícolas (Laboratorio de Referencia OIE), Núcleo de Biotecnología Curauma PUCV, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por James Robeson Camus)

*Piscirickettsia salmonis* el patógeno bacteriano que más ha amenazado la sustentabilidad de la industria salmonera en Chile en los últimos 20 años. Los mecanismos por los cuales el patógeno es capaz de evadir la respuesta inmune aún no han sido completamente dilucidados, aunque recientes reportes señalan que *P. salmonis* contiene un Sistema de Secreción Tipo IV-B Dot/Icm, homólogo al presente en *Legionella pneumophila* y *Coxiella burnetii*, el que estaría implicado en la inhibición de la fusión fagosoma-lisosoma en macrófagos y otras células de peces. Este trabajo se centró en identificar y caracterizar proteínas efectoras de virulencia secretadas por el sistema Dot/Icm en *P. salmonis*, las que serían responsables de la modulación del comportamiento de la célula huésped en beneficio del patógeno. Para ello se realizó un análisis del genoma de la cepa LF89, centrándose en la búsqueda de proteínas homólogas a los efectores descritos en *L. pneumophila* y *C. burnetii*. Se seleccionaron 230 proteínas efectoras de los patógenos de referencia y realizaron búsquedas por BLAST Local en el genoma de *P. salmonis*. Una vez identificadas proteínas homólogas a las de referencia se realizó un filtro buscando si éstas contenían en el C-terminal la señal de exportación del sistema Dot/Icm. Esta señal fue definida comparando los últimos 35 residuos del C-terminal de las 230 proteínas de referencia, siendo común para la mayoría: presencia de Block E, acidez y estructura alfa-hélice. Con estos parámetros se definieron varias proteínas candidatas en *P. salmonis*, siendo la mayoría del tipo Ankirinas. Análisis estructurales y de funcionalidad *in silico* de los putativos efectores Dot/Icm de *P. salmonis* mostraron algunos podrían estar implicados en la ubiquitinación de proteínas, en la metilación de histonas o presentan actividad de ribonucleasa, lo que podría indicar que actúan como reguladores transcripcionales y post-traduccionales de proteínas de la célula huésped.

**Proyecto Fondecyt de iniciación N° 11130407**

## Cambios fisiológicos y morfológicos de *Azolla caroliniana* por exposición a cobre.

### Morphological and physiological changes of *Azolla caroliniana* due to copper exposure.

**Sánchez-Viveros, Gabriela**<sup>1</sup>, Gonzalez Mendoza, Daniel<sup>2</sup>, Zavaleta Mancera, Hilda<sup>3</sup>, Alarcon, Alejandro<sup>4</sup>, Ferrera Cerrato, Ronald<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Posgrado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana. <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Agrícolas Universidad Autónoma de Baja California. <sup>3</sup>Botánica Colegio de Postgraduados. <sup>4</sup>Microbiología del Suelo Colegio de Postgraduados. (Patrocinado por Dr. Nicholas. Guiliani)

El uso de plaguicidas ha incrementado las concentraciones de metales pesados en los ecosistemas. *Azolla* es un helecho con capacidad de detoxificar ambientes acuáticos contaminados. Se evaluó el efecto tóxico del cobre sobre la actividad fotosintética y la estabilidad de la membrana celular de *Azolla caroliniana* y los cambios morfológicos que sufren el helecho y su simbionte por exposición a  $\text{Cu}^{2+}$ . *Azolla caroliniana* se incubó en concentraciones crecientes de  $\text{Cu}^{2+}$  (0.02, 0.2, 1 y 2 mM) durante 36 h, en cámara de crecimiento. Las frondas basales se procesaron para análisis mediante microscopía de luz. Los resultados mostraron que las concentraciones más altas de Cu (1 y 2 mM) afectan significativamente el fotosistema II, al reducir el rendimiento fotoquímico en comparación con el testigo. Después de 12 h de exposición, la permeabilidad de la membrana (fuga de electrolitos) aumentó significativamente al incrementar la concentración de Cu en la solución nutritiva. A las 36 h, el contenido de compuestos fenólicos totales de *Azolla* no se vio afectado significativamente en las diferentes concentraciones de Cu, excepto en la dosis más baja (0.02 mM), en la cual aumentó. Concentraciones  $>1$  mM de  $\text{Cu}^{2+}$  produjo la disminución de plastidios (60-80%), desorganización celular, atrofia parda y necrosada, lisis de células epidérmicas y deshidratación de los primordios foliares de las frondas. El  $\text{Cu}^{2+}$  afectó negativamente la cianobacteria *Anabaena azollae* al mostrar cadenas de células más cortas y heterocistos separados. Como conclusión, el análisis de fluorescencia de la clorofila puede ser un indicador de los cambios fisiológicos de *Azolla* durante las primeras etapas de exposición ante contaminación con Cu. El helecho podría ser utilizado como bioindicador de contaminación de cuerpos de agua por contaminantes inorgánicos.

El financiamiento del proyecto es de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Zona Xalapa. Universidad Veracruzana, y Colegio de Postgraduados campus Montecillo.

## Incorporaciones 2

**Rol de la proteína de unión al DNA HU en la respuesta al estrés ácido en *Helicobacter pylori*.****Role of the DNA-Binding Protein HU in the Acid Stress Response Mechanism in *Helicobacter pylori*.**

**Almarza, Oscar**<sup>1</sup>, Toledo, Hector<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Patogénesis Microbiana y Vacunas, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor.  
<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Biomedicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinado por Dr. Hector Toledo)

El genoma bacteriano se encuentra compactado a través de la asociación con proteínas tipo-histona, formando el complejo conocido como cromatina bacteriana. De éstas, la proteína HU tiene la capacidad de unir y flectar el DNA, funciones relacionadas con compactación, protección y regulación de la expresión génica. En *H. pylori*, HU es la única proteína tipo histona descrita, y se encuentra entre el conjunto de proteínas sobreexpresadas por este microorganismo en condiciones de estrés ácido.

En este estudio se utilizó la proteína recombinante silvestre (HU<sub>wt</sub>) y dos proteínas con las sustituciones de aminoácidos K3A/S27D (HU<sub>m2</sub>) y K62R/V63N/P64A (HU<sub>m3</sub>) para determinar las características de unión, flexión, protección del DNA, además de la importancia del dominio N-terminal (HU<sub>m2</sub>) y el brazo flexible de HU (HU<sub>m3</sub>) en la interacción con el DNA.

Ensayos *in vitro* permitieron demostrar la capacidad de HU para unir, compactar, flectar y proteger el DNA. Además se construyó la cepa mutante de *H. pylori* *hup::cat*, para determinar la participación de esta proteína en la respuesta al estrés ácido. Las proteínas HU<sub>m2</sub> y HU<sub>m3</sub> presentaron menor afinidad por el DNA y una disminución en la capacidad de flexión y compactación de esta molécula. A través de qRT-PCR, se determinó la sobreexpresión de genes relacionados con la respuesta al estrés ácido (*ureA* y *speA*), característica que no se observó al estudiar la cepa mutante *hup::cat*, quien además presenta un fenotipo sensible al ácido.

Los resultados obtenidos muestran que la formación del complejo HU-DNA es favorecida en condiciones de acidez el medio, y que este complejo es capaz de proteger el DNA del daño por enzimas endonucleolíticas y daño por estrés oxidativo. Además se evidenció la importancia del dominio N-terminal de HU en la formación de este complejo y del brazo flexible de HU en el mecanismo de flexión y compactación del DNA.

Proyecto Fondecyt 1120126 (CONICYT)

Beca estudios para programa de Doctorado Nacional (CONICYT)

***Listeria monocytogenes*: respuesta transcripcional diferencial al frío (8°C) y su relación con su velocidad de crecimiento.*****Listeria monocytogenes*: differential transcriptional response to cold (8°C) and its relationship with growing rate.**

**Cordero, M<sup>1</sup>.**, Maza, Felipe<sup>1</sup>., Aravena, Andres<sup>2</sup>., Reyes-Jara, Angélica<sup>3</sup>., <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Centro de Modelamiento Matemático, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad De Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad De Chile. (Patrocinado por Angélica Sofía Reyes Jara)

*Listeria monocytogenes* (*Lm*) es un microorganismo patógeno transmitido por los alimentos, que tiene la capacidad de sobrevivir y multiplicarse en diferentes condiciones de estrés como es el frío. En este sentido, es interesante entender cómo cambios transcripcionales de *Lm* le permiten crecer a bajas temperaturas y si esta respuesta es diferencial entre aislados de distintos orígenes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta transcripcional global a 8°C de cepas de *Lm* con distintos niveles de tolerancia a frío. Para ello se eligieron 9 cepas con diferentes velocidades de crecimiento agrupadas en tres categorías (3 c/u): rápida, media y lenta. Se compararon los transcriptomas de las cepas pertenecientes a las distintas categorías crecidas a 8°C y 30°C. Se observó que la baja temperatura modificó la expresión en al menos 5.4%, 3.4% y 4.9% del total de los genes de las cepas rápidas, media y lentas respectivamente. De estos genes, 59 y 71 fueron sobre-expresados y reprimidos respectivamente sólo en las cepas de la categoría rápida. Para los aislados de la categoría baja, un total de 53 y 88 genes fueron sobre-expresados y reprimidos respectivamente. Además 10% (n=55) de los genes que cambiaron su expresión fueron comunes a las tres categorías. El análisis comparativo muestra que en particular para la categoría lenta un mayor porcentaje de los genes diferencialmente expresados (reprimidos) son relacionados al metabolismo y transporte de carbohidratos y que específicamente para la categoría rápida hay un mayor número de genes que se reprimen relacionados con la movilidad celular. En conclusión, las velocidades de crecimiento de cepas de *Lm* a bajas temperaturas se correlacionan con cambios transcripcionales propios de las categorías en las que fueron agrupadas. Estudios transcripcionales en respuesta al frío, aportan información que puede ser útil para diseño de estrategias para el control de este patógeno.

Fondecyt 11121449, PAI 791100002

## Formación de biopelículas en la bacteria acidófila *Acidithiobacillus thiooxidans*.

### Biofilm formation in the acidophile bacterium *Acidithiobacillus thiooxidans*.

**Díaz, Mauricio**<sup>1</sup>, Vera, Mario<sup>2</sup>, Guiliiani, Nicolas<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología, Ciencias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Biofilm Center Universität Duisburg-Essen, Alemania. (Patrocinado por Nicolas Guiliiani)

La formación de biopelículas es una etapa clave en el proceso de solubilización biológica de sulfuros metálicos conocido como biolixiviación. Dentro de los microorganismos involucrados en este proceso, las bacterias del género *Acidithiobacillus* capaces de formar biopelículas sobre sulfuros metálicos son las más estudiadas. Los dos mecanismos principales que regulan la formación de biopelículas en bacteria gram-negativas son las vías del quorum sensing y del diguanilato cíclico (c-di-GMP). En bacteria acidófilas, estos mecanismos se encuentran aun pobremente dilucidados. Además los estudios se han centrado en la especie oxidante de hierro y azufre *At. ferrooxidans* y a pesar de compartir el mismo nicho ecológico son pocos los estudios relativos a la bacteria oxidante de azufre *At. thiooxidans*.

Por eso, presentaremos el conjunto de resultados obtenidos por nuestro laboratorio durante los estudios dedicados en dilucidar los mecanismos moleculares involucrados en la formación de biopelículas en la bacteria oxidante de azufre *At. thiooxidans*. Un análisis bioinformático de la secuencia genómica de *At. thiooxidans* reveló la ausencia de un sistema de quorum sensing canónico, aunque *At. thiooxidans* parece ser capaz de producir autoinductor de tipo acilo homoserine lactona, y permitió iniciar la caracterización de una vía del c-di-GMP funcional. La búsqueda de posible efectores de la vía del c-di-GMP permitió identificar un putativo operón *pel*, similar a lo descrito en *Pseudomonasaeruginosa*, que codificaría un complejo proteico involucrado en la síntesis de exopolisacáridos. Este operón está presente sólo en *Acidithiobacillus* que no oxidan hierro y el gen que codifica para el efector PelD se transcribe más en células adheridas comparadas con planctónicas. Actualmente estamos construyendo una cepa mutante nulo *pelD* para dilucidar la importancia de este operón en el proceso de adherencia y formación de biopelículas en *At. thiooxidans*.

FONDECYT 1120295, CONICYT/DAAD (2011-672/55260560), Beca CONICYT 21120064.

## EFECTO DEL GEN *PMR1* EN LA ESTRUCTURA DE LA PARED CELULAR, VIRULENCIA Y ESPORULACIÓN DEL HONGO FITOPATOGENO *Botrytis cinerea*.

***Botrytis cinerea* bcpmr1 gene is involved in virulence, cell wall integrity and essential for full virulence.**

Plaza, V<sup>1</sup>., Carvajal, Mauro<sup>1</sup>., Lagües, Yanssuy<sup>1</sup>., Pasten, Alice<sup>1</sup>., Araya, Maria Constanza<sup>1</sup>., Castillo, Luis<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Biología, Ciencias, Universidad De La Serena. (Patrocinado por Luis Carlos Castillo Barahona)

*Botrytis cinerea* es un ascomiceto fitopatógeno que afecta a más de 200 especies diferentes de plantas. La pared celular de los hongos cumple un rol fundamental en el proceso de infección, ya que es la zona de contacto entre él y el huésped. La composición de la pared celular de *B. cinerea* ha sido poco estudiada, sin embargo en otros hongos esta compuesta por  $\beta$ -glucanos, quitina y glicoproteínas. Las glicoproteínas de la pared celular se encuentran *N* y *O* glicosiladas, proceso en que participan múltiples enzimas como las que pertenecen al grupo de las manosil transferasas. En otras especies como *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* el gen *PMR1* codifica para una ATPasa localizada en el Aparato de Golgi, proporcionando los iones  $Ca^{2+}$  y  $Mn^{2+}$ , esenciales para la actividad de las manosiltransferasas que catalizan la *N* y *O* glicosilación de las proteínas de la pared celular. El objetivo de esta investigación fue identificar y caracterizar el gen *bcpmr1* de *B. cinerea* y su implicancia en la estructura de la pared celular y su efecto en la virulencia. Para ello, el gen fue interrumpido mediante recombinación homóloga y se realizó diferentes estudios fenotípicos. Dichos análisis muestran que el mutante *bcpmr1* presenta una reducción en esporulación, adhesión y crecimiento a diferentes temperaturas. Por otro lado, el mutante resulto ser hipersensible a agentes perturbantes de la pared celular como por ejemplo Calcofluor white, Rojo Congo, Cafeína y Zimoliasa. Estos datos respaldan la importancia de la proteína PMR1 en *B. cinerea* en el proceso de glicosilación y su implicancia en la virulencia.

Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética (NC120043)

# INCORPORACIONES 3



## Incorporaciones 3

## Caracterización funcional del sistema de dos componentes ArcAB de *Salmonella Typhimurium* en respuesta a condiciones de estrés oxidativo: modulación del metabolismo como un mecanismo de defensa a ROS.

### Functional characterization of the *Salmonella Typhimurium* ArcAB two component system in response to oxidative stress: modulation of metabolism as a defense against ROS

**Morales, Eduardo H<sup>1</sup>**, Saavedra, Claudia<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Great Lakes Bioenergy Research Center and Department of Biomolecular Chemistry, College of Engineering, University of Wisconsin-Madison. <sup>2</sup>Microbiología Molecular, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Claudia P. Saavedra Sánchez)

El peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) es una especie reactiva de oxígeno (ROS) producida por células fagocíticas en respuesta a la internalización de *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*). Con anterioridad, demostramos que el sistema de dos componentes ArcAB juega un rol crítico en la resistencia a ROS, pero los genes regulados por el sistema no han sido determinados. En el presente trabajo investigamos el regulón ArcA de *S. Typhimurium* en condiciones aeróbicas antes y después de la exposición a  $H_2O_2$  al evaluar cambios en la expresión génica y fisiológicos en las cepas silvestre y  $\Delta arcA$ .

En la cepa  $\Delta arcA$ , la expresión de 292 genes mostró una regulación por ArcA en respuesta a  $H_2O_2$ , de los cuales 141 también son regulados en aerobiosis, pero en la dirección opuesta. Análisis bioinformáticos (**Gene Set Enrichment Analysis**) de los datos de expresión revelaron que en respuesta a la exposición a  $H_2O_2$ , ArcA regula negativamente múltiples transportadores del tipo PEP-PTS y ABC, mientras regula positivamente genes implicados en el metabolismo de glutatión, ribonucleótidos y glicerolípidos, y transporte de nucleótidos. Posteriores análisis bioquímicos guiados por los resultados de GSEA mostraron que la inactivación de ArcA en condiciones aeróbicas resultó en un aumento en la producción de ROS, que estaba relacionado con un aumento en la razón NADH/NAD<sup>+</sup>. En la ausencia de ArcA bajo condiciones aeróbicas, la exposición a  $H_2O_2$  resultó en niveles disminuidos de la actividad de la enzima glutatión reductasa, lo que conllevó a una disminución de la razón GSH (glutatión reducido)/ GSSG (glutatión oxidado).

**Conclusión:** Se definió el regulón ArcA de *S. Typhimurium* en dos condiciones; aerobiosis y la combinación de tratamiento con peróxido y aerobiosis. ArcA coordina múltiples aspectos del flujo de carbono a través del metabolismo central, lo que finalmente modula el potencial redox de la célula.

## Alteración del aparato de Golgi neuronal durante infecciones por virus Herpes Simplex Tipo 1

**Martin, Carolina**<sup>1</sup>, Leyton, Luis<sup>1</sup>, Hott, Melissa<sup>1</sup>, Arancibia, Yennifer<sup>1</sup>, Concha, Margarita I.<sup>2</sup>, Otth, Carola<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile. (Patrocinado por Dra. Carola Otth)

El virus herpes simplex tipo 1 (VHS-1) es un patógeno ubicuo con una alta prevalencia a nivel mundial. Su tropismo neuronal y naturaleza de la infección, sugiere un posible rol en el desarrollo de eventos neurodegenerativos a nivel de sistema nervioso central. Durante su ciclo replicativo, VHS-1 es capaz de modular vías de señalización celular y utilizar la maquinaria de su huésped para favorecer su propagación. Al respecto, dinamina-2 es una GTPasa que participa activamente en la formación de vesículas desde la región *trans* del aparato de Golgi y blanco de proteínas con actividad tirosina quinasa como es el caso de Src. Cultivos primarios de neuronas corticales fueron infectados con VHS-1 (moi 10) y mediante *western-blot*, inmunofluorescencia y microscopía electrónica se evaluó niveles relativos, localización y distribución de la tirosina quinasa Src, dinamina-2 y marcadores de Golgi; además de la integridad de la estructura de este organelo. Como resultados, se observó incremento en el estado de fosforilación/activación de la proteína Src y dinamina-2 desde las 4 horas post infección (hpi). No hubo cambios en los niveles relativos de los marcadores de Golgi. Sin embargo, se observó cambios en el patrón de distribución subcelular; caracterizado por una marca puntiforme dispersa en citoplasma. Adicionalmente, el análisis ultraestructural evidenció pérdida de la morfología normal del Golgi con una marcada dilatación, discontinuidad y desorganización de las pilas que forman este organelo. De esta manera, se concluye que durante infección neuronal por VHS-1 se produce activación prolongada de dinamina-2, a través de la vía de señalización de la tirosina quinasa Src, estimulando marcadamente la vesiculación dependiente de dinamina-2 que afecta la estructura y dinámica del Aparato de Golgi. La importancia de este organelo en la mantención del tráfico vesicular y función neuronal, hace necesario profundizar en los mecanismos utilizados por VHS-1 durante el proceso de infección.

FONDECYT 1120464, CONCIYT 24121539, MECESUP AUS1203, DID-UACH

## Deep-sequencing Approaches to Characterize the Fine-Scale Genetic Variation of a Hypersaline Microbial Ecosystem.

**Ugalde, Juan A.**<sup>1.</sup>, Podell, Sheila<sup>2.</sup>, Allen, Eric E<sup>2,3.</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor. <sup>2</sup>Scripps Institution of Oceanography University of California, San Diego. <sup>3</sup>Division of Biological Sciences University of California, San Diego.

The availability of habitat-specific genomes allows for a comprehensive characterization of the fine-scale genetic diversity that is present in a microbial community. In this work, we present a preliminary study of the genetic diversity in microbial genomes recovered from a hypersaline ecosystem, Lake Tyrrell (located in Australia), using deeply sequenced metagenomic datasets. Illumina metagenomic sequences were generated for water samples collected from the surface waters of the lake, at different time points (January 23 & 25, and August 7 & 9, in 2007). Reads were analyzed using available reference genomes, previously assembled from similar metagenomic datasets. This data was used to characterize both the abundance of individual populations, as well as the fine-scale genetic diversity that is present in the community. The results showed that some members of the microbial community, such as Haloquadratum-related populations, a comparatively low level of strain diversity is present, with almost no differences in the population composition between samples. Other populations, such as the Nanohaloarchaea, showed higher strain diversity and considerable differences in population compositions between samples. In addition, these analysis allowed the identification of genes that appeared to be under the effects of positive selection in some of the populations of the Lake Tyrrell microbial ecosystem. Some of the predicted functions included defense mechanisms, secretory proteins, and membrane proteins. The approach presented in this study, represents a broad overview of the fine-scale genetic diversity present in a natural microbial ecosystem, and provides us with a framework for the study of the genetic diversity in other microbial communities.

NSF MCB Award #1149552 (EA). Fulbright-Conicyt Graduate Fellowship (JU), Amazon Web Services Research Grant (JU).

## Interacción de *Neisseria gonorrhoeae* con la matrix extracelular de la trompa de Falopio Humana.

**Rodas, Paula I.**<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Center For Integrative Medicine and Innovative Science (CIMIS), Medicina, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Claudia Saavedra Sánchez)

*Neisseria gonorrhoeae* (Ngo) es un diplococo Gram-negativo y agente etiológico de la gonorrea, una enfermedad de transmisión sexual (ETS) caracterizada por la infección de la mucosa genital. Las principales secuelas de la gonorrea ocurren en la mujer, donde la infección puede ascender hacia las trompas de Falopio generando salpingitis, una respuesta inflamatoria aguda del tejido epitelial tubárico. La inflamación y subsecuente reparación del tejido tubárico pueden afectar severamente la función reproductiva debido al daño tisular generado por la infección gonocócica, donde la función de la matriz extracelular (ECM) así como la de las metaloproteasas (MMPs) presentes en el tejido tubárico es crítica. Sin embargo, no hay evidencia molecular de esta interacción patógeno-hospedero. El objetivo de este trabajo es identificar proteínas gonocócicas que puedan unirse a elementos de la ECM y medir los niveles de metaloproteasas (MMPs) durante la infección gonocócica. Para ello, se utilizaron cultivos primarios de células epiteliales de trompa de Falopio humana obtenidas de muestras donadas por pacientes sometidas a histerectomía voluntaria, los que se infectaron con Ngo Pil<sup>+</sup> Opa<sup>+</sup> durante 8, 12 y 24 h (n=8). Los sobrenadantes de las células infectadas se sometieron a zimografía en gelatina y reversa y las bandas de interés se identificaron mediante espectrometría de masas, mientras que se midieron los niveles de MMP-2 y MMP-9 mediante ELISA. Se lograron identificar las proteínas gonocócicas GapC unida a plasminógeno, y las proteínas PorB y TbpB unidas a MMP-2, mientras que se detectó un aumento en los niveles de MMP-2 intracelular y MMP-9 secretado durante la infección. Estos resultados sugieren que Ngo expresa proteínas capaces de interactuar directamente con elementos de la EMC y además puede modular el patrón de expresión de MMP-2 y MMP-9.

Wellcome Trust 090301 (UK), FONDECYT Iniciación 11121262 y FONDECYT 1120712 (Chile)

## Compensación metabólica del coste de fitness causado por la sobre-expresión de la bomba de expulsión de drogas MexEF-OprN en *Pseudomonas aeruginosa*

### Metabolic compensation of fitness cost associated with overexpression of the multidrug efflux pump MexEF-OprN in *Pseudomonas aeruginosa*

**Olivares Pacheco, Jorge Andrés**<sup>1</sup>, Marshall Gonzalez, Sergio Hernan<sup>1</sup>, Martínez Menéndez, José Luis<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética e inmunología Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>2</sup>Biología Microbiana Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Madrid, España. (Patrocinado por James Robeson Camus).

En términos metabólicos la adquisición de resistencia a los antibióticos se ha asociado con un posible coste en la capacidad fisiológica de los microorganismos, lo que se refleja en la disminución en el fitness de las bacterias resistentes. Recientemente hemos demostrado que la sobreexpresión de la bomba de expulsión múltiple de drogas MexEF-OprN de *Pseudomonas aeruginosa* no produce un coste metabólico cuando es sometida a experimentos clásicos de estimación de coste de fitness, sino que más bien se trata de una serie de cambios fisiológicos del organismo. Uno de estos cambios es la activación de la cadena respiratoria de nitrato en condiciones aeróbicas. MexEF-OprN es un antiporter protón/sustrato. La sobreexpresión de este elemento debería resultar en un flujo constante de protones, que podría conducir a la acidificación citoplasmática. Sin embargo esta acidificación no se observó en condiciones aeróbicas, ya que el mutante que sobre-expresa esta bomba aumenta de manera considerable el consumo de oxígeno. Este sobre consumo lo asociamos a una estrategia para eliminar la acumulación de protones, evitando así la acidificación del citoplasma. Por el contrario el pH del citoplasma disminuye en condiciones aeróbicas lo que se reflejado en la disminución de la velocidad de crecimiento y aumento de la susceptibilidad a los antibióticos en la cepa sobre-productora de MexEF-OprN. Finalmente, se determinó que la activación de la cadena respiratoria de nitrato bajo condiciones aeróbicas juega un papel en la prevención de un efecto perjudicial asociado con la sobre-expresión de MexEF-OprN. Nuestros resultados muestran que un re-dirección del metabolismo podría disminuir el coste de fitness asociado a la adquisición de resistencia a los antibióticos. De esta forma, el desarrollo de fármacos que impiden la compensación metabólica de los costes de fitness podría ayudar a reducir la persistencia y difusión de la resistencia a los antibióticos.

Dirección de Investigación Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

## Incorporaciones 3

**Microbiología descriptiva y molecular de la carie dental.**

**Lozano, C<sup>1</sup>.**, Kreth, Jens<sup>2</sup>., Lefimil, Claudia<sup>1</sup>., Urzúa, Blanca<sup>1</sup>., Morales, Irene<sup>1</sup>., Cifuentes, Victor<sup>3</sup>., <sup>1</sup>Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Odontología, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Microbiology and Immunology, College of Medicine, University of Oklahoma Health Sciences Center. <sup>3</sup>Laboratorio de Genética, Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Dra. Claudia Lefimil)

**Introducción:** Durante la caries dental predominan bacterias fermentativas y acidogénicas del género *Streptococcus* y *Lactobacillus*, principalmente. Además, hay un aumento de levaduras *Candida* comparados con individuos sanos. Se determinó la diversidad de microorganismos en saliva de niños pre-escolares con y sin caries. La interacción de *L. casei* con *S. sanguinis* en el biofilm cariogénico ha sido pobremente estudiada. Se determinó el efecto del ácido láctico producido por *L. casei* sobre la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en *S. sanguinis*.

**Metodología:** 61 niños pre-escolares, de la Región Metropolitana, fueron examinados para medir índice de caries y tomar muestras de saliva para análisis químico y microbiológico. La identificación de especies se realizó mediante test bioquímico o PCR/secuenciación. Se utilizó test estadístico Mann Whitney para los análisis. Se realizaron ensayos de competencia en medio sólido con *L. casei* ATCC334 y *S. sanguinis* SK36. A *S. sanguinis* se realizaron curvas de crecimiento con ácido láctico para determinar expresión del gen *spxB*, mediante RT-qPCR, proteína SpxB mediante W. blot y producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediante espectrofotometría.

**Resultados:** 30 y 31 niños presentaron o no caries, respectivamente. El pH fue mayor en niños sanos y la portación de levaduras fue mayor en el grupo con caries (p<0,05). En ambos grupos las especies bacterianas más frecuentes fueron *S. salivarius* y *L. rhamnosus*. Expresión relativa de *spxB* disminuye en cultivos de *S. sanguinis* suplementados con ácido láctico respecto al control. La expresión de la proteína SpxB y la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no presenta diferencias en ambas condiciones.

**Conclusiones:** La diversidad de especies de los microorganismos estudiados fue diferente en ambos grupos. Portación de *Candida*, su diversidad y bajo pH salival están directamente relacionados con presencia de caries en niños pre-escolares Chilenos. El ácido láctico producido por *L. casei* afecta la viabilidad celular y la expresión del gen *spxB* en *S. sanguinis*.

PROYECTO FONDECYT POSTDOCTORADO N°3120164 A C. LOZANO

# Comunicaciones Orales 1

## Participación de las islas de patogenicidad SPI-13 de *Salmonella* Enteritidis y SPI-8 de *Salmonella* Typhi en la internalización y supervivencia intracelular en macrófagos murinos

### Role of pathogenicity islands SPI-13 of *Salmonella* Enteritidis and SPI-8 of *Salmonella* Typhi in the internalization and intracellular survival in murine macrophages

Espinoza, Rodrigo<sup>1</sup>., Silva, Cecilia<sup>1</sup>., Santiviago, Carlos<sup>1</sup>., Contreras, Inés<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad De Chile.

*Salmonella* Typhi es un patógeno exclusivo del hombre y causa la fiebre tifoidea. Por su parte, *S. Enteritidis* es un patógeno capaz de infectar distintos hospederos animales, incluyendo humanos, roedores y aves. Análisis genómicos muestran que existe una alta identidad de secuencia entre los genomas de estos patógenos. Sin embargo, en el locus correspondiente a la isla de patogenicidad SPI-13 en *S. Enteritidis*, se encuentra la isla SPI-8 en *S. Typhi*. Esta diferencia genómica podría estar relacionada con diferencias en la capacidad de ambos patógenos para sobrevivir en macrófagos de distintos hospederos. En este trabajo se evaluó la participación de SPI-13 de *S. Enteritidis* y SPI-8 de *S. Typhi* en los procesos de internalización y supervivencia intracelular en macrófagos murinos. Para esto, se realizaron ensayos de protección a gentamicina en macrófagos RAW264.7 usando las cepas *S. Enteritidis* NCTC13349, su mutante isogénica  $\Delta$ SPI-13, *S. Typhi* STH2370, su mutante isogénica  $\Delta$ SPI-8 y las correspondientes mutantes complementadas en *trans*. Nuestros ensayos muestran que *S. Enteritidis*  $\Delta$ SPI-13 presenta un defecto en la internalización en macrófagos en comparación con la cepa silvestre. Este defecto no se observa en la mutante  $\Delta$ SPI-13 complementada en *trans*. Por otra parte, no se observan diferencias entre *S. Typhi*  $\Delta$ SPI-8 y la cepa silvestre en la internalización en macrófagos. Además, *S. Enteritidis*  $\Delta$ SPI-13 y *S. Typhi*  $\Delta$ SPI-8 no presentan deficiencias en la supervivencia en macrófagos murinos en comparación con sus respectivas cepas silvestres. Estos resultados indican que la isla SPI-13 de *S. Enteritidis* contribuye a la internalización en macrófagos murinos y no contribuye a supervivencia en estas células, mientras que la isla SPI-8 de *S. Typhi* no contribuye en la internalización ni en la proliferación intracelular en este modelo de estudio *in vitro*.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1110172 y 1140754. Beca CONICYT 21110114.

"Los factores transcripcionales ArcA y SlyA son requeridos en la virulencia durante la infección en líneas celulares de macrófagos murinos RAW 264.7 de *Salmonella* Typhimurium"



## The transcription factors ArcA and SlyA are required in virulence during infection in murine macrophages cell line RAW 264.7 of *Salmonella* Typhimurium.

**Inostroza, A<sup>1</sup>**, Briones, Alan., Valenzuela, Matías., Luraschi, Roberto., Pardo, Coral., Calderon, Ivan L., Gil, Fernando., Fuentes, Juan., Saavedra, Claudia P., <sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular, Dpto. Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Proyecto Fondecyt 1120384)

*Salmonella* Typhimurium (*S. Typhimurium*) es un patógeno intracelular capaz de generar infección sistémica en ratones. Cuando *S. Typhimurium* invade las células M del hospedero, los macrófagos representan la primera línea defensiva. Éstos están temporalmente en la lámina basal del epitelio, donde fagocitan a *Salmonella*. *S. Typhimurium* es capaz de proliferar y sobrevivir al interior de estas células que posteriormente ingresan en circulación, permitiendo la diseminación sistémica del patógeno. Al interior de los macrófagos, la bacteria enfrenta condiciones desfavorables como la producción de especies reactivas de oxígeno, específicamente de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Para enfrentar esto, *Salmonella* posee sistemas de defensa que activan factores transcripcionales que regulan la expresión de genes en respuesta al daño. Uno de éstos, es ArcA que está involucrado en la respuesta a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, regula positivamente genes implicados en el metabolismo de azúcares como *gor*, y negativamente a *ompD*, *ompW* y *lldp*. SlyA es otro factor transcripcional involucrado en virulencia, regulando numerosos genes. Nuestra hipótesis es que los factores transcripcionales ArcA y SlyA están involucrados en la regulación de genes implicados en virulencia durante el ciclo infectivo de *S. Typhimurium*. Para demostrarlo, se realizaron ensayos de adherencia, invasión y proliferación en líneas celulares de macrófagos RAW 264.7 de las cepas mutantes  $\Delta arcA$  y  $\Delta slyA$ , y se compararon con la silvestre. Además, se evaluaron por qRT-PCR genes del regulón ArcA (i.e. *ompD* y *ompW*) y del regulón SlyA. Los resultados obtenidos indican que existe una disminución de la virulencia de las cepas  $\Delta arcA$  y  $\Delta slyA$ , lo que se correlaciona con una desregulación de *ompD* y *ompW*. Con estos resultados concluimos que los factores ArcA y SlyA son requeridos en la virulencia de *S. Typhimurium*.

Proyecto Fondecyt 1120384

## La infección de hantavirus Andes induce la fosforilación de eIF2- $\alpha$ .

### eIF2- $\alpha$ phosphorylation is induced upon Andes hantavirus infection.

**Lowy, Fernando**<sup>1,2</sup>, Pino, Karla<sup>1</sup>, Solis, Loretto<sup>1,3</sup>, Lopez-Lastra, Marcelo<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>2</sup>Doctorado en Ciencias Biológicas mención Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>3</sup>Doctorado en Ciencias mención Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Patrocinado por Marcelo Lopez-Lastra)

El virus Andes (ANDV), miembro del género Hantavirus de la familia Bunyaviridae, es el agente etiológico del síndrome cardiopulmonar asociado a hantavirus (SCPH) en Chile. El genoma de ANDV está compuesto por tres segmentos de RNA de hebra simple de polaridad negativa denominados segmento largo (L) que codifica para la RNA polimerasa viral, segmento mediano (M) que codifica para las glicoproteínas de membrana y segmento pequeño (S) que codifica para la proteína de la nucleocápside (N) y para una proteína no estructural (NSs). En este trabajo se determinó que la infección de células VeroE6 con ANDV induce la fosforilación de factor de inicio de la traducción 2 en su subunidad  $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ ). Más aun, mediante RT-qPCR se estableció que existe un incremento en la expresión de genes cuya regulación es dependiente de la fosforilación de eIF2- $\alpha$ . Finalmente se establece que tanto las glicoproteínas virales como la proteína NSs, son capaces de inducir esta fosforilación.

P09/016-F Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo y Beca CONICYT 21110221.

## **Efectos de la fosforilación de residuos conservados de la proteína transactivadora Hbx del virus de la hepatitis B sobre su localización subcelular en células de hepatoma humano.**

### **Effects of the phosphorylation of conserved residues of transactivator Hbx protein of hepatitis B virus on its subcellular localization in human hepatoma cells.**

**Prieto, Cristian**<sup>1</sup>, Paredes, Rodolfo<sup>2</sup>, Villanueva, Rodrigo<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virus Hepatitis, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Escuela de Medicina Veterinaria, Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello.

El genoma del virus de la hepatitis B (HBV) codifica para una pequeña proteína reguladora denominada HBx. HBx puede trans-activar tanto genes virales como también genes celulares. La localización subcelular de HBx es controversial, dado que en cultivo celular se observa que a bajos niveles de expresión, la proteína se localiza en el núcleo mientras que a niveles altos de expresión se acumula en el citoplasma. Esta distribución dinámica puede ser esencial para que HBx ejerza sus múltiples roles durante la infección de HBV. En este trabajo, analizamos si la localización subcelular de HBx es regulada por fosforilación en aminoácidos filogenéticamente conservados, y que presentan un alto potencial de fosforilación. Para esto, se realizaron mutagénesis sitio-dirigida en los residuos conservados Ser25, Ser41 o Thr81 por alanina o ácido aspártico, para simular un estado no fosforilado o un estado fosforilado, respectivamente. Secuencias WT y mutantes de HBx fueron fusionadas al epítipo 3xFLAG o a GFP. Estas se transfectaron en líneas celulares de hepatoma humano Huh-7 o HepG2 con cantidades crecientes de DNA (baja, mediana y alta). La localización subcelular de la proteína fue analizada por inmunofluorescencia indirecta y fluorescencia mediante microscopía de epifluorescencia y confocal. Nuestros análisis indican que algunas HBx mutantes presentan un patrón de localización subcelular preferencialmente diferente en comparación a la proteína WT. Estos resultados sugieren que la distribución de la proteína HBx podría ser regulada post-traduccionalmente vía fosforilación.

Proyecto Anillos ACT 1119

## Detección de bacteriocinas en cepas bacterianas intestinales de *Oncorhynchus mykiss* (*trucha arcoíris*) con acción antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes*

### Detection of bacteriocins in intestinal bacterial strains of *Oncorhynchus mykiss* (rainbow trout) active against *Listeria monocytogenes*.

**Barrera, Andrea**<sup>1</sup>, Lobos, Olga<sup>1</sup>, Padilla, Carlos<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, laboratorio de investigación microbiológica, Facultad de ciencias de la salud, Universidad De Talca. (Patrocinado por Agradecimientos: Dirección De Postgrado De La Universidad De Talca & Magister En Ciencias Biomédicas, Universidad De Talca.)

*Listeria monocytogenes*, es un bacilo Gram-positivo ampliamente distribuido en la naturaleza. Es capaz de contaminar una variada gama de alimentos de consumo humano y causar listeriosis. Esta es una enfermedad alimentaria poco frecuente, sin embargo puede llegar a ser mortal. Además, puede desencadenar meningitis, encefalitis, septicemias y abortos espontáneos, entre otros. La población más vulnerable son las mujeres embarazadas, inmunodeprimidos, lactantes y adultos mayores. Lo anterior, ha concitado el interés por desarrollar nuevas alternativas antimicrobianas como las bacteriocinas, las que pueden ejercer su rol como biocontroladoras de este microorganismo. Se conoce que en el intestino de peces existe un importante número de especies bacteriocinogénicas, sin embargo éstas han sido poco estudiadas. En este sentido, parece interesante adentrarse en la investigación de estas cepas bacterianas con capacidad antagonica contra *Listeria*. **Hipótesis.** En el intestino de Trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*, existen cepas bacterianas productoras de bacteriocinas activas frente a *L. monocytogenes*. **Objetivo.** Detectar bacteriocinas en cepas bacterianas provenientes del intestino de *O. mykiss*, activas frente a *L. monocytogenes*. **Metodología.** las cepas bacterianas intestinales fueron aisladas y evaluada su actividad antimicrobiana sobre *L. monocytogenes*. Luego, las cepas con capacidad antimicrobiana fueron aisladas, cultivadas y caracterizadas bioquímicamente. La naturaleza proteica de la sustancia antagonica fue valorada junto a las condiciones fisicoquímicas óptimas para su producción. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. **Resultados.** Fueron detectadas cepas con actividad bacteriocinogénica frente a *L. monocytogenes*, las que se caracterizaron por ser bacilos aeróbicos Gram-negativos, fermentadores pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. **Conclusión.** Existen cepas bacterianas presentes en el intestino de *O. mykiss* con capacidad bactericida frente a bacterias de importancia clínica como *L. monocytogenes*. **Palabras claves:** Bacteriocinas, *Oncorhynchus mykiss*, *L. monocytogenes*.

## Presencia y organización genética de la isla de patogenicidad SRL en cepas de *Shigella sonnei* y *Shigella flexneri* aisladas en la Región Metropolitana previo al brote del año 2009

### Presence and genetic organization of the SRL pathogenicity island in *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* strains isolated from Región Metropolitana prior to the outbreak at 2009

**Henríquez, Tania**<sup>1</sup>, Molina, Victor<sup>1</sup>, García, Camila<sup>1</sup>, Bugueño, Marco<sup>1</sup>, Ávila, Bárbara<sup>1</sup>, Ulloa, María Teresa<sup>1</sup>, Toro, Cecilia<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. (Patrocinado por Cecilia Shirley Toro Ugalde).

*Shigella* spp. es el agente causal de la shigelosis, enfermedad que en Chile registró entre los años 2008-2009 un brote a nivel nacional, el cual fue producido por un clon de *S. sonnei* multi-resistente a antimicrobianos que portaba la isla de patogenicidad SRL (descrita originalmente en *S. flexneri* 2a). Actualmente, no existen estudios en nuestro país que señalen la presencia de la isla SRL en otros periodos y/o en otras especies de *Shigella*. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia e integridad estructural de la isla de patogenicidad SRL en cepas de *S. sonnei* y *S. flexneri* pertenecientes a 2 periodos anteriores al brote descrito (1995-1997 y 2004-2007). Para esto, se realizó la amplificación por PCR de marcadores presentes en la isla (*orf9*, *intSRL*, *orf58*) y de sus sitios de inserción en la vecindad del gen de tRNA, *serX*. Por último, se realizó una PCR sobrelapada para evaluar la organización genética y la integridad de la isla en estas cepas. Los resultados obtenidos indican que la isla SRL se encuentra presente en cepas anteriores al brote 2008-2009, tanto en *S. sonnei* como *S. flexneri*. Sin embargo, la proporción de cepas de *S. sonnei* portadoras de la isla en estos periodos es mucho menor que la observada en el brote. Finalmente, los datos señalan que las cepas portadoras presentan leves diferencias (inserciones/delecciones) con respecto a la estructura de la isla originalmente descrita en *S. flexneri*.

FONDECYT Regular 1130394

# Comunicaciones Orales 2

## Ruta de colonización y respuesta inmunológica del ostión del norte *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) frente a infección por *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, 1953)

### Colonization pathway and immune response of *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) upon infection by pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, 1953)

**García-Bartolomei, E<sup>1,2</sup>**, Cáceres-Collao, M<sup>1</sup>., Guíñez, R<sup>2</sup>., Riquelme, C<sup>3</sup>., Hengst, M<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Centro de Bioinnovación - Instituto Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Naturales Alexander Von Humboldt, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Brigitte Hengst López)

*Vibrio parahaemolyticus* es un patógeno humano oportunista que habita los sistemas costeros y es comúnmente aislado desde moluscos bivalvos, que por filtración pueden concentrar bacterias patógenas. Por ello, los bivalvos son considerados reservorios de *V. parahaemolyticus* y vectores de infección para la población humana. El ostión del norte *Argopecten purpuratus* es uno de los principales moluscos bivalvos de importancia comercial en Chile. El mayor banco natural de semillas de ostiones del país se encuentra en la bahía de Antofagasta, lugar donde ocurrió el primer brote patógeno de *V. parahaemolyticus* en humanos en Sudamérica. Bacterias del género *Vibrio* son habitantes frecuentes de diferentes tejidos del ostión del norte, por lo que es posible hipotetizar que *V. parahaemolyticus* podría colonizar a *A. purpuratus*. Los propósitos de este trabajo fueron establecer las posibles vías de colonización de *V. parahaemolyticus* sobre *A. purpuratus*, y evaluar la respuesta inmunológica del ostión a través del recuento de hemocitos. Los ostiones fueron expuestos por 12 horas a *V. parahaemolyticus* patógeno marcado con una Proteína Verde Fluorescente (GFP) y su concentración fue evaluada vía microscopía de epifluorescencia. Los resultados muestran que *V. parahaemolyticus* coloniza distintos órganos internos de *A. purpuratus*, tales como branquias, manto, digestivo y gónada. Se observó además una correlación positiva significativa entre el número de hemocitos versus la abundancia de *V. parahaemolyticus* en la hemolinfa. Por primera vez se registra asociaciones tejido específicas y conteos *in vivo* de la acumulación de *V. parahaemolyticus* en *A. purpuratus* y una respuesta inmunológica por parte del ostión frente a la colonización de *V. parahaemolyticus*. Estos resultados sugieren que *A. purpuratus* podría estar actuando como reservorio ambiental de *V. parahaemolyticus* siendo un posible vector de infección para la población humana.

FONDEF Marea Roja MR0711006, FICR 4608, CODEI 5388, CODEI-31-2010.

## ***Neisseria gonorrhoeae* induce una polarización M2 en macrófagos humanos y modula la inmunidad del huésped a través de señales inmunosupresoras**

### ***Neisseria gonorrhoeae* induces a M2 polarization of human macrophages and modulate host immunity through immunosuppressive signals**

**Escobar, A<sup>1</sup>.**, Ortiz, Carolina<sup>2</sup>., Garcia, Killen<sup>1</sup>., Acuña, Claudio<sup>3</sup>., Lopez, Mercedes<sup>4</sup>., Imarai, Monica<sup>3</sup>., <sup>1</sup>INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS, ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE CHILE. <sup>2</sup>Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Odontología, Universidad De Chile. <sup>3</sup>Inmunología, Química y biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>4</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, Medicina, Universidad De Chile.

**INTRODUCTION:** *Neisseria gonorrhoeae* is the etiological agent of gonorrhoea, a sexually transmitted disease widespread throughout the world, with an estimated 60 million new cases per year. Infections with gonococcus do not improve immune response in re-infected patients, suggesting that gonococcus displays several mechanisms to evade immune response. Macrophages are an essential component of innate immunity with a central role in host defense. In response to various signals, macrophages may undergo classical-M1 activation or alternative-M2 activation. Until now there are no reports of the gonococcus' effect on human macrophages polarization and its consequences in the infection. **METHODS:** We assessed the phagocytic ability of monocytes-derived macrophages by immunofluorescence and gentamicin protection experiments. Then we evaluated by flow cytometry M1/M2 specific-surface markers on macrophages challenged with *N. gonorrhoeae* and proliferative capacity of effectors T cells. **RESULTS:** We demonstrated that in gonococcus exposed macrophages there were up-regulation of M2-associated markers and down-regulation of M1-associated markers. Moreover, *N. gonorrhoeae* exposure leads to up-regulation of a number of secreted and cell surface proteins with immunosuppressive properties, particularly IL-10 and Programmed Death Ligand 1 (PD-L1). We also show that *N. gonorrhoeae* is able to inhibit macrophage-induced proliferation of human T-cells and it can be reversed using blocking antibodies. **CONCLUSION:** We think that macrophage M2 phenotype can favour gonococcus against host defence during infection and this effect could explain in part the immune evasion observed in *N. gonorrhoeae* infected patients.

**FONDECYT 11110304**



## La secuencia del genoma de *Yersinia ruckeri* O1b, un patógeno emergente que produce yersiniosis en peces vacunados en Chile.

### The genome sequence of *Yersinia ruckeri* O1b, an emerging pathogen that causes yersiniosis in vaccinated fish in Chile.

**Mancilla, M<sup>1</sup>.**, Navas, E<sup>1</sup>.,Bohle, H<sup>1</sup>.,<sup>1</sup>Investigación & Desarrollo ADL Diagnostic Chile Ltda. (Patrocinado por ADL Diagnostic Chile Ltda)

*Yersinia ruckeri* es el agente etiológico de la enfermedad de la boca roja o ERM (enteric redmouth disease), cuadro bacteriano septicémico que conlleva a pérdidas importantes en la salmicultura mundial. La patología, especialmente virulenta en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), se controló con la introducción de vacunas en Chile hace más de una década. Sin embargo, desde 2008 se vienen reportando brotes esporádicos en peces vacunados de la especie salmón Atlántico (*Salmo salar*).

El objetivo del trabajo fue obtener mayores antecedentes que expliquen la protección reducida de la vacuna. Para ello, se obtuvo el borrador de la secuencia del genoma de la bacteria a partir de un aislado de campo de *Y. ruckeri* serotipo O1b. La secuenciación se llevó a cabo con un equipo Illumina MiSeq con el que se obtuvo una cobertura de 254x. La anotación con Blast2Go, tRNA-Scan y RNAmmer predijo 3,406 marcos de lectura abiertos (ORF, open reading frames), 56 tRNAs y 4 rRNAs. El ensamblaje de la secuencia produjo 75 contigs. El análisis comparativo con la secuencia de la cepa clásica Hagerman de referencia (serotipo O1) indicó que, no obstante la similitud en genes relacionados con la síntesis del lipopolisacárido, la cepa O1b posee genes adicionales que codifican para fimbrias, hemolisinas y proteínas de resistencia a betalactámicos. La presencia de genes de toxicidad para insectos y un gen que codifica para una proteína con dominio Tir, hacen de esta cepa particularmente interesante.

En resumen, los resultados de secuenciación indican que el genoma de *Y. ruckeri* O1b contiene genes de virulencia clásicos, pero también marcadores adicionales que podrían estar relacionados con el escape inmunitario mostrado por este patógeno emergente.

FONDECYT 11130347

## Detección de genes de secretina para la identificación de nuevos loci de adhesinas en cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénica.

### Detection of usher genes to identify novel adhesin loci in enterotoxigenic *Escherichia coli* strains.

**Del Canto, Felipe**<sup>1</sup>, Gutiérrez, Daniela<sup>1</sup>, Céspedes, Sandra<sup>1</sup>, Pop, Mihai<sup>2</sup>, Hill, Chris<sup>2</sup>, Rasko, David<sup>3</sup>, O’Ryan, Miguel<sup>1</sup>, Stine, O. Colin<sup>4</sup>, Vidal, Roberto<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Center for Bioinformatics and Computational Biology University of Maryland, College Park, Maryland, EEUU. <sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, Institute for Genomic Sciences University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, EEUU. <sup>4</sup>Department of Epidemiology and Public Health University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, EEUU.

*Escherichia coli* enterotóxicígenica (ETEC) es causa importante de diarrea. A pesar de que se han descrito 25 adhesinas en ETEC, un porcentaje significativo de cepas resulta negativo su detección. Dentro de las adhesinas de ETEC, 18 corresponden a estructuras multiméricas ensambladas mediante el mecanismo secretina-chaperona. Dentro de los genes que codifican estas estructuras, los genes de secretinas son los más conservados y han determinado una clasificación en nueve familias, representadas por letras del alfabeto griego, válida también en diversas especies bacterianas.

En este trabajo se realizó la búsqueda de secuencias homólogas a genes de secretina en genomas de 36 cepas de ETEC negativas para la detección de adhesinas. Se utilizó como base 144 secuencias de genes de secretinas de las familias: alfa (9 genes), beta (5), gamma-1 (14), gamma-2 (7), gamma-3 (15), gamma-4 (40), kappa (9), pi (25) y sigma (20). La búsqueda se realizó utilizando Large Scale - Blast score ratio, incluyendo además ocho genomas de cepas de *E. coli* no patogénicas y 65 de cepas ETEC que portaban adhesinas.

Se encontró homólogos de genes de secretinas de todas las familias, exceptuando la familia sigma. El caso más llamativo se dió con los homólogos de la familia gamma-2. Homólogos a CswD, ECP\_3814, FasD y FotD fueron detectados en 21 genomas de cepas negativas para la detección de adhesinas, mientras que no fueron encontrados en genomas de cepas de *E. coli* no patogénicas. Otros casos similares, aunque menos abundantes, se dieron con homólogos de tres genes de secretinas de la familia gamma-4 (ECs\_0022, ECs\_2915 y ECs\_0143) y siete de la familia pi (SfpC, AHA\_0521, ECA\_0942, ECs\_3221, PixC, PmfC y YfcUT).

La identificación de genes de secretina constituye un punto de partida en la identificación de nuevos determinantes de adherencia en cepas de ETEC.

Proyectos Fondecyt 3130555 y 1110260. Bill and Melinda Gates Foundation Grants ID 38874 and 1016839

## **Potencial antimicrobiano de la bacteria Antártica *Pseudomonas sp. 6A1* contra bacterias multirresistentes humanas y patógenos asociados a alimentos.**

### **Antimicrobial potential of the antarctic strain *Pseudomonas sp. 6A1* against multidrug-resistant human bacteria and food-borne pathogens.**

**Montoya, Marcelo**<sup>1,2</sup>, Gallardo-Cerda, Jorge<sup>2</sup>, González-Aravena, Marcelo<sup>2</sup>, Marshall, Sergio<sup>3</sup>, Cárdenas, Constanza<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Laboratorio de Biorrecursos Antárticos, Depto. Científico Instituto Antártico Chileno. <sup>3</sup>Instituto de Biología Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>4</sup>Núcleo Biotecnológico de Curauma (NBC) Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por Gerardo Gonzalez-Rocha).

El notorio aumento en la aparición de patógenos multirresistentes a antibióticos en las últimas dos décadas ha vuelto urgente buscar nuevas fuentes de compuestos antimicrobianos para la contención y tratamiento de enfermedades infecciosas. En este sentido, los microorganismos antárticos se presentan como un candidato interesante, pues ha sido postulado que la producción de compuestos antimicrobianos podría jugar un rol fundamental en la competencia entre especies sometidas al estrés de un ambiente extremo. El presente estudio se centra en la purificación y comprobación de la actividad antibacteriana de un compuesto tipo bacteriocina producido por la cepa *Pseudomonas sp. 6A1* aislada de la Isla Rey Jorge (Antártica).

Para la obtención del compuesto se creció la bacteria en medio LB a 14°C. La purificación preparativa del compuesto desde el sobrenadante libre de células se realizó por extracción en fase sólida con columna C18 y la purificación definitiva se hizo desde la fracción 60%ACN por medio de RP-HPLC en una columna C18, recuperando un pico con alta actividad. La actividad antimicrobiana del compuesto fue medida por medio de ensayos en microplacas. Se realizó adicionalmente un tratamiento de esta fracción con proteasa para comprobar la naturaleza proteica del compuesto.

El compuesto purificado mostró actividad superior al 95% de inhibición del crecimiento contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Presentó además actividad contra bacterias multirresistentes a antibióticos betalactámicos y carbapenémicos. El tratamiento con Proteinasa K eliminó la actividad inhibitoria del compuesto. El pico purificado activo fue visualizado como una banda de entre 7 y 10kDa en electroforesis de proteínas. La banda transferida a una membrana de nitrocelulosa mostró actividad contra *S. aureus* y *E. coli*.

Este descubrimiento podría convertirse en el primer reporte de bacteriocinas provenientes de *Pseudomonas* acuáticas antárticas, representando un potencial gran avance hacia el control de patógenos clásicos relevantes y multirresistentes.

Proyecto Innova 11IDL2-10651

## Modulación de la formación de biopelículas en *Streptococcus pyogenes* mediante regulación por quorum sensing de una putativa proteína inhibidora de cisteína proteinasas.

### Modulation of biofilm formation in *Streptococcus pyogenes* by quorum sensing-regulation of a putative cysteine proteinase inhibitor protein.

Jiménez, Juan Cristóbal<sup>1</sup>, Chang, Jennifer C.<sup>2</sup>, Federle, Michael J.<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunology, College of Medicine, University of Illinois at Chicago. <sup>2</sup>Center for Pharmaceutical Biotechnology, College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago.

En una variedad de especies, los procesos de comunicación intercelular (quorum-sensing, QS) están relacionados con el desarrollo de biopelículas bacterianas. En el patógeno *Streptococcus pyogenes*, el crecimiento en biopelículas está ligado a procesos de colonización del hospedero. Nuestro grupo ha descrito un sistema QS basado en la actividad de los factores de transcripción antagónicos Rgg2 y Rgg3 y las feromonas peptídicas SHP2 y SHP3. Estudiamos el rol del sistema Rgg2/3 sobre la formación de biopelículas en *S. pyogenes*. Resultados revelaron que la adición de feromonas SHP a medios de cultivo y la consecuente activación de la vía Rgg2/3 generan un aumento en la agregación bacteriana y en la capacidad formadora de biopelículas. Deleciones en genes regulados por Rgg2/3 revelaron que la mutación de *stcB*, gen que codifica una proteína similar a inhibidores de cisteína proteinasas, es capaz de suprimir el aumento de biopelículas en respuesta a feromonas SHP. Luego realizamos mutaciones de genes que codifican miembros de la superfamilia cisteína proteinasa con el fin de encontrar la proteasa modulada por StcB. Estos experimentos apuntaron a la proteína Isp2, una peptidasa involucrada en procesos de modificación de la pared celular. Adicionalmente, la activación de la vía Rgg2/3 y la expresión de *stcB* generan un aumento en la resistencia al tratamiento con lisozima. Estos resultados sugieren que *S. pyogenes* utiliza el circuito de QS Rgg2/3 para modular cambios en su envoltura a través de la proteína StcB, que conllevan a procesos de aumento de biopelículas. Finalmente, mediante el uso de compuestos que bloquean la ruta Rgg2/3, demostramos la capacidad de bloquear el aumento en biopelículas y modulando el comportamiento microbiano mediante la manipulación de circuitos de QS.

Financiado por CONICYT Beca Chile Doctorado

## Ensayo de comparación inter-laboratorios para evaluar las técnicas utilizadas en el diagnóstico del virus IPN

### Inter-laboratory comparison test to evaluate the techniques used for the diagnosis of IPN virus

**Tapia, D<sup>1</sup>**, Eissler, Yoanna<sup>1</sup>, Espinoza, Juan Carlos<sup>1</sup>, Kuznar, Juan<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad De Valparaíso. (Patrocinado por Maria Yoanna Eissler Parada).

El virus IPN (IPNV) es el agente etiológico de una enfermedad altamente contagiosa que afecta a salmónidos. En Chile, causa grandes pérdidas económicas y es uno de los patógenos detectado con mayor frecuencia por laboratorios de diagnóstico. Debido a su alta persistencia en el país, se realizó un ensayo de comparación inter-laboratorios (ring-test) con el fin de evaluar la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas para la detección del IPNV. Grupos de muestras en medio de cultivo fueron preparadas, codificadas y enviadas a 12 laboratorios de diagnóstico. Cada panel de muestras contenía: diluciones seriadas de dos cepas del virus, suspensiones de células sin infectar, una suspensión de otro virus y medio de cultivo libre de virus. Se solicitó a todos los laboratorios analizar las muestras según sus protocolos rutinarios, ya sea por RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR) o ensayos de inmunofluorescencia (IFAT). Los resultados mostraron una alta sensibilidad y especificidad para la técnica de qRT-PCR en la mayoría de los laboratorios. Tres de los 12 laboratorios presentaron valores inferiores a 100% en sensibilidad y solo uno en especificidad. La técnica de IFAT fue informada por 4 laboratorios, de los cuales uno presentó valores de sensibilidad bajo 100%. Los problemas de especificidad correspondieron probablemente a contaminación cruzada entre las muestras, mientras que los errores de sensibilidad se presentaron en la detección de la muestra con menor concentración del virus. Siendo este el primer registro de un ring-test para el IPNV en Chile, se propone realizar este tipo de ensayos regularmente con el propósito de comprobar y mejorar los métodos de diagnóstico utilizados por los laboratorios, además de definir un protocolo común y estandarizado para la detección del IPNV.

Proyecto SUBPESCA, R.EX N°1548, código 2013-32-17, y CIGREN proyecto DIUV-CID N° 01/03

# Comunicaciones Orales 3

## Caracterización y funcionalidad del gen *CYP51* de *Xanthophyllomyces dendrorhous* involucrado en la biosíntesis de ergosterol

### Characterization and functionality of the *CYP51* gene of *Xanthophyllomyces dendrorhous*, which is involved in ergosterol biosynthesis

Leiva, K<sup>1</sup>, Werner, N<sup>1</sup>, Sepúlveda, D<sup>1</sup>, Baeza, M<sup>1</sup>, Cifuentes, V<sup>1</sup>, Alcaíno, J<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Genética, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile, kritsye@gmail.com. (Patrocinado por Jennifer Alcaíno Gorman).

*X. dendrorhous* es una levadura que sintetiza astaxantina, un carotenoide de gran interés biotecnológico. Actualmente, estudios de regulación de la vía carotenogénica en este microorganismo demostraron que los esteroides cumplen un rol importante en la carotenogénesis. Cabe destacar que las vías de síntesis de carotenoides y de esteroides derivan de la vía del mevalonato y en ambas rutas, participan enzimas citocromo P450 (CYPs). Las CYPs comprenden una superfamilia de proteínas, donde destaca la familia CYP51 con actividad C14-desmetilasa de esteroides. El objetivo del trabajo fue caracterizar y estudiar la funcionalidad del gen *CYP51* de *X. dendrorhous* involucrado en la biosíntesis de ergosterol. Mediante análisis bioinformático del genoma y transcriptoma de la levadura, se identificó un posible gen *CYP51*, cuya funcionalidad se estudió por complementación heteróloga en una cepa de *S. cerevisiae* mutante para dicho gen. Se realizó un análisis fenotípico de la cepa transformante mediante construcción de curvas de crecimiento y análisis de producción de esteroides. Además, se evaluó el impacto de la eliminación de un alelo del gen *CYP51* de *X. dendrorhous* en cuanto a producción de carotenoides y esteroides. Los resultados revelaron un aumento de 30% del contenido de carotenoides y disminución de un 36% del contenido de esteroides respecto a la cepa silvestre de *X. dendrorhous* después de 120 h de cultivo. Debido a que la expresión de dicho gen complementa la deficiencia de la enzima 14C-desmetilasa permitiendo su sobrevivencia y la biosíntesis de ergosterol en *S. cerevisiae*, y su mutación en *X. dendrorhous* altera la producción de esteroides y carotenoides, se concluye que efectivamente el gen *CYP51* de *X. dendrorhous* participa en la biosíntesis de ergosterol.

FONDECYT 11121200

## LA INFECCIÓN NEURONAL CON HERPES SIMPLEX VIRUS TIPO 1 ALTERA LA EXPRESIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LA PROTEÍNA Arc Y DEL RECEPTOR AMPA IMPLICADOS EN PLASTICIDAD SINÁPTICA Y CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA.

### Neuronal infection with Herpes Simplex Virus Type 1 alters the expression and distribution of Arc protein and AMPA receptor involved in synaptic plasticity and memory consolidation.

**Acuña-Hinrichsen, Francisca<sup>1</sup>,** Muñoz, Mariela<sup>1</sup>, Martín, Carolina<sup>1</sup>, Leyton, Luis<sup>1</sup>, Nuñez, Magdalena<sup>1</sup>, Burgos, Patricia<sup>2</sup>, Concha, Margarita<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral De Chile. <sup>2</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral De Chile. <sup>3</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile. (Patrocinado por Carola Otth Lagunas)

Herpes simplex virus tipo 1 (HSV-1) es un virus neurotrópico capaz de producir una infección persistente latente con frecuentes cuadros de reactivación. Actualmente, HSV-1 es considerado un factor de riesgo de patologías neurológicas crónicas y neurodegenerativas relacionadas al envejecimiento. Al respecto, Arc es una proteína postsináptica que participa en modificaciones del citoesqueleto de actina y regula la endocitosis de receptores AMPA; procesos vinculados con la consolidación de memoria y plasticidad sináptica. El presente estudio evaluó cambios de expresión y distribución subcelular de la proteína Arc y del receptor AMPA (subunidad GluR1) durante una cinética de infección con HSV-1 (moi 10) en neuroglioma humano, mediante análisis de Inmunofluorescencia y *Western blot*. Nuestros resultados muestran un incremento en la inmunodetección de Arc a 2-4 horas postinfección (hpi) con una localización citoplasmática homogénea; para luego (4-8 hpi) presentar una distribución perinuclear. Asimismo, se observó un incremento en la inmunoreacción puntiforme para GluR1 en zonas cercanas a la membrana en células infectadas (8 hpi), en comparación con células no infectadas. Adicionalmente, desde las 2 hpi se observa una alterada distribución citoplasmática de marcadores endosomales, presentando superposición de señal con Arc. Nuestros resultados sugieren que la infección neuronal por HSV-1 induce cambios en la expresión y distribución de proteína Arc alterando la distribución del receptor AMPA y de marcadores endosomales. La disfunción de Arc a nivel endosomal puede tener consecuencias en el tráfico de proteínas celulares como también en el egreso de un virion completo. Futuros estudios son necesarios para dilucidar los mecanismos celulares modulados durante una infección viral que puedan gatillar pérdida de función neuronal.

FONDECYT 120464, DID-UACH, MECESUP AUS1203.



## Distribución del gen *bchY* en un tapete microbiano desde el Salar de Huasco.

### Distribution of *bchY* gene in microbial mats from Salar de Huasco.

**Vejar, Drina**<sup>1,2,3</sup>, Dorador, Cristina<sup>1,2,3</sup>, Aguilar, Pablo<sup>1,2,3</sup>, Cornejo, Diego<sup>1,2,3</sup>, Molina, Verónica<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta Universidad De Antofagasta. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Naturales Universidad de Playa Ancha. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz)

El Salar de Huasco es un humedal atalohasohalino que se encuentra en el Altiplano Chileno a 3800 m.s.n.m., presentando condiciones físico-químicas únicas. Debido a esto, se encuentra una gran diversidad de microorganismos, asociados principalmente a tapetes microbianos, las cuales son estructuras laminares temporales. Uno de los grupos importantes presentes en estos microambientes son las bacterias fotótrofas, que pueden desempeñar un rol importante en la dinámica de la cadena trófica, sin dejar de considerar su importancia en el proceso biológico de la fotosíntesis y ciclo del C.

Para observar la distribución de bacterias fotótrofas en cada capa del tapete vertical, se realizó la amplificación del gen funcional *bchY*, involucrado en la producción del pigmento fotosintético bacterioclorofila, y posterior clonamiento y análisis de las secuencias obtenidas, revelando la heterogeneidad genética en poblaciones microbianas fotótrofas. Se observaron 6 capas de las cuales, hasta el momento se tienen las secuencias de 4 capas con un total de 284 secuencias del tapete (de un 1 mm espesor por capa), las cuales fueron afiliadas a los phyla Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria y Betaproteobacteria. Además, se pudo verificar un patrón de distribución vertical específico para cada capa del tapete microbiano caracterizado por la presencia y abundancia relativa de: i) *Bradyrhizobium* sp. (capa 1; 33, 3%); ii) *Rubrivivax* sp. (capa 2; 11, 1%); iii) *Rhodopseudomonas* sp. (capa 3; 10, 1%) y iv) *Sphingomonas* sp. (capa 4, 9,2%). Miembros del clado *Roseobacter* están presentes en todas las capas del tapete y son los que presentaron la mayor diversidad genética en el grupo de las bacterias anoxigénicas aeróbicas.

CODEI-UA 5380; FONDECYT 1110953, 1140179, 1140356, 1110824; Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia.

## Caracterización de regiones regulatorias de la unidad transcripcional *mceBA* del sistema productor de microcina e492.

### Characterization of regulatory regions of *mceBA* genes from microcin e492 production system.

**Argandoña Vargas, Yerko<sup>1</sup>**, Monasterio Opazo, Octavio<sup>1</sup>, Lagos Monaco, Rosalba<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biología Estructural y Molecular (BEM), Facultad de Ciencias, Universidad de Chile . (Patrocinado por Rosalba Lagos Mónaco)

La microcina E492 es una bacteriocina con actividad formadora de poros producida por la enterobacteria *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Su síntesis ocurre a partir del gen *mceA* el cual conforma una unidad transcripcional con el gen *mceB*, codificante para la proteína de inmunidad. Ambos genes están solapados por 19 pb, donde el primer ATG y el sitio de unión al ribosoma de *mceA* se encuentran en el extremo 3' de *mceB*. Así el promotor (P1) que comanda la transcripción de esta unidad se encuentra río arriba del gen *mceB*. Utilizando una construcción que contiene la unidad *mceBA* fusionada traduccionalmente a *lacZ* (pMceBA'-*LacZ*) y realizando ensayos de Miller se observa que estos genes se expresan en fase exponencial y estacionaria de crecimiento. A partir de pMceBA'-*LacZ* se generó una construcción a la cual se le eliminó el promotor y los primeros 80 pb de *mceB* (p $\Delta$ P<sub>1</sub>MceB80'-*LacZ*) y se observa que la expresión cae dos órdenes de magnitud. Sin embargo al utilizar una construcción a la cual se le eliminó solo la región promotora P1 y se deja la unidad *mceBA* intacta (p $\Delta$ P<sub>1</sub>'-*LacZ*), la expresión se recupera y es comparable a la de la fusión pMceBA'-*LacZ*. Por último al generar una nueva fusión a partir de p $\Delta$ P<sub>1</sub>'-*LacZ* que contiene *lacZ* fusionado al primer codón de *mceB* (p $\Delta$ P<sub>B2</sub>'-*LacZ*), vale decir no tiene ni el promotor P1 ni la unidad *mceBA*, la actividad  $\beta$ -galactosidasa cae nuevamente. Estos resultados sugieren fuertemente la existencia de un promotor interno en los primeros 80 pb del gen *mceB* (P2) el cual podría estar comandando diferencialmente la expresión del gen *mceA*, codificante para microcina E492.

Proyecto FONDECYT 1140430

## Evaluación de la actividad ADP-ribosiltransferasa de NarE de *Neisseria gonorrhoeae*.

### Evaluation of ADP-ribosyltransferase activity of NarE from *Neisseria gonorrhoeae*.

**Alvarez, Francisca P.**<sup>1</sup>, Echeverría, Valentina<sup>1</sup>, Christodoulides, Myron<sup>2</sup>, Rodas, Paula I.<sup>1</sup>, <sup>1</sup>CIMIS Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Sir Henry Wellcome Laboratories University of Southampton Medical School.

*Neisseria gonorrhoeae* (Ngo) es una bacteria Gram-negativo, patógeno exclusivo del ser humano y agente etiológico de la enfermedad de transmisión sexual gonorrea. Esta enfermedad posee tratamiento y cura, sin embargo es un problema de salud pública debido a la multirresistencia a antimicrobianos que posee Ngo y las secuelas crónicas que puede dejar en la mujer, ya que la infección puede ascender hasta las trompas de Falopio produciendo salpingitis y con ello el riesgo de infertilidad. A pesar que Ngo es un patógeno extracelular, también es capaz de invadir las células del epitelio tubárico mediante el remodelamiento del citoesqueleto. Sin embargo se desconocen las bases moleculares de esta remodelación. En Ngo se ha reportado la presencia del gen *narE*, previamente identificado en *Neisseria meningitidis* que codifica para la toxina NarE, una ADP-ribosiltransferasa (ADPRT). Se han reportado ADPRTs en otros patógenos bacterianos, donde participan en la invasión bacteriana mediante la modificación de proteínas del citoesqueleto de la célula blanco. El principal objetivo de este trabajo es evaluar la actividad ADPRT de NarE de Ngo. En este trabajo se realizó el clonamiento y la expresión de este gen utilizando el sistema de expresión pET24b+; después de la inducción de la expresión de *narE* se purificó la proteína NarE-6xHis mediante cromatografía de afinidad en columna de níquel y se analizó mediante el sistema NuPAGE SDS-PAGE (gel en gradiente 4-12%). La evaluación de la actividad enzimática de NarE-6xHis se realizó mediante un ensayo de ADP-ribosilación *in vitro* e inmunoblotting utilizando como sustrato el sobrenadante posnuclear de la línea celular humana HEp-2. Se obtuvieron tres bandas de aproximadamente 14 kDa, 17 kDa y 38 kDa indicativas de ADP-ribosilación. Estos resultados sugieren que la toxina NarE de Ngo posee actividad ADPRT sobre blancos presentes en el sobrenadante posnuclear de la línea celular humana HEp-2.

FONDECYT INICIACIÓN 11121262

WELLCOME TRUST 090301 (UK)

## Rol de la Isla de Patogenicidad 16 de *Salmonella* (SPI-16) en la colonización sistémica de cuatro serovares de *Salmonella enterica* en un modelo murino de salmonelosis

### Role of SPI-16 in the systemic colonization by four serovars of *Salmonella enterica* in a murine model of salmonellosis.

**Sabag, Andrea**<sup>1</sup>, Valenzuela, Camila<sup>1</sup>, Morgado, Constanza<sup>1</sup>, Álvarez, Sergio<sup>1</sup>, Santiviago, Carlos<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad De Chile. (Patrocinado por Carlos Alberto Santiviago Cid).

La Isla de Patogenicidad 16 de *Salmonella* (SPI-16) está presente en el genoma de distintos serovares de *Salmonella enterica*, incluyendo "generalistas" como *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* y "especialistas" como *S. Typhi* y *S. Gallinarum*. SPI-16 está compuesta por los genes *STM0557*, *STM0558* y *STM0559*, que codifican proteínas requeridas para la generación de la variante 12-2 del antígeno-O. Esta modificación corresponde a la adición de una molécula de glucosa en el C4 de la galactosa presente en el antígeno O12 y ha sido relacionado con la persistencia de *S. Typhimurium* en el intestino de ratones resistentes a infecciones por *Salmonella*. Datos obtenidos en nuestro laboratorio a partir de análisis globales de mutantes bajo selección negativa *in vivo* en varios serovares de *S. enterica* indican que los genes codificados en SPI-16 son requeridos para la colonización sistémica de *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* y *S. Typhi* en ratones BALB/c. Para verificar los fenotipos observados, se construyeron mutantes  $\Delta$ SPI-16 mediante reemplazo alélico en cepas representativas de estos serovares y se evaluó su capacidad de colonizar sistémicamente ratones BALB/c mediante ensayos de competencia *in vivo* con las cepas silvestres respectivas. Luego de 48 horas post-infección, se recuperó la población de bacterias presentes en el hígado y el bazo y se determinaron los títulos de cada mutante y su correspondiente cepa silvestre. En concordancia con los resultados de nuestros análisis globales, mutantes  $\Delta$ SPI-16 de los tres serovares estudiados presentan marcados defectos de colonización en ambos órganos. Estos resultados demuestran la importancia de SPI-16 en la patogenicidad de serovares generalistas y especialistas de *S. enterica*. Actualmente, estamos evaluando si SPI-16 cumple un papel importante en la colonización sistémica de otro serovar especialista, *S. Gallinarum*.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1110172 y 1140754. Beca CONICYT 22140758.

## Efecto de la temperatura en la formación de biopelículas sobre pirita en una nueva cepa *Acidithiobacillus ferrivorans* aislada desde el Altiplano Chileno

### Effect of temperature in the biofilm formation on pyrite of a new strain *Acidithiobacillus ferrivorans* isolated from the Chilean Altiplano

**Barahona, Sergio**<sup>1,2,3</sup>, Dorador, Cristina<sup>2,3,1</sup>, Remonsellez, Francisco<sup>4</sup>,<sup>1</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad De Antofagasta.<sup>2</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta.<sup>3</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta Universidad De Antofagasta.<sup>4</sup>Laboratorio de Tecnologías de membranas, Biotecnología y Medio Ambiente, Departamento de Ingeniería Química Universidad Católica Del Norte. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz).

El uso de microorganismos para acelerar la solubilización de metales bases desde minerales sulfurados es actualmente una tecnología aplicada en minas de cobre alrededor del mundo. El ataque selectivo y la formación de biopelículas sobre superficies de sulfuros metálicos por microorganismos acidófilos juegan un importante rol en ambientes lixiviantes industriales y naturales. A pesar de que se ha reportado la oxidación biológica de minerales a bajas temperaturas así como también la existencia de cepas hierro oxidantes psicrotolerantes, el ataque a los minerales y la formación de biopelículas en ambientes fríos ha sido poco estudiado.

En un estudio previo identificamos y caracterizamos una nueva cepa psicrotolerante *Acidithiobacillus ferrivorans* (cepa ACH) desde el río ácido Aromo ubicado en Altiplano Chileno, la cual es capaz de oxidar hierro, azufre y compuestos reducidos de azufre. El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de adherencia y formación de biopelículas sobre pirita a baja temperatura en *At. ferrivorans* ACH. La cepa ACH fue crecida en matraces a 10° y 28°C durante 30 días utilizando pirita como única fuente de energía. Los cultivos no mostraron gran diferencia en su densidad celular (6,1-6,5 células/mL), y además las células en ambas condiciones mostraron la presencia de posibles sustancias poliméricas extracelulares (EPS) mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). La adherencia al mineral fue visualizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) en granos de pirita para ambas condiciones de cultivo. Los resultados indicaron un gradual aumento de células adheridas al mineral sin importar la temperatura después de 15 días de crecimiento, y una alta densidad de células formando una monocapa sobre la superficie de pirita se observaron después de 30 días de crecimiento, en ambas temperaturas en estudio. Por lo tanto, este trabajo demuestra que la formación de biopelículas no es afectada a bajas temperaturas en *At. ferrivorans* ACH.

**Proyecto FONDEF-VIU 120037; FONDECYT 1110953.**

# Comunicaciones Libres Paneles 1

## **Función de la proteína vp1 del virus de la necrosis pancreática infecciosa de salmon (IPNV) en el apagamiento de la traducción cap-dependiente.**

### **Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) vp1 protein function on cap-dependent translation downregulation.**

**Oyarzun, Aaron**<sup>1</sup>, Sandino, Ana Maria<sup>1</sup>, Vargas, Deborah<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (Patrocinado por Ana Maria Sandino)

El virus de la necrosis pancreática infecciosa de salmón (IPNV) es un virus de alto impacto en la industria acuícola mundial incluyendo Chile. Este virus posee un genoma de RNA de doble hebra bisegmentado. El segmento B del genoma codifica para la proteína de 95 kD, denominada VP1 cuando está libre, correspondiendo a la RNA polimerasa RNA dependiente del virus, y denominada VPg cuando se encuentra unida covalentemente a los extremos 5' del RNA genómico. Se ha demostrado que VP1 de IPNV es capaz de inhibir la traducción Cap dependiente en células embrionarias de salmón Chinook (CHSE-214). Además, estudios de doble híbrido en VP1 del virus de la enfermedad de bursitis infecciosa (IBDV), otro birnavirus igual que IPNV, muestran una interacción entre dicha proteína y el factor de inicio de la traducción eIF4A, factor esencial para la traducción Cap dependiente e independiente. Estos antecedentes sugieren que la proteína VP1 de IPNV podría estar inhibiendo la síntesis de proteínas celulares, mediante su interacción con factores de inicio de la traducción (eIFs). Con el objetivo de realizar el análisis de interacción de la proteína VP1 con eIFs, ésta fue expresada en células *Escherichia coli*, utilizando el vector recombinante de expresión pET21a/VP1, se purificó por cromatografía de afinidad en columna de Ni-NTA agarosa y por cromatografía de exclusión molecular usando una columna *Superdex* 200. La proteína VP1 purificada se utilizó en ensayos de co-inmunoprecipitación usando lisados citoplasmáticos de células CHSE-214 con el fin de determinar la composición de los complejos asociados a la proteína VP1. Los resultados obtenidos probablemente permitirán proponer el mecanismo por el cual VP1 disminuye la traducción Cap dependiente y favorecer la traducción de las proteínas virales.

Innova Corfo 13CTI-21527

## Caracterización y análisis de expresión de IgM secretora de *Salmo salar*

### Characterization and expression analysis of IgM secretory of *Salmo salar*

**Bastías-Riveros, Paulina**<sup>1.</sup>, Valdes, Natalia<sup>2.</sup>, González-Catrilebún, Sebastian<sup>1,3.</sup>, Morales-Reyes, Jonathan<sup>6.</sup>, Tello, Mario<sup>1,4.</sup>, González-Bown, María José<sup>1,6.</sup>, Sandino, Ana María<sup>1,5.</sup>, Reyes-Cerpa, Sebastian<sup>6,1.</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Unidad de Apoyo Bioinformático, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Virología Molecular Ictio Biotechnologies. <sup>4</sup>Laboratorio de Peces, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>5</sup>Laboratorio de Virología ActivaQ SA. <sup>6</sup>Laboratorio de Patógenos de Peces Ictio Biotechnologies. (Patrocinado por Ana María Sandino).

En *Salmo salar* se ha descrito que IgM presenta una forma unida a membrana y otra secretora. La forma unida a membrana se relaciona con células inmunes que no han sido activadas, en cambio, la forma secretora se relaciona con una respuesta inmune activa y en desarrollo. En *Salmo salar* se desconoce la secuencia nucleotídica completa para discriminar entre ambas formas de IgM. Por ello, en este trabajo se propone obtener la secuencia de IgM<sub>H</sub> secretora, con el fin de evaluar su expresión *in vivo* frente a *Piscirickettsia salmonis* y *Flavobacterium psychrophilum*.

Utilizando las secuencias de *Salmo salar* disponibles en *Genbank* se obtuvo secuencia variable de IgM<sub>H</sub>, mediante RACE PCR y análisis bioinformático se obtuvo la secuencia constante de IgM<sub>H</sub> secretora. La secuencia completa de IgM<sub>H</sub> fue identificada, de modo que, las diferencias entre la forma unida a membrana y la secretora fueron establecidas mediante alineamientos múltiples, apoyados con otras secuencias ya descritas para otras especies salmónidas. Posteriormente, alevines de *Salmo salar* fueron desafiados con *P. salmonis* y *F. psychrophilum*, con el propósito de evaluar la expresión de ambas formas de IgM<sub>H</sub> mediante qRT-PCR.

La secuencia de IgM<sub>H</sub> secretora obtenida por RACE PCR fue altamente idéntica a la obtenida por búsqueda bioinformática en el genoma no anotado de *Salmo salar*. Se obtuvieron las secuencias nucleotídicas de los exones  $\mu$ 1-4 y TM 1-2, determinándose la presencia del exón  $\mu$ 4 en la forma secretora y no en la unida a membrana. Al desafiar con *P. salmonis* y *F. psychrophilum* se observa un aumento en la expresión de IgM secretora respecto al control no infectado.

Se obtuvo una secuencia nucleotídica para IgM secretora de *Salmo salar* y se identificó la diferencia entre ambas IgM<sub>H</sub>. Frente a un desafío bacteriano la IgM secretora tiene una expresión diferencial a la forma unida a membrana.

Proyecto CORFO Consorcio 13CTI-21527

Proyecto INNOVA-CORFO 09MCSS6698



## **Análisis de actividades ureasa, gelatinasa y glucosa oxidasa extracelulares en diferentes especies de levaduras psicrotolerantes.**

### **Analysis of extracellular urease, gelatinase and glucose oxidase activities in different psychrotolerant yeast species.**

**Yuivar, Y<sup>1</sup>.**, Carrasco, Mario<sup>2</sup>., Villarreal, Pablo <sup>1</sup>., Alcaíno, Jennifer <sup>1</sup>., Cifuentes, Víctor <sup>1</sup>., Baeza, Marcelo <sup>1</sup>., <sup>1</sup>Ciencia Ecológicas, Ciencias, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Ciencias Ecologicas, Ciencias, Universidad de Chile. (Patrocinado por Marcelo Baeza).

Las levaduras han desarrollado estrategias para sobrevivir en ambientes fríos, como la Antártica, incluyendo la producción de enzimas hidrolíticas extracelulares, activas a bajas temperaturas, que les permiten utilizar los nutrientes presentes en estos ambientes. Previamente, nuestro grupo determinó la existencia de actividades hidrolíticas en colonias de veintidós especies de levaduras aisladas desde suelo antártico. En el presente trabajo se obtuvieron los extractos proteicos extracelulares desde estas especies y se caracterizaron en relación a su actividad ureasa, gelatinasa y glucosa oxidasa. Para ello, 100 ml de cultivos en medio YM se centrifugaron (6000g, 10 minutos, 4 °C), se filtraron (0,45 µm) y las proteínas presentes en el sobrenadante se precipitaron sulfato de amonio al 80% (40 minutos, a 4 °C). Las muestras se centrifugaron (10000g, 15 minutos, 4 °C). El "pellet" obtenido se suspendió en 4 ml de búffer Tris-HCl (1M, pH 7). Posteriormente, se dializó (10 kDa tamaño corte) en 1000 ml de búffer Tris-HCl (0,1 M, pH7) durante 12 horas, a 4 °C. Muestras de cinco especies de levaduras mostraron actividad glucosa oxidasa, siendo la de mayor actividad la obtenida desde *Cryptococcus gastricus*. En los ensayos de ureasa, las muestras correspondientes a cinco levaduras presentaron alta actividad a 30 °C, entre ellas, las obtenidas de las especies *Rhodotorula glacialis*, *Cryptococcus victoriae* y *Sporidiobolus salmonicolor*. Los resultados de los ensayos de la actividad gelatinasa mostraron que las nueve levaduras ensayadas muestran actividad extracelular, tres especies (*Leucosporidiella fragaria*, *Metschnikowia sp* y *Mrakia sp.*) mantienen sus niveles de actividad a 15 °C y 22 °C. Los resultados obtenidos sugieren que, si bien varias especies de levaduras poseen una misma actividad hidrolítica extracelular, las enzimas involucradas en dicha actividad serían diferentes.

Proyecto Fondecyt 1130333.

## **Determinación de actividad antibacteriana de cepas de *Lactobacillus* aisladas de heces de cerdos sobre células AGS.**

### **Antibacterial activity study of *Lactobacillus* strains isolated from pig faces on cellular AGS model**

**Ilabaca, A<sup>1</sup>**, García, Apolinaria<sup>1</sup>, Salas, María Jose<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. (Patrocinado por Apolinaria Del Rosario García Cancino)

**Introducción:** En Chile debido al aumento de la producción porcina se ha hecho necesaria la implementación de nuevas estrategias que buscan disminuir algunas de las patologías que afectan a los plantales porcinos. Dentro de las enfermedades se encuentra la diarrea neonatal porcina que afecta a lechones destetados, producida por enteropatógenos como *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET) y *Salmonella typhimurium*, las cuales invaden y proliferan en el tracto gastrointestinal causando múltiples afecciones. A nivel mundial se produce una pérdida del 20 al 30% de los lechones antes del destete. Se sabe a través de estudios previos *in vitro*, que algunas cepas de *Lactobacillus* aisladas de heces de cerdos, poseen actividad probiótica contra patógenos, sin embargo no se ha demostrado sobre modelos celulares.

**Objetivo:** Determinar el efecto profiláctico que poseen algunas cepas de *Lactobacillus* aisladas de heces de cerdo en línea celular AGS, contra ECET y *Salmonella typhimurium*, previo a los ensayos *in vivo*.

**Materiales y métodos:** Se utilizaron dos cepas de *Lactobacillus*: 20B y 34B, y dos de enteropatógeno: ECET y *Salmonella typhimurium*, aisladas de cerdo. Los ensayos de adhesión celular se hicieron en placas de 24 pocillos, utilizando medio de cultivo DMEM suplementado con un 10% de SBF, cuantificando a través de microgota.

**Resultados:** *Lactobacillus* 34B tuvo un mayor efecto profiláctico que 20B frente a ECET. Para *Salmonella typhimurium*, la cepa 20B tuvo mayor disminución de la colonización del patógeno comparado con 34B.

**Conclusiones:** Ambas cepas de *Lactobacillus* disminuyen la colonización de los enteropatógenos, pero de forma diferencial. Esto sugiere que se podría probar ambas cepas juntas, para observar si tienen efecto sinérgico, creando un probiótico mixto.

Financiamiento tesista Universidad de Concepción

## Actividad antibacteriana de líquenes antárticos sobre patógenos con importancia en acuicultura.

### Antibacterial activity of antarctic lichens against bacterial pathogens with importance in aquaculture.

**ESPINOZA, M<sup>1</sup>**, Casanova-Katny, Angélica<sup>1,2</sup>., Pérez, Claudia<sup>3</sup>., Goetz, Palfner<sup>4</sup>., González-Rocha, Gerardo<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Interdisciplinary Center for Aquaculture Research , Centro de Biotecnología , Universidad De Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Química de Productos Naturales , Ciencias Naturales y Oceanográficas , Universidad De Concepción. <sup>4</sup>Laboratorio de Micología y Micorrizas, Facultad Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad De Concepción. (Patrocinado por Gerardo González-Rocha).

Actualmente las enfermedades infecciosas en la industria salmonera producen cuantiosas pérdidas económicas en la producción. Si bien existen diferentes alternativas de tratamiento principalmente se usan antibióticos, lo que ha producido selección de bacterias resistentes, trayendo como consecuencia que los tratamientos se han vuelto poco efectivos. Debido a la escases de moléculas activas para hacer frente a estas enfermedades infecciosas causadas por bacterias resistentes, existe la imperiosa necesidad de encontrar compuestos naturales con actividad antibacteriana. Diversos estudios han descrito que líquenes antárticos producen metabolitos secundarios que inhiben el crecimiento de bacterias patógenas Gram negativas y Gram positivas, principalmente humanas, y poco se conoce acerca de su actividad sobre patógenos de importancia acuícola.

Este trabajo evaluó la actividad antibacteriana de extractos totales y compuestos puros de los líquenes antárticos CONC-F 1259, CONC-F 1261 y CONC-F 1264, sobre 8 cepas de las especies de los género *Vibrio*, *Aeromonas* y *Flavobacterium*, mediante un método de difusión en agar.

El líquen más activo fue CONC-F 1259, inhibiendo todas las cepas ensayadas, con halos de inhibición de hasta 21,4 mm sobre *V. splendidus* (UC260), con discos que contenían 6 mg del extracto liquénico total. Se obtuvo 3 compuestos puros (CP-1, CP-2, y CP-3), cuya CMI varió entre 12,5 - 100 mg/L y la CMB entre 50 - >100 mg/L para CP-1,  $\geq 100$  mg/L para CP-2 y >100 mg/L para CP-3, siendo más activos sobre las cepas de *V. ordalii* y *V. splendidus*. Estos resultados permiten concluir que extractos metanólicos de líquenes antárticos son activos sobre las bacterias ensayadas, constituyendo la base para generar nuevos compuestos que permitan controlar crecimiento de estos patógenos acuícolas.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos FONDEF IDeA CA12i10224, FONDECYT 1120895 e INACH FO-01-12.

## La pseudogenización de *sopE2* en *S. Typhi* es producto de un fenotipo detrimental y no a una redundancia de función con el gen *sopE* en el proceso de invasión.

### Loss of *S. Typhi* *sopE2* function was driven by a detrimental phenotype and not to a complete functional redundancy with the paralogous gene *sopE* in the invasion process.

Valenzuela, L. M.<sup>1</sup>, Mora, G. C.<sup>2</sup>, Fuentes, J. A.<sup>1</sup>,<sup>1</sup>Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Unidad de Microbiología, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Guido C. Mora)

*Salmonella enterica* serovar Typhi (STy) agente etiológico de la fiebre tifoidea, se caracteriza por infectar sólo humanos. La evolución de *S. Typhi* a un único hospedero puede deberse a la adquisición de nuevas funciones, mediante el mecanismo de transferencia horizontal, o por la pérdida de funciones mediado por la acumulación de pseudogenes. Los pseudogenes son segmentos genéticos con alta identidad a genes funcionales, pero no codifican productos funcionales. En este contexto, *sopE2* se encuentra anotado como pseudogén en STy, indicando que la pérdida de este gen ocurrió por que su rol no era relevante para la bacteria. *SopE2* de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (STm) es un importante factor de virulencia, donde cepas mutantes en *sopE2* disminuyen la invasión a células epiteliales. Por otra parte, STy posee el gen funcional *sopE* que conserva un 69% de identidad con *SopE2*, sugiriendo que *sopE2* se pseudogenizó en STy debido a que posee una función neutra, detrimental o, posiblemente su rol es redundante con *sopE* en el proceso de invasión. Para probar esta hipótesis, se delecionó *sopE* en STy cuantificando la invasión a diferentes líneas celulares mediante ensayos de protección a gentamicina. Se encontró que STy  $\Delta$ *sopE* presenta defectos evidentes en la invasión con respecto a la cepa parental. Más importante, el gen funcional *sopE2* de STm expresado heterológamente sobre la cepa STy  $\Delta$ *sopE* no complementó totalmente el fenotipo de invasión de la mutante por delección *sopE*, sugiriendo que *sopE* y *sopE2* no son redundantes en *S. Typhi*. Finalmente, la cepa heteróloga que expresa *sopE2* de STm (*i.e.* posee el gen *sopE*) exhibió una disminución significativa en los niveles de invasión al comparar con la cepa silvestre STy, indicando que *sopE2* es perjudicial para *S. Typhi* en el proceso de invasión a células epiteliales, lo que explicaría su pseudogenización.

Proyecto FONDECYT 1110120

Proyecto FONDECYT 11121506

## Presencia de *Gammaproteobacteria* fotótrofas aerobias anoxigénicas en Salares y ambientes altiplánicos del Norte de Chile: distribución del Clado NOR5/OM60 en ambientes no marinos.

## Presence of aerobic anoxygenic phototrophic *Gammaproteobacteria* in saline wetlands and altiplanic environments of northern Chile: distribution of the clade NOR5/OM60 in non marine environments.

**Serrano, Mayela**<sup>1,3,2</sup>, Dorador, Cristina<sup>1,2,3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad de Antofagasta. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz).

La fotosíntesis anoxigénica es realizada por un grupo heterogéneo de procariontes distribuidos en varios filos bacterianos los cuales pueden ser anaerobios o aerobios. Solo hace unos años se pudo demostrar la presencia de aislados de bacterias fotótrofas anoxigénicas capaces de crecer en presencia de oxígeno (AAPB). Este grupo bacteriano representa un importante grupo de microorganismos marinos (más de un 18%) en las comunidades microbianas de los océanos del mundo, de las cuales se piensa que tienen un rol importante en el ciclo del carbono oceánico. Estudios del gen *pufLM* como marcador molecular, ha permitido demostrar que la mayor cantidad de AAPB corresponde a *Alphaproteobacteria*, agrupándose en el Clado *Roseobacter*, sin embargo, desde 1997 se han descrito *Gammaproteobacteria* fotótrofas aerobias anoxigénicas marinas pertenecientes al Clado NOR5/OM60, que contiene a *Congregibacter litoralis* KT71, primera *Gammaproteobacteria* denominada como AAPB. Análisis moleculares en el Salar de Huasco demostraron por primera vez la presencia del Clado *Roseobacter* en ambientes no marinos, sin embargo, hasta la fecha son escasos los reportes sobre el clado NOR5/OM60 en ambientes no marinos. En este trabajo se evaluó la presencia de este grupo en salares y ambientes altoandinos en el norte de Chile mediante la extracción de ADN de tapetes microbianos y el posterior clonamiento y secuenciación de los productos de PCR del gen 16S ribosomal con primarios específicos para *Gammaproteobacteria*. Resultados preliminares muestran efectivamente la presencia de miembros del Clado NOR5/OM60 en ambientes acuáticos del norte de Chile, ampliando el rango de distribución de este grupo de microorganismos de gran importancia oceánica, los cuales podrían tener alta relevancia en el ciclo del carbono en estos ambientes extremos.

FONDECYT 1110953 y 1140179; Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia

## Oxidación de yoduro mediado por *Alphaproteobacteria*: Potencial aplicación en minería no metálica.

### Iodide oxidation mediated by *Alphaproteobacteria*: Potential application in no metallic mining.

**Ossandón, Barbara**<sup>1,4,3</sup>, Ushak, Svetlana<sup>2</sup>, Dorador, Cristina<sup>3,1,4</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Química y Procesos Minerales, Centro de Investigación Avanzada del Litio y Minerales Industriales (CELIMIN) Universidad de Antofagasta. <sup>3</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>4</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz).

El yodo es un halógeno con variadas aplicaciones como biocida, suplemento alimenticio, productos farmacéuticos, trazadores de diagnóstico clínico, entre otros. Chile es el principal productor de yodo teniendo aproximadamente un 60% de la producción mundial, obteniéndose desde caliches de las regiones de Tarapacá y Antofagasta, donde el yodo se encuentra como yodato. Para obtener  $I_2$  (forma comercial), se requiere de tres pasos principales: Reducción del yodato a yoduro, oxidación de yoduro a  $I_2$  en condiciones ácidas y recuperación del  $I_2$  formado. La oxidación de yoduro ocurre químicamente sólo a pH ácido, siendo termodinámicamente desfavorable a pH neutro. Por lo tanto, se considera que esta reacción es mediada biológicamente en el ambiente. Además, se ha determinado la presencia de bacterias yoduro-oxidantes (IOBs) en ambientes ricos en  $I_2$  sin que éste sea tóxico para ellas. En este contexto, se busca determinar el potencial uso de IOBs en un proceso industrial de recuperación de  $I_2$ , teniendo ventajas como obtener  $I_2$  a pH neutro y resistir altas concentraciones de  $I_2$  sin que este sea tóxico para su crecimiento. Estudios realizados previamente en salares del norte de Chile, se han aislado dos cepas pertenecientes a *Alphaproteobacteria*. descritas como IOBs, denominadas cepa 15 y 18. Como resultado preliminar, ambas cepas presentan actividad yoduro-oxidante. La cepa 15 presenta un pH óptimo entre 5,5 - 9,0 y tolera concentraciones de yoduro hasta 35 g/L, a diferencia de la cepa 18 que muestra un pH óptimo entre 6,0 - 8,0 y tolera concentraciones de yoduro hasta 30 g/L, demostrando que la cepa 15 tiene un mayor potencial para utilizarlo en un proceso de recuperación de yodo.

CODEI-UA 5380; FONDECYT 1110953 y 1140179; Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia.

**Evaluación de la actividad ADP-ribosiltransferasa de NarE de *Neisseria gonorrhoeae*.****Evaluation of ADP-ribosyltransferase activity of NarE from *Neisseria gonorrhoeae*.**

**Alvarez, Francisca P.**<sup>1</sup>, Echeverría, Valentina<sup>1</sup>, Christodoulides, Myron<sup>2</sup>, Rodas, Paula I.<sup>1</sup>, <sup>1</sup>CIMIS Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Sir Henry Wellcome Laboratories University of Southampton Medical School.

*Neisseria gonorrhoeae* (Ngo) es una bacteria Gram-negativo, patógeno exclusivo del ser humano y agente etiológico de la enfermedad de transmisión sexual gonorrea. Esta enfermedad posee tratamiento y cura, sin embargo es un problema de salud pública debido a la multirresistencia a antimicrobianos que posee Ngo y las secuelas crónicas que puede dejar en la mujer, ya que la infección puede ascender hasta las trompas de Falopio produciendo salpingitis y con ello el riesgo de infertilidad. A pesar que Ngo es un patógeno extracelular, también es capaz de invadir las células del epitelio tubárico mediante el remodelamiento del citoesqueleto. Sin embargo se desconocen las bases moleculares de esta remodelación. En Ngo se ha reportado la presencia del gen *narE*, previamente identificado en *Neisseria meningitidis* que codifica para la toxina NarE, una ADP-ribosiltransferasa (ADPRT). Se han reportado ADPRTs en otros patógenos bacterianos, donde participan en la invasión bacteriana mediante la modificación de proteínas del citoesqueleto de la célula blanco. El principal objetivo de este trabajo es evaluar la actividad ADPRT de NarE de Ngo. En este trabajo se realizó el clonamiento y la expresión de este gen utilizando el sistema de expresión pET24b+; después de la inducción de la expresión de *narE* se purificó la proteína NarE-6xHis mediante cromatografía de afinidad en columna de níquel y se analizó mediante el sistema NuPAGE SDS-PAGE (gel en gradiente 4-12%). La evaluación de la actividad enzimática de NarE-6xHis se realizó mediante un ensayo de ADP-ribosilación *in vitro* e inmunoblotting utilizando como sustrato el sobrenadante posnuclear de la línea celular humana HEp-2. Se obtuvieron tres bandas de aproximadamente 14 kDa, 17 kDa y 38 kDa indicativas de ADP-ribosilación. Estos resultados sugieren que la toxina NarE de Ngo posee actividad ADPRT sobre blancos presentes en el sobrenadante posnuclear de la línea celular humana HEp-2.

FONDECYT INICIACIÓN 11121262

WELLCOME TRUST 090301 (UK)

## Aislamiento de actinobacterias marinas psicrotolerantes desde la bahía de Valparaíso.

### Isolation of marine psychrotolerant *Actinobacteria* from Valparaíso Bay

**González, Valentina**<sup>1</sup>, Claverías, Fernanda<sup>1</sup>, Beltrametti, Fabrizio<sup>2</sup>, Meneses, Macarena<sup>1</sup>, González, Myriam<sup>1</sup>, Seeger, Michael<sup>1</sup>, Cámara, Beatriz<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Química, & Centro de Biotecnología D. Alkalay L., Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>2</sup>Gerenzano, Italia. Actygea S.r.l. (Patrocinado por Michael Seeger Pfeiffer).

El *phylum Actinobacteria* constituye uno de los grupos más diversos dentro del dominio Bacteria, productoras de una amplia gama de metabolitos secundarios y enzimas extracelulares de gran interés comercial. Actualmente la búsqueda se encuentra enfocada en ambientes poco explorados, donde los ecosistemas marinos presentan una buena oportunidad para su aislamiento. La bahía de Valparaíso tiene una temperatura superficial promedio de 15 °C. Los microorganismos psicrotolerantes son organismos que crecen bajo los 5 °C pero tienen temperaturas óptimas de crecimiento mayor a 15 °C, llegando incluso a crecer a 40 °C. Estos microorganismos representan un gran potencial industrial sobre todo para la industria de las enzimas, pues al ser estables a bajas y moderadas temperaturas, podrían ofrecer un alto beneficio económico. A modo de ejemplo, se puede ahorrar substancialmente el gasto energético de grandes procesos industriales que no requerirían la calefacción de reactores. Cabe destacar que las actinobacterias se caracterizan por su versátil metabolismo, que las hace más resistentes y estables a condiciones extremas, por ello se propuso la búsqueda de actinobacterias psicrotolerantes desde muestras provenientes de una playa de la bahía de Valparaíso, Chile. Muestras de sedimentos marinos provenientes de la playa Carvallo, Valparaíso fueron sembradas en medios de cultivo que favorecen el crecimiento de las actinobacterias, estas se incubaron a 4 °C. Mediante secuenciación del gen rRNA 16S se detectó que los aislados pertenecen a diversas familias del *phylum Actinobacteria*, dentro de las cuales destacan; *Brevibacteriaceae*, *Dietziaceae*, *Intrasporangiaceae*, *Nocardiaceae* y *Streptomyetaceae*. Las cepas aisladas fueron analizadas funcionalmente por medio de ensayos de actividad enzimática, encontrándose resultados positivos en algunas de ellas. El análisis refleja la diversidad de Actinobacterias encontrada en la bahía de Valparaíso, y su gran potencial en la síntesis de compuestos de interés biotecnológico, como son las enzimas extracelulares.

Proyecto Fondecyt (11121571), PIE>A UTFSM (VG, FC), Swedish Research Council (N° 2013-6713).



## ¿Es la estructura del LPS un determinante del efecto antimicrobiano de péptidos producidos por *Trichoderma harzianum* sobre *Salmonella Typhimurium* y *Escherichia coli*?

**Huerta, J<sup>1</sup>.**, Salazar, Javier <sup>1</sup>., Polanco, Rubén <sup>2</sup>., Aguayo V., Daniel<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Center of Bioinformatic and Integrative Biology, Ciencias biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica, Ciencias biológicas, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Dra. Claudia Saavedra S.)

Los péptidos antimicrobianos son una interesante alternativa para los antibióticos tradicionales. El hongo *T. harzianum* produce familias heterogéneas de péptidos con acción antimicrobiana sobre bacterias, tanto Gram positivo (Ej. *Staphylococcus aureus*) como Gram negativo (Ej. *Erwinia carotovora*). El efecto de dichos péptidos sobre microorganismos Gram negativo es controversial y se desconoce el mecanismo de acción de estas moléculas. En este trabajo se evaluó el efecto antimicrobiano de péptidos secretados por *T. harzianum* sobre cepas de *S. Typhimurium* y *E. coli*, que expresan variantes estructurales (quimiotipos) de su LPS. Mediante ensayos de susceptibilidad en placa, se determinó el efecto inhibitorio del crecimiento de extractos butanólicos enriquecidos en péptidos, encontrando que *S. Typhimurium* es más sensible que *E. coli*. Por otra parte, los resultados de MIC, CFU y curvas de crecimiento de las cepas de *Salmonella*, tratadas con 8 µg/ml de péptidos totales, indican que el efecto antimicrobiano es diferencial sobre cepas que poseen modificaciones en la vía de síntesis del LPS y que expresan quimiotipos de LPS característicos. Las cepas silvestres,  $\Delta waaB$ ,  $\Delta waaI$  y  $\Delta waaG$ , fueron resistentes al tratamiento con esta dosis de péptidos; en cambio, las mutantes  $\Delta waaJ$ ,  $\Delta waaK$  y  $\Delta waaL$ , que tienen un LPS de longitud intermedia respecto a las cepas mencionadas anteriormente, presentaron mayor sensibilidad a estos compuestos. Nuestros datos permiten inferir que estos péptidos interactúan con una región específica del LPS bacteriano, siendo ésta una etapa temprana de su mecanismo de acción.

Proyectos FONDECYT 11130576 (DA) y PROYECTO DI-130-12/R (UNAB, RP). Agradecimientos: Dra. Inés Contreras.

## “Comunidad bacteriana asociada a la relación hospedador-parásito: *Seriola lalandi* - *Zeuxapta seriolae*”

### Bacterial community associated to the host-parasite relationship: *Seriola lalandi*-*Zeuxapta seriolae*

**Torres, Javiera**<sup>1.</sup>, Infante, Claudia<sup>2,3.</sup>, Sepúlveda, Fabiola<sup>4.</sup>, Hengst, Martha<sup>5,6,2.</sup>, González, María Teresa<sup>4.</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Forestales y Agropecuarias, Universidad De La Frontera. <sup>2</sup>Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>4</sup>Laboratorio de Ecología Parasitaria y Epidemiología Marina (LEPyEM), Instituto de Ciencias Naturales, Universidad de Antofagasta. <sup>5</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>6</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst)

En Chile la acuicultura ha tenido lugar especialmente en la zona sur, sin embargo, en los últimos años se han desarrollado diferentes proyectos con el fin de potenciar esta actividad en la macro zona norte. La principal problemática para el establecimiento del cultivo de cualquier especie, es la aparición de enfermedades causadas por micro y macroparásitos. En general, se desconoce el rol que podrían cumplir los parásitos en la transmisión de bacterias potencialmente patógenas para las especies en cultivo. En consecuencia, el objetivo de este estudio fue evaluar la comunidad bacteriana cultivable asociada al pez *Seriola lalandi* y a sus ectoparásitos *Zeuxapta seriolae* y *Caligus lalandei*, que habitan las branquias y la superficie corporal, respectivamente. Para ello se tomaron muestras de mucus de la piel y de las branquias del hospedador además de ambos parásitos encontrados en los ejemplares de *Seriola lalandi* analizados. Las muestras fueron inoculadas en Agar Marino Zobell y Agar Soya Triptona, para la posterior selección y aislamiento de colonias de acuerdo a su morfotipo y tinción Gram. Las cepas aisladas fueron identificadas de acuerdo a la amplificación del gen 16SrRNA, comparándolas con secuencias en la base de datos GenBank, a través de la herramienta Blastn. Se infirieron relaciones filogenéticas por máximo likelihood con 1000 remuestreos en el Programa Mega 6. Las secuencias obtenidas (1358 pb) fueron asociadas a 9 géneros: *Vibrio*, *Racultella*, *Serratia*, *Shewanella*, *Pseudoalteromona*, *Alcaligenes*, *Rhodobacter*, *Staphylococcus* y *Bacillus*. Estos resultados evidencian especificidad en la flora microbiana asociada a los tejidos analizados. Se discute el rol que podrían cumplir los macroparásitos en la transmisión de patógenos bacterianos y su efecto en sistemas de cultivo. Este estudio muestra información inédita que puede conducir al desarrollo de próximos trabajos investigativos que permitan mejorar el tratamiento de enfermedades en la acuicultura en Chile.

Proyecto Semillero “Macroparásitos de peces como potenciales vectores de enfermedades infecciosas”-Vicerrectoría de Investigación, Innovación y Postgrado, UNIVERSIDAD DE ANTOFAGASTA.

## Efectos del antimicótico ketoconazol sobre las rutas de producción de astaxantina y ergosterol en *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

### Effects of antifungal ketoconazole on astaxanthin and ergosterol metabolic pathways in *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

**Gaete, Marco**<sup>1</sup>, Alcaino, Jennifer<sup>1</sup>, Baeza, Marcelo<sup>1</sup>, Cifuentes, Victor<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecologicas, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Marcelo Baeza Cancino).

La astaxantina es un carotenoide de interés industrial y uno de los productos característicos de la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Entre los estudios de la carotenogénesis en esta levadura, se ha encontrado una relación entre las rutas de producción de carotenoides y de esteroides, siendo el ergosterol el esteroide principal en levaduras. Cepas mutantes que no producen ergosterol, sobreproducen astaxantina, sugiriendo un mecanismo de regulación por ergosterol sobre la síntesis de carotenoides. Además, ambas vías comparten los mismos precursores y en ambas participan enzimas citocromo P450. Debido a esto, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del antimicótico ketoconazol, inhibidor de enzimas P450, sobre la síntesis de astaxantina y ergosterol.

Para ello, se determinó la  $EC_{50}$  del compuesto sobre una cepa silvestre, siendo de 0,25  $\mu\text{g/ml}$  para cultivos crecidos a 22 °C en medio YM. Luego, la levadura se cultivó en medio YM sin glucosa (ésta inhibe la síntesis de carotenoides) a 22 °C hasta alcanzar la fase estacionaria y posteriormente, el cultivo se separó en 4 matraces a los que se les adicionó: i) nada (control), ii) ketoconazol 0,25  $\mu\text{g/ml}$ , iii) maltosa 10 g/l (fuente de C que no inhibe la síntesis de carotenoides) y iv) maltosa 10 g/l y ketoconazol 0,25  $\mu\text{g/ml}$ . Los matraces se incubaron por 24 h a 22 °C con agitación constante y luego se extrajeron los carotenoides y esteroides. Se encontró que la adición de maltosa y ketoconazol favoreció la producción de carotenoides en un  $64,5\% \pm 14$  respecto al control, mientras que la producción de esteroides disminuyó en un  $65\% \pm 3$  en el mismo caso.

Se concluye que existe una correlación entre los niveles de ergosterol y de carotenoides en la levadura, donde la disminución de ergosterol favorece la síntesis de astaxantina.

Fondecyt 1140504

## Comunicaciones Libres Paneles 1

**Nueva formulación farmacéutica efectiva contra infecciones cutáneas producidas por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes en ratones.****A novel pharmaceutical formulation effective against skin Infections produced by *Acinetobacter baumannii* in mice.**

**Arias, Angel. J<sup>1</sup>.**, Villagra, Nicolas. A<sup>2</sup>.,Hidalgo, Alejandro. A<sup>2</sup>.,Fuentes, Juan. A<sup>1</sup>.,Mora, Guido.C<sup>2</sup>.,<sup>1</sup>Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Microbiología, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Guido C Mora).

En los últimos años el tratamiento antibiótico ha mostrado una disminución en su efectividad, situación en gran parte producida por los mecanismos de resistencia que poseen las bacterias. Uno de los mecanismos que más resistencia otorga a las bacterias es la expresión de bombas de expulsión, proteínas que pueden expulsar activamente los antibióticos. Estudios anteriores, realizados en nuestro laboratorio, han mostrado que la resistencia mediada por bombas de expulsión en bacterias Gram Negativo de importancia clínica (*A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otras) puede ser afectada por la fuente de carbono, exhibiendo una mayor sensibilidad cuando algunas azúcares no-PTS (azúcares que ingresan a la célula por vías distintas del sistema fosfotransferasa) son usadas como única fuente de carbono. El siguiente paso, por tanto, es generar una formulación mezcla de antibiótico y azúcar no-PTS para uso farmacéutico contra bacterias multirresistentes, como es el caso de *A. baumannii*. En una primera instancia, mediante ensayos de difusión por disco y ensayos de CIM, mostramos que la resistencia mediada por bombas de expulsión contra tetraciclina y otros antibióticos, disminuye cuando algunas azucares no-PTS son usadas como única fuente de carbono. Posteriormente, se evaluó el efecto *in vivo* de la formulación mediante infecciones de piel en modelo murino. Los resultados muestran una menor recuperación de *A. baumannii* en ratones tratados con las mezcla de antibiótico y azúcar no-PTS en comparación a los ratones tratados solo con el antibiótico. Todos estos resultados nos permiten concluir que la mezcla de antibiótico y azúcar no-PTS fue más efectiva que solo el antibiótico en el tratamiento de infecciones cutáneas de ratones. Esta nueva formulación farmacéutica puede ser útil para tratar infecciones humanas provocadas por bacterias multirresistentes.

Proyecto FONDECYT 1110120

Proyecto FONDEF IDeA CA12110110

## Aislamiento y caracterización de Vibrios con potenciales factores de patogenicidad provenientes de la costa de Valparaíso.

### Isolation and characterization of Vibrios with potential pathogenicity factors from the coast of Valparaíso.

**Meza, F<sup>1</sup>**, León, M<sup>1</sup>, Bastías, R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de biología, ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por Carolina Yañez Prieto).

Las bacterias del género *Vibrio* se encuentran en gran abundancia en los ambientes acuáticos, y se ha descrito que muchas de estas especies pueden ser patógenas para humanos y animales. En Valparaíso se producen y comercializan una gran cantidad de alimentos provenientes del mar, lo que aumenta los riesgos de contaminación con estas bacterias, sin embargo poco se sabe de la presencia de estos microorganismos en sus costas. Este proyecto pretende evaluar la presencia de bacterias del género *Vibrio spp.* en las costas de Valparaíso, y evaluar la presencia de potenciales factores de virulencia asociados a estas. Para desarrollar este trabajo se recolectaron muestras de agua de mar provenientes de la caleta El membrillo, caleta Portales y muelle Barón, las que fueron sembradas en el medio selectivo para vibrios TCBS. A partir de estas muestras se logró obtener 52 aislados bacterianos, de los cuales el 61% fue capaz de fermentar sacarosa. El análisis de potenciales factores de virulencia reveló que el 40 % de los aislados presenta motilidad, y el 67 % posee proteasas extracelulares observado por su actividad gelatinasa. Del total de aislados, sólo el 40% posee actividad hemolítica tipo  $\beta$  en placas de agar sangre, aunque el 92% presenta al menos uno de los factores de virulencia analizados. El cultivo de los distintos aislados en el medio CHROMagar™ *Vibrio*, indicó que los aislados podrían corresponder a las especies *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* o incluso *V. cholerae*, sin embargo posteriores análisis moleculares son necesarios para confirmar las identidades. Estos resultados sugieren fuertemente que en las costas de Valparaíso existen bacterias del género *Vibrio* con potenciales factores de patogenicidad, lo que puede representar un riesgo para la salud de la población debido a la contaminación cruzada o al consumo directo de alimentos contaminados.

Este proyecto fue parcialmente financiado por el Proyecto DI Iniciación código 037.372/2014 de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

## Caracterización de la mutante *yibP* en *Salmonella enterica*: Rol en la división celular, en la resistencia a detergentes y a la alta osmolaridad.

### Characterization of the *Salmonella enterica yibP* mutant: role in cell division, resistance to detergents and high osmolarity.

**Nevermann, Jan C.<sup>1</sup>**, Mora, Guido C.<sup>2</sup>, Fuentes, Juan A.<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. <sup>3</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Guido C. Mora).

En *Escherichia coli*, *yibP* codifica para una proteína de membrana interna implicada en la división celular, durante la etapa de hidrólisis de peptidoglicán. Consistentemente, *E. coli*  $\Delta yibP$  exhibe largas cadenas celulares con una estructura de peptidoglicán continua. En trabajos antiguos se ha afirmado que *E. coli*  $\Delta yibP$  presenta un fenotipo hipersensible a detergentes y antimicrobianos en relación a la cepa silvestre. Sin embargo, otros reportes más recientes han demostrado que estas mutantes no presentan sensibilidad diferencial al ser tratadas con estos agentes, poniendo en duda el real fenotipo bajo estas condiciones. Con respecto a *Salmonella enterica*, el gen *yibP* no ha sido caracterizado. Se desconoce su implicancia en la división celular y en la estabilidad de membrana en esta especie. Nosotros hipotetizamos que *yibP* participa en la división celular de *Salmonella enterica*. Entonces, construimos la mutante *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*)  $\Delta yibP$  y la comparamos con su respectiva cepa parental mediante microscopía óptica y tinción de Gram. Se observó que la mutante presentó largas cadenas de células (filamentos), consistente con lo que se encontró en *E. coli*. Además, debido al papel de *yibP* en el remodelamiento de la pared celular reportado en *E. coli*, se evaluó la supervivencia a detergentes (SDS y desoxicolato de sodio) y a medios hiperosmóticos (2,5 M NaCl). Se encontró que la mutante *S. Typhi*  $\Delta yibP$  es considerablemente más sensible que su cepa parental. Finalmente, observamos que la mutante  $\Delta yibP$  exhibió hemólisis beta, probablemente debido a la liberación de factores hemolíticos producto de la mal formación de la pared. Con estos resultados concluimos que *yibP* participa en la división celular en *Salmonella enterica*, en la resistencia a detergentes y a alta osmolaridad, sugiriendo que *yibP* participa en la correcta síntesis de la pared celular en esta especie.

Proyecto Fondecyt: 11121506

## Efecto del sistema de dos componentes PhoPQ en la acumulación de RpoS en *Salmonella enterica* serovar Typhi y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.

### Effect of PhoPQ two-component system in RpoS accumulation in *Salmonella enterica* serovar Typhi and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.

**Hernández, M. F.**<sup>1</sup>, Arredondo, V. P.<sup>1</sup>, Talamilla, A. A.<sup>1</sup>, Sepúlveda, C. P.<sup>1</sup>, Mora, G. C.<sup>2</sup>, Fuentes, J. A.<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Guido C. Mora Longa).

RpoS es un factor sigma alternativo requerido para la resistencia a distintos tipos de estrés, incluyendo estrés por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. RpoS está regulado en distintos niveles, incluyendo la degradación proteica. Se ha reportado que PhoPQ, un sistema de dos componentes que responde a bajas concentraciones de Mg<sup>2+</sup>, regula positivamente la acumulación de RpoS en *Salmonella* Typhimurium (STM), patógeno que infecta un amplio rango de hospederos. De hecho, mutantes STM  $\Delta$ phoPQ exhiben una sensibilidad incrementada al estrés oxidativo por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sin embargo, en nuestro laboratorio hemos observado que mutantes  $\Delta$ phoPQ de *Salmonella* Typhi (STY), un serovar que infecta exclusivamente a humanos, no presenta defectos en la supervivencia a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en relación a la cepa silvestre. De acuerdo a estas observaciones, postulamos que PhoPQ no regula a rpoS en STY, marcando una diferencia con STM. Mediante *Western blot* y ensayos  $\beta$ -galactosidasa detectamos distintos niveles de RpoS en cepas de STM  $\Delta$ phoPQ y STM parentales, confirmando que la acumulación de RpoS depende de PhoPQ en este serovar. Por el contrario, mediante la misma estrategia determinamos que la acumulación de RpoS no depende de la presencia de phoPQ en STY. De hecho, mutantes STY  $\Delta$ phoPQ exhiben un ligero aumento en la acumulación de RpoS. Además, mediante qRT-PCR determinamos que la expresión de *katE* (un gen regulado directamente por RpoS) disminuye en cepas de STM  $\Delta$ phoPQ, mientras que aumenta ligeramente en cepas STY  $\Delta$ phoPQ. Desafío con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> corroboraron los resultados anteriores, en donde STM  $\Delta$ phoPQ fue más susceptible, mientras que STY  $\Delta$ phoPQ demostró un ligero aumento en la resistencia al tóxico. Estos resultados muestran que la regulación de la acumulación de RpoS es distinta en STM y STY. Diferencias de regulación de un factor regulatorio global podrían contribuir a entender las diferencias en la especificidad de hospedero entre STY y STM.

Proyecto de Iniciación FONDECYT 11121506

## Participación del Lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* en la inhibición de la apoptosis en células epiteliales gingivales.

### Role of *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide in the apoptosis inhibition of gingival epithelial cells.

**Soto, Christopher**<sup>1</sup>, Salinas, Daniela<sup>1</sup>, Venegas, Darna<sup>1</sup>, Bugueño, Isaac<sup>1</sup>, Hoare, Anilei<sup>1</sup>, Pérez-Donoso, José<sup>2</sup>, Bravo, Denisse<sup>2</sup>,  
<sup>1</sup>Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Bionanotecnología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

La periodontitis crónica es una enfermedad infecciosa multifactorial, que produce inflamación en tejidos de soporte dentario, pérdida tisular y formación de sacos periodontales, lo que puede provocar en conjunto la pérdida de las piezas dentales. En Chile, más del 90% de la población adulta presenta signos clínicos característicos de esta patología. *Porphyromonas gingivalis* se ha propuesto como un agente etiológico clave en la periodontitis. Entre sus principales factores de virulencia se encuentra el lipopolisacárido (LPS), el cual inhibe la apoptosis en células inmunes. En nuestro laboratorio, observamos que *P. gingivalis* también es capaz de aumentar la viabilidad celular e inhibir la apoptosis en células epiteliales gingivales (GEC). El objetivo de este trabajo fue evaluar si el LPS, y en particular el antígeno O (AgO), contribuye a este proceso. Para ello, se evaluó la viabilidad celular (ensayos de MTS y azul tripán) y niveles de apoptosis (citometría de flujo), en GEC infectadas con la cepa silvestre de *P. gingivalis* (W50), una mutante isogénica carente de AgO polimérico (cepa PG1051), y la cepa PG1051 complementada (CPG1051). Además, para determinar si el papel del LPS en apoptosis era dependiente de la invasión y/o adherencia, se realizaron ensayos de protección por genotamicina/metronidazol con GECs infectadas con las mismas cepas. Nuestros resultados indican que la cepa PG1051 no aumenta la viabilidad, ni inhibe la apoptosis de GEC, a diferencia de las cepas W50 y CPG1051. Esto sugiere que la presencia de AgO de alto peso molecular contribuye a la inhibición de la apoptosis inducida por *P. gingivalis*. Interesantemente, no observamos diferencias en la capacidad invasiva y de adherencia en ninguna de las cepas estudiadas, por cuanto el efecto en la supervivencia, sería independiente de estos mecanismos.

**Financiamiento: Proyecto Fondecyt n° 11110076 (DB), Proyecto Fondecyt n° 11110077 (JMP), Proyecto U-inicia n° 11/10, Anillo ACT 1111 (JMP, DB).**



## **Biodiversidad de microorganismos Termófilos – Ácidofilos, desde sulfataras hidrotermales del bofedal altoandino de Lirima, en un gradiente de pH y temperatura.**

### **Biodiversity of Thermophilic - Acidophilic microorganisms, from hydrothermal sulfataras from the high andean Lirima wetland, in a gradient of pH and temperature.**

**Cortes, J<sup>1</sup>.**, Pérez, Vilma<sup>2</sup>., Marchant, Francisca<sup>2</sup>., Molina, Verónica<sup>3</sup>., Dorador, Cristina<sup>4</sup>., Hengst, Martha<sup>4</sup>., <sup>1</sup>Biomedico, Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>3</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad De Playa Ancha. <sup>4</sup>Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst López).

El bofedal de Lirima es un ecosistema emplazado en el altiplano Chileno, ubicado a 4.200 msnm, a 130 Km de Pica, en la Región de Tarapacá. Comprende un conjunto de pozas de agua dulce (66,99 mg/L de cloruros), caracterizadas por escasa materia orgánica y de oeste a este por el aumento creciente en temperatura (42 a 72 °C) y decreciente en pH (7.9 a 5.2), características poco frecuentes en el Altiplano Chileno. Las pozas se encuentran colonizadas por tapetes microbianos de consistencia robusta, de intensa pigmentación naranja a grisácea, cuya composición filogenética y funcional es hasta ahora desconocida. El objetivo de este trabajo, fue caracterizar la diversidad de microorganismos en un gradiente de pH y temperatura. Resultados de microscopía electrónica (MEB) revelan la presencia de microorganismos en todas las muestras de sedimento analizadas cuya morfología varía en las distintas pozas, y cuyas formas son cocos, espirilos y con mayor predominancia bacilos y bacilos alargados; asimismo se evidenció la presencia de diatomeas y cianobacterias. Los resultados obtenidos por análisis clonal del gen 16S rRNA, demuestran que en la poza de 46 °C existe una alta diversidad tanto de bacterias y arqueas incluyendo cianobacterias. El dominio Bacteria está representado por 9 phyla distribuidos en 42 géneros, con un alto porcentaje de grupos "unclassified" en las bases de datos. El dominio Archaea estuvo representado por los phyla Euryarchaeota y Chrenarchaeota y un grupo "unclassified", los que se distribuyeron en 8 géneros. En ambos dominios se identificó una alta proporción de especies termófilas acidófilas y grupos metanogénicos. Este trabajo es una contribución al conocimiento de la diversidad de microorganismos presentes en ambientes extremos de altiplano chileno, que reúne diversas condiciones como acidez, alta temperatura, altitud y extrema aridez.

Proyecto Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia, Fondecyt N° 1140179, Fondecyt N° 1140356

## Aislación y caracterización de una nueva especie del género *Nitriicola* capaz de oxidar arsénico, desde el Salar de Ascotán: *Nitriicola arsenitoxydans*.

### Isolation and characterization of a new strain of the genus *Nitriicola* which is able to oxidize arsenic, from Salar de Ascotán; *Nitriicola arsenitoxydans*.

**Bijman, Jonathan**<sup>1</sup>, Encalada, Olga<sup>1</sup>, Escudero, Lorena<sup>1,2</sup>, Demergasso, Cecilia<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología Universidad Católica Del Norte. <sup>2</sup>CICITEM Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería. (Patrocinado por Proyecto Fondecyt 1100795).

En el Norte de Chile existen varios ambientes con altos contenidos de arsénico (As). El salar de Ascotán contiene altas concentraciones de As en sedimentos (781-6504 mg Kg<sup>-1</sup>) y en aguas (0.7-4.38 mg L<sup>-1</sup>), además presenta características climáticas y fisicoquímicas, que lo hacen ser un ambiente excelente para el estudio de microorganismos capaces de transformar As usando mecanismos de oxidación y reducción, entre otros. A partir de sedimentos obtenidos en la expedición realizada en Ascotán durante 2010, se realizaron cultivos de enriquecimiento con medio de cultivo específico para microorganismos fotoautotróficos oxidantes de arsenito (As III). Luego se realizó un proceso de aislamiento en medio marino. Después de la obtención de varios cultivos, se logró identificar un microorganismo fototrófico oxidante de As III por medio de técnicas de biología molecular como PCR/DGGE Bacteria, clonación del fragmento 16S y se identificaron genes relacionados con el metabolismo del arsénico. Fue inoculado en medio marino y medio fotoautotrófico, ambos con arsenito. *Nitriicola arsenitoxydans* es capaz de oxidar arsénico y presenta una alta similitud con *Nitriicola lacisaponensis*. Es mesófilo, su crecimiento óptimo es de 30°C, pudiendo crecer entre 15°C a 37°C, con un t<sub>d</sub> de 0.1432 horas y un  $\mu$  de 4.8202 h<sup>-1</sup>. Es anaeróbico facultativo, crece con y sin oxígeno, es capaz de oxidar arsenito en condiciones heterotróficas y fotoautotróficas. Al crecer en presencia y ausencia de materia orgánica, es mixotrófico. Tiene forma bacilar, disponiéndose en forma aislada, 2 a 3  $\mu$ m. Se evidenció la presencia de los genes de arsenato reductasa respiratoria *arrA*, arsenato reductasa *arsC*, arsenito oxidasa *aio* y transportador de arsenito ACR3. Actualmente no se conocen especies del género *Nitriicola* capaces de oxidar As III, lo que nos permite reportar a este nuevo microorganismo, de gran potencial biotecnológico, que podría ser utilizado en procesos de bioremediación de aguas contaminadas con arsénico.

## Mecanismos de acción directos de rizobacterias aisladas en la Región de Coquimbo sobre *Sclerotinia esclerotiorum* (Lib.) de Bary.

### Direct mechanism of rhizobacteria isolated from agriculture soils of Coquimbo Region on *Sclerotinia esclerotiorum* (Lib.) de Bary.

**ARANCIBIA, W**<sup>1</sup>, Saguas, Carla<sup>5</sup>, Salvatierra, Ricardo<sup>2</sup>, Castillo, Luis<sup>3</sup>, Bravo, Jaime<sup>4</sup>, Stoll, Alexandra<sup>5,6</sup>, <sup>1</sup>AGRONOMIA, CIENCIAS, Universidad De La Serena. <sup>2</sup>Doctorado BEA Universidad De La Serena. <sup>3</sup>Biología Universidad De La Serena. <sup>4</sup>Biotecnología Universidad Politécnica de Pénjamo, Gto, México. <sup>5</sup>Laboratorio de Microbiología Aplicada Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas CEAZA. <sup>6</sup>DIULS Universidad de La Serena.

En el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) en la Región de Coquimbo las pérdidas de rendimientos se deben principalmente a la pudrición blanda (*Sclerotinia esclerotiorum*). Los fungicidas tradicionales, sin embargo, muestran resultados erráticos. Como alternativa hemos seleccionado 6 aislados (*Bacillus* sp.) por su capacidad de inhibir el crecimiento de *S. sclerotiorum*. Con el objetivo de explorar las sustancias activas, se realizaron ensayos de inhibición del crecimiento micelial con el sobrenadante y metabolitos volátiles. El sobrenadante se extrajo de un cultivo de 36 hrs en medio MOLP y se mezcló en concentraciones 1, 5, 10, 15 y 30% con PDA. En otro ensayo, se asperjó el sobrenadante al 15% diluido en agua in vitro sobre hojas de lechuga, las cuales se inocularon posteriormente con el hongo evaluando la incidencia. Para las pruebas de volátiles se enfrentaron en 2 placas opuestas (bacterias (abajo); hongo (arriba)) y se calculó el % de inhibición del crecimiento micelial. El sobrenadante de las 6 cepas inhibió el crecimiento micelial desde una concentración de 5%, llegando a inhibir un 70% del crecimiento micelial con la concentración mayor (30%). En hojas, el sobrenadante previene la infección de *S. esclerotiorum* disminuyendo sobre un 30% la incidencia. En la prueba de volátiles también se logró inhibir el crecimiento micelial, aunque menor al 60%. Pudimos demostrar, que las cepas seleccionadas presentan una acción directa a partir de la producción de sustancias antibióticas y de metabolitos volátiles.

FIC 2013 Primer Banco Regional de Bioplaguicidas para un control sustentable de fitopatógenos que afectan al sector hortofrutícola característico de las zonas áridas de Chile.

## Comunicaciones Libres Paneles 1

**Estudio comparativo de los determinantes de resistencia a cobre presentes en las cepas de *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 y ATCC 53993 mediante proteómica cuantitativa ICPL.****Comparative study of copper resistance determinants from *Acidithiobacillus ferrooxidans* strains ATCC 23270 and ATCC 53993 by means of quantitative ICPL proteomics.**

Martinez-Bussenius, C<sup>1</sup>., Oetiker, N<sup>2</sup>., Navarro, C.A.<sup>2</sup>., Jerez, Carlos A<sup>3</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Biología Universidad De Chile.<sup>3</sup>Biología, Ciencias, Universidad De Chile.

*Acidithiobacillus ferrooxidans* es una de las bacterias que participan en el consorcio biominero responsable de la solubilización de minerales de cobre. Dentro de las características que la hacen un modelo de estudio en los procesos de biolixiviación destaca su alta resistencia a metales pesados, lo que permite que solubilice minerales de cobre aún a altas concentraciones del metal en el medio. En nuestro laboratorio se determinó que el genoma de la cepa *A. ferrooxidans* ATCC 23270 tiene una batería de genes codificantes para proteínas que actúan como determinantes de resistencia a cobre, dentro de las que se cuentan proteínas que capturan el metal, ATPasas de eflujo y sistemas RND. Por otra parte, la cepa ATCC 53993 de *A. ferrooxidans* presenta una mayor resistencia a cobre respecto a la cepa ATCC 23270, ya que posee una región genómica ausente en el genoma de la cepa ATCC 23270. Esta zona comprende una serie de genes parálogos a los determinantes de resistencia a cobre ya conocidos. A partir de lo anterior, nuestro laboratorio propuso que la presencia de genes parálogos en la región genómica extra de la cepa ATCC 53993 determina su mayor resistencia a cobre. Para comprobar en parte dicha hipótesis, desarrollamos experimentos de proteómica cuantitativa ICPL (Isotope Coded Protein Label) con la cepa de *A. ferrooxidans* ATCC 53993 en ausencia y presencia de cobre. Se encontró que un gran número de proteínas cambian sus niveles de expresión. Entre éstas se encuentran no solo los determinantes de resistencia a cobre compartidos entre las dos cepas de *A. ferrooxidans*, sino que también aquellos exclusivos de la cepa ATCC 53993. Estos resultados sugieren fuertemente que la duplicación génica de esta última cepa es relevante para su mayor resistencia al cobre.

Proyecto Fondecyt 1110214

## Estudio funcional del sistema tiorredoxina en la bacteria extremófila *Leptospirillum rubarum*.

### Functional study of the thioredoxin system in the extremophile bacteria *Leptospirillum rubarum*.

**Gonzalez, Daniela**<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Ciencias Biomedicas, Medicina, Universidad De Chile.

Los sistemas tiorredoxina/disulfuro están involucrados en la mantención del *status redox* de proteínas y otras moléculas que contienen grupos tiorredoxina/disulfuro. En las bacterias Gram negativas, la mantención del equilibrio tiorredoxina/disulfuro ocurre gracias a la actividad del sistema tiorredoxina/tiorredoxina reductasa y de un sistema dependiente de glutatión. *Leptospirillum rubarum* es una bacteria oxidante de hierro que se encuentra naturalmente expuesta a altas concentraciones de metales que podrían favorecer la generación de condiciones oxidantes que alteran el equilibrio tiorredoxina/disulfuro celular. En una investigación previa se logró establecer que esta bacteria posee 12 genes que codifican para tiorredoxina (*trx1-trx12*) y 1 que codifica para tiorredoxina reductasa, pero no posee genes relacionados al sistema dependiente de glutatión. En este trabajo se evaluó el papel funcional de estos genes y sus respectivos productos en la respuesta frente a estrés oxidativo en *L. rubarum*. Los niveles de mRNA se evaluaron mediante RT-qPCR estableciéndose que los genes que codifican para *trx1*, *trx9* y *trx12* se encuentran sobreexpresados durante el estrés oxidativo inducido con ión férrico. La funcionalidad de estos genes se evaluó mediante experimentos de complementación génica en una cepa de *Escherichia coli* deficiente en el sistema tiorredoxina, la cual crece escasamente en presencia de 0,3 mM diamida. Los resultados obtenidos mostraron que la expresión de estos genes restaura el crecimiento a niveles cercanos a los observados en la cepa silvestre. Estos resultados sugieren que estos genes son funcionales y participan en la respuesta a estrés oxidativo y por tanto podrían ser considerados como claves en la sobrevivencia de *L. rubarum* en el ambiente natural.

Fondecyt 1120746

**Descripción de determinantes de resistencia a betalactámicos en bacterias antárticas.****Description of elements of resistance to beta-lactams in isolates of antarctic bacteria.**

**Vásquez Ponce, Felipe<sup>1</sup>**, Olivares Pacheco, Jorge <sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Biología, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por James Robeson Camus).

Una de las problemáticas a nivel mundial es el aumento de la resistencia a los antibióticos en bacterias patógenas. Algunos microorganismos, la gran mayoría no patógenos, presentan una resistencia intrínseca a estas moléculas. Ejemplos de este tipo de resistencia son la permeabilidad de la membrana, las bombas de flujo, la formación de biopelículas y genes relacionados con una amplia gama de funciones celulares. Estudios recientes han demostrado que los genes de resistencia ya estaban presentes en bacterias mucho antes de la introducción de éstos químicos en el mercado. Se ha descrito que bacterias ambientales crecen a altas concentraciones de antibióticos y que probablemente los determinantes de resistencia a estas moléculas puedan ser transferidos a bacterias patógenas; por lo tanto, las formas primitivas de muchos genes de resistencia a los antibióticos distribuidos actualmente entre las bacterias patógenas podrían estar presentes en microorganismos ambientales. La Antártida es considerada uno de los lugares más prístinos del planeta donde los niveles de contaminación de origen humano son casi nulos. Probablemente las bacterias presentes en este lugar nunca han estado en contacto con antibióticos. En esta investigación hemos trabajado con cinco cepas de *Pseudomonas* aisladas desde los suelos antárticos. Se estimó la concentración mínima inhibitoria para diferentes familias de antibióticos. Uno de los resultados que se obtuvieron muestra que cinco de estos aislados tienen altos niveles de resistencia a betalactámicos en comparación con los niveles de resistencia que presenta *Pseudomonas aeruginosa*. Hemos llegado a la conclusión que la resistencia a esta clase de antibióticos podría estar mediada por AmpC, una betalactamasa ampliamente distribuida en bacterias ambientales. Nuestros resultados nos indican que cuatro de las cinco cepas probablemente tengan el gen que codifica *ampC* en el cromosoma y que podría ser una forma primitiva de las betalactamasas ampC que están presentes en bacterias patógenas.

Dirección de investigación Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

## Caracterización clínica, serológica y virológica de infecciones severas por virus de influenza A

### Clinical, serological and virological characterization of severe infections by influenza A viruses in hospitalized patients.

**Barrera, A**<sup>1,2</sup>, Marco, C<sup>1</sup>, Tapia, K<sup>1</sup>, Aravena, M<sup>5</sup>, Gutierrez, C<sup>3</sup>, Lopez, T<sup>3</sup>, Perez, R<sup>5</sup>, Vizcaya, C<sup>5</sup>, Le Corre, N<sup>5</sup>, Ferres, M<sup>5</sup>, Medina, R<sup>4,5,1,2</sup>, <sup>1</sup>Laboratory of Molecular Virology Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>3</sup>Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>4</sup>Department of Microbiology, Global Health and Emerging Pathogens Institute Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA. <sup>5</sup>Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinado por Nicole Tischler)

Influenza A virus, affects mainly the upper respiratory tract and occasionally can cause viral pneumonia in some individuals. Disease outcome is modulated by both viral and host factors. To date no in-depth longitudinal studies have been conducted with influenza virus patients integrating pathogenesis, clinical findings, analysis of immune responses, and a complete characterization of the virulence and genome properties of the virus. In this study, between years 2011-2013, serial nasopharyngeal swabs and blood samples were collected from 82 hospitalized patients diagnosed as positive for influenza A, with either the H1N1pdm09 or H3N2 strains. Comprehensive meta analysis showed that 7,3% of patients had no risk factors (e.g. pre-existing comorbidities or high-risk age), suggesting that virulence determinants could be mediating disease severity. Unexpectedly, 8 individuals showed a decrease in antibodies titers at day 21 post-infection against a homologous virus, as compared to basal antibody titers at day 1. This may be related to immune suppression, or alternatively due to antigenic drift of the virus during infection. Characterization of the viral genome was done directly from nasal swab samples of 22 patients, 11 subtyped as H1N1pdm09 and 11 as H3N2 by qRT-PCR. The H1N1pdm09 strains showed differences on the plaque size in culture and pathogenesis in mice, which correlated with the diverse genotypes observed by deep-sequencing of serial swabs. In contrast, the H3N2 strains showed similar plaque phenotypes and genome sequences, although 2 marked circulating genotypes were observed. Transitional mutations observed in H1N1pdm09 viruses, such as L641M in the PA protein of isolate p12/2011 or I223M in the NA protein of isolate p3/2011, might explain a replicative advantage or antiviral resistance of these viruses, respectively, during the acute phase of the infection. Our results indicate that seasonally, severe influenza infection can be associated with diverse viral genotypes that might harbor yet uncharacterized virulence markers.

CONICYT 79100014 y FONDECYT 1121172. Instituto Milenio en Inmunología e Inmunoterapia. Center for Research in Influenza Pathogenesis (CRIP) an NIAID-funded Center for Research on Influenza Pathogenesis contract (HHSN272201400008C, CEIRS program) from NIH.

## Caracterización Molecular del Virus de Influenza Porcina en Chile .

### Molecular Characterization of Influenza Virus in Chilean Swine.

**Saavedra, M<sup>1</sup>.**, Tapia, K<sup>1</sup>., Medina, R<sup>1,2,3</sup>., <sup>1</sup>Laboratory of Molecular Virology Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Department of Microbiology, Global Health and Emerging Pathogens Institute Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA. <sup>3</sup>Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinado por Nicole Tischler)

Influenza A Virus (IAV) circulates endemically in swine and human populations, and other species in nature, presenting a constant concern to Public Health and production industries worldwide. Surveillance studies of these infectious agents have been of increasing concern for the swine industry in Chile, which has positioned itself as the 5th largest exporter of swine meat in the world. Chile has strong ecological barriers and high stringency regarding the movement of animals across its borders. Nevertheless, since 2009, there has been a constant circulation of IAV. However, there is limited diagnostic and surveillance capacity of swine in the country. We standardized diagnostic and subtyping tools to identify swine IAV in Chile, and analysed the genetic and phylogenetic characteristics of IAV found at production sites. We have developed and validated specific methodologies for detection and diagnosis of swine IAV to perform field surveillance studies to characterize the diversity and prevalence influenza viruses in swine. Seroprevalence studies showed that at production sites there is ~62.5% prevalence to IAV, and a ~35.2% positivity to H1N1-2009 pandemic-like viruses, with an overall infection rate of 35.8% in different swine populations. Genotyping identified the co-circulation of H1N1-2009 pandemic-like viruses and H3N2 strains, or at least one additional virus subtype at some sites. Our data indicates that most animals are susceptible to infection at 30 to 80 days of age (fattening pigs). When we sampled during these ages, we isolated 40 viruses from diverse production sites in the country. Partial sequencing of 3 viruses and phylogenetic analyses suggest that these viruses correspond to H1N1-2009 pandemic-like viruses. We are currently obtaining the full genome all the isolates to perform a comprehensive coalescent analysis of swine influenza. This will allow the first comprehensive study of the prevalence, diversity and evolution of swine influenza viruses in Chile.

Center for Research in Influenza Pathogenesis (CRIP) an NIAID-funded Center for Research on Influenza Pathogenesis contract (HHSN272201400008C, CEIRS program) from NIH.



## Catabolismo de benceno por la bacteria *Cupriavidus metallidurans* CH34.

### Benzene catabolism by the bacterium *Cupriavidus metallidurans* CH34.

**Aguilera, Felipe**<sup>1,2</sup>, Méndez, Valentina<sup>1</sup>, Montero, Francisco<sup>1</sup>, Cárdenas, Franco<sup>1</sup>, Rojas, Luis<sup>2</sup>, Seeger, Michael<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Química, Centro de Nanotecnología y Biología de Sistemas Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>2</sup>Línea de Bioenergía y Sustentabilidad Ambiental Centro de Investigación Científico Tecnológico para la Minería, CICITEM.

*Cupriavidus metallidurans* CH34 posee resistencia a una amplia gama de metales pesados mediada por sistemas de eflujo, complejación y reducción. Análisis genómicos revelaron que la cepa CH34 posee genes para la degradación de contaminantes aromáticos que sin embargo no han sido estudiados. El objetivo de este estudio es analizar la funcionalidad de rutas catabólicas involucradas en la degradación de benceno en *C. metallidurans* CH34. Para esto, se realizó un análisis bioinformático de rutas catabólicas de benceno presentes en el genoma de *C. metallidurans* CH34. Se caracterizó el crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones de benceno como única fuente de carbono. Adicionalmente, se analizó la expresión de genes codificantes para monooxigenasas y dioxigenasas pertenecientes a la ruta de degradación de benceno mediante RT-qPCR. Se midió las actividades enzimáticas de DmpB y TomA a través de ensayos de degradación por células en reposo y análisis por HPLC. *C. metallidurans* CH34 es capaz de crecer en benceno en concentraciones de hasta 5 mM como única fuente de carbono. Se observó en la ruta periférica la biotransformación de benceno en catecol catalizada por una tolueno-benceno monooxigenasa de multicomponentes (TomA012345). Se determinó en la ruta central la apertura "meta" del anillo de catecol por una catecol-2,3-dioxigenasa (DmpB). En conclusión *C. metallidurans* CH34 posee rutas de degradación de benceno funcionales permitiendo potencialmente la capacidad de degradar compuestos aromáticos en suelos contaminados con metales pesados, generando nuevas estrategias de biorremediación de ambientes contaminados complejos.

Fondecyt 11130117 (LR), USM 131342 (MS), Conicyt Fellowships (VM) y CN&BS.

## Caracterización del pseudogén STY0113 involucrado en la adaptación de *Salmonella Typhi* a su hospedero humano.

### Characterization of STY0113 pseudogen of *Salmonella Typhi* and its role in adaptations to the human host.

Díaz, Catalina C.<sup>1</sup>, Villagra, Nicolás A.<sup>2</sup>, Hidalgo, Alejandro A.<sup>2</sup>, Valenzuela, Matías L.<sup>1</sup>, Mora, Guido C.<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Guido C. Mora).

*S. Typhi* y *S. Typhimurium* poseen sobre un 96% de similitud entre sus genes compartidos. Sin embargo, *S. Typhimurium* es un patógeno generalista, mientras que *S. Typhi* solo infecta al ser humano. En nuestro laboratorio, hemos estudiado que esta y otras diferencias se producen por la ganancia o pérdida de funciones (genes). Un ejemplo de este último caso, es la formación de pseudogenes.

Uno de los muchos pseudogenes estudiado en nuestro laboratorio es STY0113. Mediante análisis *in silico*, se ha visto que este pseudogen en *S. Typhi* está interrumpido por dos secuencias de inserción, las cuales afectan la integridad del gen, y por lo tanto, su función. Por otro lado, STY0113 presenta su ortólogo en el gen STM0098 de *S. Typhimurium*, cuya función es participar en la síntesis de mureína y otorgar resistencia a vancomicina a 43°C. Sin embargo, no hay investigaciones referentes a su rol en virulencia. En base a estos antecedentes, se realizaron ensayos de sensibilidad a detergente, sales biliares y vancomicina, además de ensayos de invasión a células epiteliales Hep-2 con cepas crecidas a 37°C y 43°C. Nuestros resultados muestran que *S. Typhi* posee una mayor sensibilidad a detergentes, sales biliares y vancomicina a 43°C. Además, la expresión heteróloga del gen STM0098 en *S. Typhi* provoca un aumento en su resistencia a los compuestos anteriormente mencionados, y una disminución tanto en su crecimiento como en su invasión a células epiteliales Hep-2 a 43°C.

Concluimos que la pseudogenización de STY0113 en *S. Typhi* aumenta su sensibilidad a compuestos que actúan sobre la membrana citoplasmática y le otorga una ventaja en la invasión a células epiteliales Hep-2. Estos resultados permiten entender el proceso de adaptación específica de *S. Typhi* al humano.

Proyecto FONDECYT 1110120

## **Análisis *in silico* de las proteínas implicadas en el núcleo de exportación del sistema de secreción dot/icm en *Piscirickettsia salmonis*.**

### ***In silico* analysis of the proteins involved in the export core of the dot/icm secretion system in *Piscirickettsia salmonis*.**

**Flores, Patricio**<sup>1</sup>, Gómez, Fernando A.<sup>1</sup>, Marshall, Sergio H.<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Genética e Inmunología Molecular, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por Fernando Gómez Carmona).

*Piscirickettsia salmonis* es un importante patógeno que afecta a la industria salmonera en Chile. A la fecha, aun se desconocen aspectos relevantes de su biología y patogénesis, pero la reciente secuenciación del genoma de varias cepas ha permitido obtener cuantiosa información acerca de genes implicados en la virulencia de la bacteria. Este trabajo se centró en la búsqueda de genes pertenecientes a la maquinaria de exportación del Sistema de Secreción Tipo IV-B Dot/Icm. Para ello se realizó un análisis *in silico* del genoma de la cepa LF89 (ATCC VR-1361), utilizando el software CLC Main Workbench y el servidor de anotaciones RAST, pudiendo de esta forma identificar los genes que forman parte del núcleo central del complejo de exportación Dot/Icm (Canal intermembrana y poro de exportación). Adicionalmente, también se encontraron genes de otras proteínas del complejo de exportación, como la chaperona IcmW, la ATPasa DotB y la proteína DotA (evita fusión fagosoma-lisosoma) entre otras. Este análisis corroboró la existencia de 4 proteínas previamente descritas en ORFs funcionales (DotB, IcmK, DotA e IcmE). Con la finalidad de generar la reconstrucción del canal central de exportación utilizando herramientas bioinformáticas se realizó el modelamiento de las proteínas Dot/Icm a través de los servidores RaptorX y Phyre2. Se pudo observar que las proteínas conservan la estructura principal de sus homólogos presentes en *Legionella pneumophila* y *Coxiella burnetii*. A pesar de observarse diferencias en los modelamientos de algunas de ellas, los dominios conservados que caracterizan a las proteínas de esas familias se mantienen constantes. La reconstrucción del canal de exportación del sistema Dot/Icm de *P. salmonis* permitirá dilucidar el grado de conservación estructural de éste con respecto a otros Sistemas de Secreción Tipo IV, asimismo permitirá comprender en mejor forma el mecanismo principal de patogénesis de la bacteria.

Proyecto financiado por Fondecyt de Iniciación número 11130407

## Rol de la fosforilación en residuos conservados de HBx durante la replicación del genoma del virus de la hepatitis B.

### Role of phosphorylation in conserved residues of HBx during replication of the Hepatitis B virus genome

**Jimenez, Gustavo**<sup>1</sup>, Villanueva, Rodrigo<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virus Hepatitis, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.

El virus de la Hepatitis B (HBV) posee un genoma circular de DNA parcialmente doble hebra, que se localiza en el núcleo de células infectadas. HBx es una proteína involucrada en la regulación de la replicación viral, aunque se desconocen sus mecanismos de acción. Nuestro trabajo está enfocado en estudiar la regulación de la replicación viral que ejerce HBx, mediada por fosforilación en residuos filogenéticamente conservados, y con alta probabilidad de fosforilación, como son Ser25, Ser41, y Thr81. Para esto, construimos vectores de expresión de HBx mutantes en sitios de fosforilación, y adicionalmente un clon molecular del genoma de HBV que no expresa HBx (HBV X-). Con esto, hemos generado un sistema de replicación de HBV en líneas celulares donde HBV X- pueda ser complementado en *trans* con HBx mutantes. Nuestros resultados muestran que la replicación viral es dependiente de HBx en línea celular de hepatoma humano HepG2, y estudios de trans-complementación con HBx mutantes muestran importantes cambios en los niveles de replicación viral dependientes de la fosforilación de HBx como lo observamos a través de la cuantificación de intermediarios replicativos de DNA viral tanto citoplásmicos como nucleares, y por la secreción de antígenos virales HBsAg, y HBeAg. Estos resultados sugieren que los estados de fosforilación de la proteína HBx podrían regular la replicación viral.

Proyecto ANILLOS ACT1119

**Efecto del oxígeno sobre las modificaciones covalentes del lípido A en *Salmonella enterica*.****Effect of oxygen on covalent modifications of lipid A in *S. enterica*.**

**Velasquez, Felipe I.<sup>1</sup>**, Silva, Cecilia A.<sup>1</sup>, Contreras, Inés<sup>1</sup>, Santiviago, Carlos A.<sup>1</sup>, Álvarez, Sergio A.<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad De Chile.

Durante su ciclo infectivo, *Salmonella enterica* se ve enfrentada a variaciones en las condiciones ambientales que incluyen cambios de pH, osmolaridad y disponibilidad de oxígeno. Estas condiciones ambientales sirven de señal para modular la expresión de factores de virulencia, como el lipopolisacárido (LPS). El LPS, componente principal de la membrana externa, está compuesto por tres dominios estructurales bien definidos: el antígeno O (AgO), la región del CORE y el lípido A. Este último, también llamado endotoxina, además de ser parte integral de la membrana externa de las bacterias Gram negativo, es un conocido factor de virulencia, responsable de la secreción de citoquinas y expresión de moléculas de adhesión por parte del sistema inmune. El lípido A puede sufrir modificaciones covalentes, lo que modula su toxicidad y ayuda a la bacteria a evadir agentes antimicrobianos y al sistema inmune. Previamente, mostramos que el oxígeno, a través de los reguladores ArcA y Fnr, participan en la regulación del grado de polimerización del AgO de *S. Enteritidis* NCTC 13349. En este trabajo comenzamos a estudiar el efecto del oxígeno sobre las modificaciones covalentes del lípido A. Inicialmente, mediante qRT-PCR identificamos genes involucrados en estas modificaciones cuya expresión disminuyó significativamente cuando las bacterias se crecieron en ausencia de oxígeno (*eptA*, *eptB*, *lpxR*). Para determinar las modificaciones covalentes, el lípido A purificado se analizó mediante espectrometría de masas. Nuestros datos preliminares mostraron varias diferencias entre los espectros obtenidos de muestras purificadas desde bacterias crecidas con o sin oxígeno, las que podrían resultar de la expresión diferencial de estos genes. En conclusión, los resultados indican que la disponibilidad de oxígeno sería un factor que modula la estructura y, eventualmente, la actividad del lípido A de *S. enterica*.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1130225

## Diversidad de microorganismos endófitos y propiedades de la savia del Lechero (*Euphorbia lactiflua*).

### Diversity of endophytic microorganisms and properties of the Lechero's sap (*Euphorbia lactiflua*)

**Robles, I<sup>1</sup>.**, Kurte, L<sup>1</sup>., Hengst, M<sup>2,3,1,4</sup>., Dorador, C<sup>2,1,4,3</sup>., <sup>1</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería Universidad De Antofagasta. <sup>4</sup>Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst).

El Parque Nacional Pajón está ubicado a 51 kilómetros al norte de Taltal en la región de Antofagasta, rodeado de aguas y pastizales, que contribuyen al crecimiento de una amplia diversidad de flora y fauna endémica. El Lechero (*Euphorbia lactiflua*), es una planta laticífera cuya savia es utilizada por habitantes de la zona para tratar verrugas y callos, producidas por infecciones bacterianas; esto debido a sus posibles propiedades antimicrobianas. La savia corresponde a un látex constituido por diferentes compuestos químicos entre los cuales se encuentran tiglianos, dafnanos y diterpenos, algunos de ellos altamente tóxicos para una gran variedad de organismos. El objetivo de este trabajo fue identificar la microbiota asociada a la savia y demostrar su actividad antimicrobiana. Los microorganismos fueron cultivados y aislados en medios de cultivo sólidos y líquidos. Las cepas fueron caracterizadas mediante tinciones, microscopía de luz y epifluorescencia. Se obtuvo un total de 20 aislados bacterianos endófitos asociados, al látex los cuales fueron identificados por 16S ARNr, algunas de ellas correspondientes a los géneros *Sphingomonas* y *Aurantimonas*, ambas asociadas a la producción de compuestos bioactivos. Bacteria *Sphingomonas* poseen actividad antimicrobiana contra organismos gram positivos, y *Aurantimonas* producen compuestos antioxidantes como carotenoides. Este trabajo es una contribución al conocimiento de la farmacopea del norte de Chile, y la validación de las propiedades medicinales de plantas endémicas.

Proyecto Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia, Fondecyt N° 1140179

## Implementación de sistema de minigenomas del virus de la anemia infecciosa del salmón para la caracterización de la nucleoproteína viral.

### Development of minigenomes system of virus infectious salmon anemia for the characterization of the viral nucleoprotein.

**Santibañez, Alvaro**<sup>1.</sup>, Beltran-Pavez, Carolina<sup>1.</sup>, Morales, Jonathan<sup>2.</sup>, Toro-Ascuy, Daniela<sup>3.</sup>, Spencer, Eugenio<sup>3,2.</sup>, Cortez-San Martín, Marcelo<sup>1,3.</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Virología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología Acuicola, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Eugenio Germán Spencer Ossa).

El virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) es un patógeno que causa elevada mortalidad en el salmón del Atlántico, generando enormes pérdidas en la economía mundial. Su genoma consta de 8 segmentos de ssRNA de polaridad negativa, cada uno de los segmentos presenta en sus extremos las proteínas PB2, PB1 y PA que constituyen la polimerasa viral, y además están cubiertos por monómeros de la nucleoproteína (NP), formando en conjunto el complejo ribonucleoproteico (CRNP). CRNP es la unidad mínima para llevar a cabo la transcripción y replicación del genoma viral. Mediante el uso de plásmidos diseñados en el laboratorio se generó *ex vivo* un CRNP que expresa la proteína reportera EGFP, permitiendo evaluar el efecto que tienen las mutaciones R189A, R194A, R302A y K325A en la proteína NP. Estos aminoácidos estarían involucrados en la unión al RNA viral. El procedimiento experimental fue co-transfectar plásmidos que permiten la expresión de las proteínas que forman el CRNP en conjunto a un vector que expresa el genoma viral quimérico que contiene la secuencia complementaria al ORF de EGFP. Se generaron CRNPs con la NP nativa y las versiones de NP mutadas en células ASK, donde se evaluó la expresión del gen reportero cuantificando la transcripción y traducción por qRT-PCR y microscopía confocal, respectivamente. Los resultados obtenidos muestran que los CRNPs que contienen cualquiera de las versiones de la proteína NP mutada disminuye el número de copias del mRNA viral de  $4 \times 10^6$  a  $2 \times 10^6$ . De igual forma, la fluorescencia emitida por EGFP disminuye de 700 Unidades de Fluorescencia (UF) a 200UF. En conclusión, fue posible implementar un sistema de minigenomas para ISAV en células ASK de salmón, permitiendo determinar que los aminoácidos sugeridos R189, R194, R302 y K325, de NP, estarían involucrados en la transcripción viral.

Proyecto Fondecyt de Iniciación 11110212 DT Beca doctorado Nacional Conicyt

## La multirresistencia a antibióticos de cepas chilenas de *S. sonnei* aisladas entre los años 2010-2011 está asociada a la presencia de la isla SRL .

### Chilean multi-drug-resistant strains of *Shigella sonnei* isolated during 2010-2011 harbor SRL (*Shigella* resistance locus) pathogenicity island.

**García, C<sup>1</sup>.**, Bugueño, Marco<sup>1</sup>., Díaz, Patricia<sup>1</sup>., Henríquez, Tania<sup>1</sup>., Castillo, Gissela<sup>1</sup>., Galarce, Nicolás<sup>1</sup>., Hermosilla, Germán<sup>1</sup>., Ulloa, María Teresa<sup>1</sup>., Toro U., Cecilia<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.

La Shigelosis es una infección entérica aguda causada por el bacilo Gram-negativo *Shigella* spp. Esta infección afecta principalmente a niños menores de 5 años. El tratamiento de rutina es la hidratación, pero se recomienda el uso de antibióticos en los casos más graves, puesto que disminuye la carga bacteriana y aminora los síntomas. Sin embargo, el uso de antibióticos ha favorecido el surgimiento de cepas resistentes tanto en Chile como a nivel mundial. Esta resistencia puede estar determinada por la existencia de cassettes génicos, transposones, islas genómicas o plasmidios. En este estudio analizamos la presencia de estos elementos genéticos en cepas chilenas de *S. sonnei* aisladas en el periodo 2010-2011. De un total de 352 cepas de *S. sonnei* confirmadas por el ISP, se analizaron 80 para detectar la presencia de los integrones clase 1 y 2 y paralelamente la presencia, ubicación y vecindad génica de la isla SRL (isla de multirresistencia a antibióticos de *Shigella*), mediante PCR. Posteriormente, se secuenciaron fragmentos representativos de la población para comparar con aquéllas de la isla descrita en *S. flexneri*. Del total de cepas, 51 (64%) presentaron multirresistencia a ampicilina, tetraciclina y cloranfenicol; de ellas el 96% presentó la isla SRL inserta en la vecindad del gen tRNA *serX* y el integrón clase 1. Por otro lado, 20 de las cepas (25%) presentaron solo el integrón clase 2, asociado a resistencia a trimetoprim y 9 (11%) no portaron los elementos genéticos analizados. Finalmente, la organización genética de la isla SRL fue conservada y similar a la descrita en *S. flexneri*. Se concluye que la multirresistencia a antibióticos se encuentra principalmente relacionada a la presencia de la isla SRL en las cepas de *S. sonnei*, cuya ubicación y organización genética es similar a la descrita para *S. flexneri*.

Financiado por FONDECYT 1130394



## **Desarrollo de un método de ELISA fluorescente para la detección de IgM específica para *P. salmonis*.**

### **Development of a fluorescent ELISA platform for determination of specific IgM against *P. salmonis*.**

**Sandoval, Rodrigo**<sup>1</sup>, Nualart, Daniela<sup>1</sup>, Haro, Ronie<sup>1</sup>, Cárcamo, Juan Guillermo<sup>1</sup>, Yañez, Alejandro<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral De Chile. (Patrocinado por Jaime Eugenio Figueroa Valverde).

*La septicemia rickettsial salmonídea (SRS) es una enfermedad causada por Piscirickettsia salmonis, una Gammaproteobacteria intracelular. Este patógeno representa un serio problema para la industria salmonera en Chile. Las pérdidas económicas producidas por la enfermedad se estiman en US\$ 100 MM por mortalidades, disminución de la calidad del producto y uso de quimioterápicos para el tratamiento. En los últimos años los métodos serológicos de diagnóstico han tomado gran importancia, por este motivo es crucial perfeccionar los métodos clásicos para garantizar una mayor especificidad y sensibilidad de detección. Por lo tanto, se desarrolló un método de ELISA para la detección de IgM específicas contra P. salmonis presentes en sueros de peces infectados. En este trabajo se inmovilizaron diferentes extractos proteicos de P. salmonis para evaluar su reactividad con sueros de peces infectados y no infectados. Además se acopló a un sistema de revelado mediante Fluorescencia para compararlo con el clásico sistema colorimétrico. Observamos una significativa reactividad antígeno-anticuerpo de los sueros infectados por sobre los sueros de peces sanos demostrando la efectividad del antígeno empleado. Por otra parte, la señal obtenida con el sistema de revelado acoplado a fluorescencia fue mayor al obtenido por colorimetría aportando mejoras a la sensibilidad de la plataforma de ELISA. Por tanto, en este trabajo se consiguieron importantes avances que apuntan a la optimización de una valiosa herramienta de diagnóstico, principalmente aquellas que aluden a la sensibilidad del método pudiendo a futuro reducir el número de falsos negativos en el diagnóstico de esta enfermedad.*

INNOVA 11IDL2

Fondap-INCAR 15110027

## Nuevos oligonucleótidos para la identificación del gen *cat* y evaluación de la respuesta a estrés oxidativo inducida por UV en microorganismos.

### New oligonucleotides for *cat* identification and evaluation of oxidative stress response induced by UV in microorganisms.

**Kurte, L<sup>1</sup>**, Hengst, M<sup>2</sup>, Dorador, C<sup>3</sup>, Pérez, V<sup>4</sup>, Icaza, G<sup>4</sup>, Molina, V<sup>5</sup>, Robles, I.<sup>4</sup>, <sup>1</sup>departamento de biotecnología, facultad de ciencias del mar y recursos biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>4</sup>Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>5</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst López)

Una de las causas más comunes de estrés oxidativo a nivel celular, ocurre por la sobreexposición a alta radiación ultravioleta (RUV). En el desierto chileno se registra la más alta radiación del planeta llegando a alcanzar índices cercanos a 20. Las células han evolucionado diversos mecanismos para tolerar el exceso de radiación compatible con la vida; los que tienen por objetivo principal restaurar biomoléculas dañadas o evitar el daño generado por las especies radicales a partir de la producción de moléculas antioxidantes y/o enzimas detoxificantes. La respuesta al daño inducido por radiación UV se conoce como SOS e involucra la expresión de enzimas cuya función es la reparación del ADN y proteínas, y la detoxificación de radicales altamente reactivos desde la célula. El objetivo de este trabajo, fue evaluar la actividad oxidoreductasa en 23 bacterias aisladas del Salar de Huasco (Tarapacá) y diseñar oligonucleótidos específicos para la detección del gen *cat* (*Catalasa*). La catalasa es una de las primeras enzimas que se activa para disminuir los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intracelulares frente a la exposición al RUV. Los resultados obtenidos demuestran que 20 aislados presentaron actividad oxidoreductasa positiva. Los aislados positivos, fueron identificados por 16S ARNr, obteniendo géneros como *Bacillus*, *Exiguobacterium*, *Halomonas*, *Pseudomonas*, entre otras. De estos, 6 aislados fueron los utilizados para comprobar la eficacia de las 12 combinaciones de partidores realizados mediante softwares. Este trabajo contribuye al conocimiento de los mecanismos de respuesta a estrés que permiten vivir en condiciones extremas a los microorganismos del altiplano chileno.

Fondecyt N° 1140179, Fondecyt N° 1140356.

## Caracterización del T4SS presente en el ICEAfe1, un elemento genético móvil de la bacteria acidófila *Acidithiobacillus ferrooxidans*

### Characterization of a T4SS from ICEAfe1, a mobile genetic element from the acidophilic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Flores, Rodrigo<sup>1,2</sup>, Acuña, Lillian<sup>2</sup>, Castillo, Andrés<sup>1</sup>, Quatrini, Raquel<sup>2</sup>, Orellana, Omar<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Ecofisiología Microbiana Fundación Ciencia & Vida.

La transferencia génica horizontal (HGT) es importante en la evolución bacteriana, llevando a la adquisición de características ventajosas o cambios importantes en el estilo de vida. Uno de los mecanismos de HGT es la conjugación, que requiere un contacto directo entre la célula dadora y la receptora a través de un canal codificado por un Sistema de Secreción Tipo IV (T4SS). Estos sistemas no sólo están presentes en plásmidos conjugativos, sino que también en Elementos Integrativos Conjugativos (ICEs). Los ICEs son elementos autotransmisibles presentes en el cromosoma bacteriano cuya transferencia conjugativa ocurre luego de su escisión, formación de un intermediario circular y establecimiento de un canal de secreción codificado por su propio T4SS. *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 posee una región de 291kb (ICEAfe1) con módulos involucrados en integración/escisión, estabilización y movilización. Recientemente, nuestro laboratorio demostró que el ICEAfe1 se escinde espontáneamente del cromosoma y que aumenta en respuesta a mitomicina C. Con el fin de dilucidar el papel funcional del ICEAfe1 en el flujo génico en la comunidad biolixiviante, investigamos la expresión y propiedades moleculares del T4SS codificado. Mediante análisis bioinformáticos se reveló la presencia de 5 *clusters* conjugativos con organización similar a los ICEs SXT/R391, y que cuyas proteínas tendrían una localización similar a los componentes del plásmido F. Se demostró que todos los genes son activos transcripcionalmente en diferentes medios de cultivo y que formaban parte de operones independientes. Genes representativos de cada operón aumentan sus niveles de mRNA tras inducir daño al DNA. Mediante alineamientos múltiples de TraC (VirB4), TraD (VirD4) y relaxasa (VirD2) se identificaron regiones características de esas proteínas. Actualmente, está bajo análisis la posible actividad ATPasa y de *nicking* de la relaxasa.

Beca Conicyt 21110235 (RF) y 21120316 (AC), CA13110162 (LA), Basal PFB-16, Fondecyt 1140048 (RQ), Fondecyt 1110203 (OO)

## Efecto del invasor *trichoderma harzianum* sobre los patrones metabólicos de comunidades fúngicas experimentales.

### Effect of the invader *trichoderma harzianum* on metabolic patterns of experimental fungal communities.

**Morales, María Camila**<sup>1</sup>, Verdejo, Valentina<sup>1</sup>, Orlando, Julieta<sup>1</sup>, Carú, Margarita<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Margarita María De Fátima Carú Marambio).

El proceso de colonización de especies en nuevas áreas de distribución geográfica se conoce como invasión biológica. Numerosas investigaciones han abordado el estudio de este proceso; sin embargo son pocas las enfocadas en invasiones microbianas, aún cuando éstas ocurren en importantes procesos naturales y antropogénicos. En este estudio se evaluó el efecto de la invasión del hongo *Trichoderma harzianum* sobre los perfiles fisiológicos de comunidades fúngicas experimentales en el marco de la hipótesis de naturalización de Darwin, la cual propone que la intensidad de la competencia se reduce cuando el grado de parentesco entre el invasor y la comunidad es bajo. Para ello se construyeron 2 ensayos de microcosmos: i) comunidades compuestas por especies relacionadas filogenéticamente a *T. harzianum*, y ii) comunidades con especies no relacionadas filogenéticamente al invasor. Una comunidad de cada tipo se invadió con *T. harzianum*, mientras que las otras se utilizaron como control. El efecto del invasor sobre el perfil metabólico de las comunidades se determinó mediante el ensayo Biolog FF MicroPlate™, a los 0, 3, 7, 10 y 30 días después de la invasión. El análisis de componentes principales realizado con el promedio de las fuentes consumidas agrupadas por categorías (carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminoácidos, amidas/aminas, polímeros y misceláneos) explica un 87,8% de la varianza de los perfiles. Mediante este análisis se observa que las comunidades relacionadas con el invasor son fisiológicamente más similares al inicio de la invasión que las comunidades no relacionadas. Sin embargo, luego de 30 días de invasión, las comunidades invadidas se diferencian de las comunidades no invadidas, sugiriendo que el invasor determina a largo plazo el perfil metabólico de la comunidad receptora.

Proyecto FONDECYT 1120508, Beca CONICYT 21120772

**cyDiv, un factor de división celular en cianobacterias filamentosas.****cyDiv, a cell division factor in filamentous cyanobacteria.**

**Andrade, D<sup>1</sup>.**, Lillo, G<sup>1</sup>., Riquelme, B<sup>1</sup>., Vásquez, M<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile. (Patrocinado por Luz Mónica Vásquez).

Las cianobacterias realizan fotosíntesis oxigénica y presentan una amplia diversidad morfológica, incluyendo unicelulares y filamentosas. A pesar de ser bacterias Gram-, son filogenéticamente más cercanas al grupo de las bacterias Gram+. Enigmáticamente, tienen genes asociados a división celular que son característicos de ambos grupos, además de otros considerados exclusivos de cianobacterias. En nuestro laboratorio, a partir de genómica comparativa se ha escogido para caracterizar, un gen presente en todas las cianobacterias filamentosas descritas, nombrado *cyDiv* (cyanobacterial Division gene) que codifica para una proteína que presenta un dominios transmembrana y coiled-coil, característicos de algunas de las proteínas involucradas en división celular en los modelos clásicos de estudio. El mutante de *cyDiv*, por disrupción con un gen de resistencia, presenta un fenotipo letal con defectos en el posicionamiento del anillo de división celular, la segregación cromosómica y daños en la pared celular. Los resultados de localización sub-celular mediante inmunomarcación, sugieren que esta proteína se asocia con el anillo de división, pudiendo corresponder a un homólogo de FtsB (en *E.coli*) o DivIC (en *B. subtilis*).

Fondecyt #1131037

## Actividad *in vitro* anti-*Helicobacter pylori* de propóleos de diferentes áreas geomorfológicas de la región del Bio Bío, Chile.

### *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of propolis from different geomorphological areas at the Bio-Bío region, Chile.

Freire, J<sup>1</sup>., González, Carlos<sup>1</sup>., Pastene, Edgar<sup>2</sup>., García, Apolinaria<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Farmacognosia, Farmacia, Universidad De Concepción.

*Helicobacter pylori* es un patógeno Gram negativo, asociado a patologías como úlcera duodenal, carcinoma gástrico y linfoma de MALT cuya prevalencia alcanza el 50% a nivel mundial. El fracaso de las terapias de erradicación alcanza un 20% a 40%, principalmente debido a resistencia a claritromicina. En consecuencia, es fundamental la búsqueda de nuevas moléculas biológicas activas contra *H. pylori*, que contribuyan a la prevención y/o erradicación de este microorganismo. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad anti-*H. pylori* de propóleos de diferentes áreas geomorfológicas de la región del Bio Bío. Se utilizaron las cepas de referencia de *H. pylori* ATCC 43504, J99 y G27. La susceptibilidad a los extractos de propóleos se ensayó mediante difusión y dilución en agar. El extracto más activo se fraccionó mediante Cromatografía de Partición Centrífuga (CPC). Las fracciones se analizaron por cromatografía de capa fina (TLC), para identificar los principales compuestos. Los diez extractos analizados mostraron actividad anti-*H. pylori*, con zonas de inhibición entre 17 a 25 mm de diámetro. El extracto más activo mostró una CMI de 16 ug ml<sup>-1</sup> sobre *H. pylori* J99 y 32 ug ml<sup>-1</sup> sobre *H. pylori* ATCC 43504 y G27. Los resultados de CPC mostraron nueve fracciones con actividad anti-*H. pylori* variable. Los resultados de TLC revelaron la presencia de galangina, pinocembrina, crisina, ácido cafeico fenil éster (CAPE), kaempferol y quercetina. De acuerdo con nuestra información, este trabajo es el primero a nivel nacional sobre la actividad anti-*H. pylori* de propóleos. La actividad inhibitoria de los extractos de propóleos sugiere su potencial uso como ingrediente en alimentos funcionales destinados al manejo preventivo y/o complementario de la terapia farmacológica contra la infección por *H. pylori*.

1) Financiado a través programa de apoyo de tesis de postgrado otorgado por Innova Bio Bío, Proyecto: 13.404, 2013.

2) "Becario CONICYT" BECA PARA ESTUDIOS DE MAGÍSTER EN CHILE, AÑO ACADEMICO 2012.

## Adaptación del aislado antártico hiper-resistente a telurito *Psychrobacter immobilis* (BNF20).

### Adaptation of tellurite hyper-resistant *Psychrobacter immobilis* isolated from Antarctic territory.

**Muñoz, Claudia**<sup>1</sup>., Cornejo, Fabian<sup>1</sup>., Vargas, Joaquín<sup>1</sup>., Arenas, Felipe<sup>1</sup>., Vásquez, Claudio<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Dra. Gloria Levicán Jaque)

Se ha determinado que los mecanismos de resistencia que presentan los microorganismos frente a la toxicidad generada por metales y metaloides, se relacionan aparentemente con un efecto directo hacia el tóxico. En éstos, se puede destacar modificaciones químicas, expulsión al medio extracelular, reducción a especies menos tóxicas y secuestro del metal(oide). Sin embargo, en los últimos años las técnicas ómicas han permitido estudiar la activación de mecanismos de defensa globales en bacterias resistentes expuestas a diferentes metales y entre ellos, agregación celular (biofilm), modificación de la envoltura celular, incrementos en la bioabsorción extracelular del metal, control del consumo del tóxico, respuesta a estrés oxidativo, hidrólisis de proteínas mal plegadas, síntesis *de novo* de proteínas y producción de metabolitos, entre otros. Dado esto, se evaluó si alguno de estos mecanismos de respuesta están involucrados en la alta resistencia a telurito que exhibe *Psychrobacter immobilis*. El consumo de telurito por esta bacteria se determinó cuantificando en el tiempo la concentración extra- e intracelular del tóxico por ICP. Además, se determinó la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases y cambios en la morfología celular frente distintas concentraciones de telurito por microscopía electrónica de barrido. Los resultados muestran que *P. immobilis* no incorpora un porcentaje significativo de telurio, el que se mantiene principalmente en el medio extracelular. Al mismo tiempo, se puede apreciar que la composición de ácidos grasos y su variación durante la exposición a telurito, le permitirían resistir condiciones desfavorables. Asimismo, se observó que esta bacteria se agrupa cuando es expuesta a distintas concentraciones de telurito. Todo ello sugiere que la modificación de la envoltura celular, composición de ácidos grasos, agregación celular y disminución del consumo del tóxico observados podrían representar mecanismos de defensa de *P. immobilis* frente a telurito.

Financiado por FONDECYT Postdoctorado 3120049, FONDECYT Regular 1130362 y Proyecto INACH DG\_03-13.

## Efecto de sustrato en la producción de las actividades hidrolíticas amilasa y celulasa de levaduras psicrotolerantes.

### Substrate effects on the production of amylase and cellulase hydrolytic activities from psychrophilic yeasts.

**Carrasco, Mario**<sup>1</sup>, Barahona, Salvador<sup>1</sup>, Villarreal, Pablo<sup>1</sup>, Alcaíno, Jennifer<sup>1</sup>, Cifuentes, Víctor<sup>1</sup>, Baeza, Marcelo<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Ecológicas, Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Marcelo Enrique Baeza Cancino).

Una de las adaptaciones de las levaduras que habitan en ambientes fríos es la producción de enzimas hidrolíticas extracelulares activas a bajas temperaturas, que les permiten utilizar diferentes fuentes de carbono. Previamente nuestro grupo analizó las actividades extracelulares amilasa y celulasa en 22 especies de levaduras. Se encontró levaduras con ambas actividades, sin embargo el medio utilizado para crecer las levaduras fue YM con glucosa como principal fuente de carbono. En este trabajo se analizaron ambas actividades enzimáticas utilizando los sustratos de cada actividad como fuente de carbono para el crecimiento de las levaduras. Se determinó el crecimiento de las levaduras en medios YM y mínimo suplementados con diferentes concentraciones (0,125 a 2,0% p/v) de almidón soluble o carboximetilcelulosa (en adelante sustratos). Todas las levaduras analizadas presentaron mayor biomasa cuando se crecieron a las concentraciones más altas de sustrato. Luego, las levaduras se cultivaron en medios YM y mínimos suplementados con 1% glucosa o 2% del respectivo sustrato. Desde 100 ml de cada cultivo se obtuvo las proteínas extracelulares totales mediante precipitación con sulfato de amonio, diálisis (10kDa tamaño corte) y se determinó la respectiva actividad enzimática de cada muestra. El contenido proteico se analizó mediante SDS-PAGE y se visualizó con tinción de plata. Los mayores niveles de actividad enzimática amilasa y celulasa se obtuvieron en medio de cultivo YM suplementado con 2% p/v del sustrato respectivo. Además, los análisis de los perfiles de proteínas indican un aumento en la concentración de algunas proteínas en las muestras suplementadas con el sustrato en comparación a las proteínas obtenidas desde cultivos YM/1% glucosa. Estos resultados sugieren un efecto inductor mediado por sustrato en la producción de ambas enzimas hidrolíticas.

Proyecto Fondecyt 1130333.



## Alteraciones fenotípicas causadas por la interrupción de un gen del sistema de maduración del citocromo-C en un aislado antártico de *Pseudomonas* sp.

### Phenotypic alterations due to cytochrome-C maturation system gene knockout in an Antarctic isolate of *Pseudomonas* sp.

Pavlov, María <sup>1</sup>, Martínez, José Luis <sup>2</sup>, Marshall, Sergio., <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>2</sup>Departamento de Biotecnología Microbiana Centro Nacional de Biotecnología. (Patrocinado por Yoanna Eissler Parada).

Las proteínas periplásmicas denominadas Ccm (*Cytochrome C Maturation*) conforman el sistema de ensamblaje del citocromo-C en bacterias gran-negativas. En *Pseudomonas* esta maquinaria es de alta complejidad, razón por la cual se ha sugerido que las proteínas que la componen (CcmA-I) se encuentran implicadas en otras funciones fisiológicas críticas. Evidencias de aquello son los fenotipos pleiotrópicamente defectivos que resultan de la interrupción de los genes *ccm*, tales como alteraciones en la síntesis/secreción de sideróforos, en la incorporación de hierro, o en la resistencia a metales, entre otros. En este trabajo determinamos que la interrupción de uno de los componentes del sistema Ccm (gen *ccmI*) en un aislado antártico de *Pseudomonas* sp., a diferencia de lo descrito en otros géneros de bacterias Gram-negativas, no tiene efectos en la producción de sideróforos, incorporación de hierro y motilidad celular, sin embargo inhibe la síntesis y/o secreción de un compuesto anti-*Staphylococcus* producido por dicha cepa. Esta es la primera descripción de la asociación de una proteína Ccm con la producción de un compuesto antimicrobiano. Resta por dilucidar si este efecto es una consecuencia secundaria de la interrupción del gen *ccmI* o bien constituye un nuevo rol de la proteína Ccm asociado a la secreción y/o procesamiento de antimicrobianos producidos por *Pseudomonas*.

Beca de Doctorado Conicyt, Beca de Pasantía Internacional Conicyt y Beca de Apoyo de tesis de Posgrado INACH.

## Transmisión horizontal de genes entre *Salmonella bongori* y *Escherichia coli*: rol del bacteriófago P1.

### Horizontal gene transmission between *Salmonella bongori* and *Escherichia coli*: role of bacteriophage P1.

Riquelme, N<sup>1.</sup>, Robeson, James<sup>1.,1</sup>Biología, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por James Robeson).

La transferencia horizontal de genes mediada por bacteriófagos, la transducción, es un factor importante en procesos de generación de multirresistencias a antibióticos y en la diseminación de factores de virulencia. Esta relación fago-bacteria puede resumirse a: infección, generación de progenie viral infectiva y transducción. La especie *Salmonella bongori* ha sido ampliamente caracterizada en los últimos años en cuanto a aspectos moleculares que la diferencian claramente de la especie *S. enterica*. Por su parte, el colifago P1 es reconocido por su rol como transductor generalizado entre bacterias Gram negativas. La relación entre la especie *Salmonella bongori* y bacteriófago P1 se basa principalmente en la estrecha relación filogenética existente entre esta especie y *Escherichia coli*, bacteria a partir de la cual este virus fue aislado. Estudios previos confirman la eficiente infección y producción de progenie viral infectiva del derivado P1 *cm1clr100* en *S. bongori*, lo que llevó a postular que éste se mantiene de manera estable en esta especie en función de las generaciones y que es esperable la obtención de transductantes de un plasmidio de multirresistencia. La estabilidad de los lisógenos fue estimada mediante siembras sucesivas en medio líquido de cepas lisógenas por 50 generaciones para luego medir la persistencia de los caracteres fenotípicos conferidos por el fago. Para evaluar transducción se generaron cepas conteniendo el plasmidio RP4 las que posteriormente fueron lisogenizadas para evidenciar transducción entre *S. bongori* y *E. coli*. El bacteriófago demostró ser 100% estable en *Salmonella bongori* al cabo de 50 generaciones. La transducción de RP4 se dio a una frecuencia media de  $5,7 \times 10^{-6}$  transductantes/receptor. La presencia de los replicones en cuestión fue corroborada mediante PCR.

Vicerrectoría de Investigación y Estudios Avanzados, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Proyecto N° 037.489/2013

## Caracterización de FtsA-His6 y FtsAD27-His6 de *E. coli*, purificada a partir de un extractos solubles celulares.

### Characterization of FtsA-His6 and FtsAD27-His6 of *E. coli*, purified from cellular soluble extracts.

**Nova, Esteban<sup>2</sup>**, Maturana, Daniel<sup>1</sup>., Lagos, Rosalba<sup>2</sup>., Monasterio, Octavio<sup>2</sup>., <sup>1</sup>NanoTemper Technologies GmbH. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile.

En la división bacteriana participan más de 15 proteínas, concertadas temporal y espacialmente, la incorporación de las proteínas es secuencial, el proceso de división comienza con la formación del anillo de FtsZ en la mitad de la célula, el segundo evento es la incorporación de FtsA. FtsA es una proteína que pertenece a la familia de las Actinas, las que poseen actividad ATPásica. FtsA se une a la cara interna de la membrana citoplasmática, y ancla polímeros de FtsZ, a través de una hélice alfa anfipática, formada por los últimos 27 aminoácidos del extremo carboxilo terminal. FtsAD27 es una mutante trunca, que carece de los 27 residuos del extremo C-terminal. Varios grupos de trabajo han caracterizado a la FtsA *in vitro*, purificada a partir de cuerpos de inclusión y no han detectado actividad ATPásica en sus preparaciones. En nuestro laboratorio hemos purificado la FtsA-His6 y FtsAD27-His6 a partir de extractos solubles celulares. Ambas proteínas hidrolizan el nucleótido. A través de una cromatografía de exclusión molecular se separaron dos fracciones de FtsA, la oligomérica y otro monomérica, ambas fracciones presentaron actividad ATPásica, resultados preliminares mostraron una Km de 0,6 y 0,4 mM, respectivamente y una Km de 0,4 y 0,8 mM para FtsAD27. FtsA se une a liposomas, con una constante de disociación de lípidos totales accesibles de 60 microM y FtsAD27 no mostró unión a liposomas. La FtsA tanto en presencia o ausencia de ATP forma oligómeros. En resumen FtsA purificada a partir del extracto celular soluble funcional, se une a membrana, polimeriza en presencia y ausencia del nucleótido y presenta actividad ATPásica, en su forma monomérica y oligomérica, propiedades que solo habían sido descritas en una muestra semipurificada.

Financiamiento Proyecto Fondecyt 1130711 y DIVINOCELL project of the European Commission (FP7 223431).

## Rol del operón *cysJ/H* de *Salmonella* Typhimurium en la resistencia a antibióticos bactericidas.

### Role of *cysJ/H* operon from *Salmonella* Typhimurium in bactericidal antibiotic resistance.

Álvarez, Ricardo<sup>1</sup>, Neumann, Germán<sup>1</sup>, Frávega, Jorge<sup>1</sup>, Díaz, Fernando<sup>1</sup>, Tejías, Cristóbal<sup>1</sup>, Saavedra, Claudia P.<sup>1</sup>, Calderón, Iván L.<sup>1</sup>, Gil, Fernando<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Fernando Gil)

Nuestro conocimiento sobre las respuestas bacterianas que ocurren como consecuencia de la interacción con los antibióticos aún es incompleta. Se ha descrito que los antibióticos bactericidas al interactuar con su blanco primario estimulan la oxidación de NADH a través de la cadena transportadora de electrones aumentando las especies reactivas de oxígeno. En presencia de estrés oxidativo las bacterias activan sistemas globales involucrados en la respuesta antioxidante, pero además se ha propuesto un mecanismo secundario que relaciona la resistencia a antibióticos bactericidas con un aumento en la producción de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S). Este gas ha sido considerado como un sub-producto del metabolismo del azufre, sin una función fisiológica específica y solo usado en bacterias como un método de identificación. Considerando el posible rol del H<sub>2</sub>S en la resistencia a especies reactivas de oxígeno y/o antibióticos bactericidas, el objetivo de este trabajo fue determinar la participación de genes del metabolismo del azufre en la resistencia a estos tóxicos. Dentro de este estudio, los genes que presentaron un mayor aumento en su expresión frente a antibióticos bactericidas, determinado mediante qRT-PCR, fueron los pertenecientes al operón *cysJ/H*, relacionado con la producción de H<sub>2</sub>S a partir de sulfato. Al comparar la cepa mutante ( $\Delta cysJ/H$ ) con la silvestre, la mutante resultó ser más sensible a ceftriaxona y novobiocina. Por otro lado, se evaluó la producción de especies reactivas de oxígeno frente a antibióticos, observándose una mayor producción en la cepa mutante. Posteriormente, se determinó la producción de H<sub>2</sub>S en ambas cepas, resultando en una producción disminuida en la cepa mutante frente al tratamiento con antibióticos. Los resultados obtenidos sugieren que el operón *cysJ/H* aumenta la producción de H<sub>2</sub>S en respuesta a antibióticos bactericidas.

FONDECYT N°1130074

## Identificación genómica de *Shewanella* spp. aislada desde el territorio Antártico Chileno

### Genomic identification of *Shewanella* spp. isolated from the Chilean Antarctic Territory

**Valdivia, Mauricio**<sup>1</sup>, Loyola, David<sup>2</sup>, Jara, Matias<sup>3</sup>, Vargas, Joaquin<sup>1</sup>, Vasquez, Claudio<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Centro Nacional de Genómica y Bioinformática Universidad de Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Genética de Poblaciones y Rasgos Complejos I+DEA Ltda. (Patrocinado por Gloria Levicán Jaque).

Durante una expedición a la Antártica Chilena, se aisló una bacteria marina que pertenece al género *Shewanella*. Esta bacteria reduce telurito a concentraciones 1 mM (250 veces más que la concentración inhibitoria mínima de *E. coli* –ambas Gram negativo–). En este mismo contexto, el cobre agregado como catión divalente ( $\text{Cu}^{+2}$ ) es reducido a cobre elemental ( $\text{Cu}^0$ ). Esta reducción se observa fenotípicamente en la formación de una película metálica en la interface líquido-aire del medio de cultivo en condiciones de anaerobiosis. Esta biopelícula metálica no ha sido descrita hasta la fecha en bibliografía y se presenta como la primera bacteria que tiene este fenotipo tan particular. Bacterias del mismo género *Shewanella*, como *S. oneidensis* no presentan este fenotipo de reducción. El objetivo de este trabajo, es la identificación de la especie *Shewanella* spp. aislada del territorio Antártico Chileno.

Para cumplir el objetivo de este trabajo, se purificó ADN de *Shewanella* spp. La cuantificación se realizó en el equipo TECAN Infinite M200Pro. El DNA se envió a Macrogen, quienes realizaron una biblioteca por circularización con inserto de 3 Kb, para posteriormente secuenciar en el equipo Hiseq2000. Para identificar si corresponde a una nueva especie se ensambló el genoma utilizando el programa Velvet. Luego se comparó utilizando el programa MUMmer, la secuencia obtenida contra todas las secuencias de *Shewanella* disponibles en la base de datos 'Genome' de NCBI.

Se obtuvo un correcto ensamblaje del genoma de *Shewanella* spp. El análisis comparativo entre las diversas *Shewanella* arrojó un porcentaje de identidad entre pares de secuencias menor al 95% a nivel completo de genoma. Con estos resultados se determinó que estamos en presencia de una nueva especie de *Shewanella*.

Este trabajo es financiado por el proyecto Fondecyt Regular # 1130362.

## El sistema de dos componentes PhoP/PhoQ es requerido para la supervivencia de *Salmonella Typhimurium* al interior del protozoo *Dictyostellium discoideum*.

### The two-component system PhoP/PhoQ is required for *S. Typhimurium* survival within *D. discoideum*.

**Valenzuela, Camila**<sup>1</sup>, Riquelme, Sebastián<sup>1</sup>, Varas, Macarena<sup>2</sup>, Álvarez, Sergio<sup>1</sup>, Chávez, Francisco<sup>2</sup>, Santiviago, Carlos<sup>1</sup>,  
<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.  
<sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El sistema de dos componentes PhoP/PhoQ es uno de los principales reguladores transcripcionales que permiten la expresión de genes relacionados con la supervivencia de *Salmonella* al interior de los macrófagos de su hospedero. Por ejemplo, este sistema controla la expresión del Sistema de Secreción Tipo 3 (T3SS) codificado en la Isla de Patogenicidad 2 de *Salmonella* (SPI-2) y de genes que codifican transportadores de Mg<sup>2+</sup>, entre otros. Debido a su rol en la supervivencia al interior de macrófagos, quisimos investigar si el sistema PhoP/PhoQ contribuye en la supervivencia de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium al interior de la ameba bacteriófaga *Dictyostellium discoideum* de manera análoga a lo que ocurre al interior de las células fagocíticas del sistema inmune. Para investigar este fenómeno, construimos una mutante  $\Delta phoPQ$  derivada de *S. Typhimurium* 14028s mediante reemplazo alélico y realizamos ensayos de fagocitosis en *D. discoideum* AX4 utilizando la cepa silvestre y esta mutante. Posteriormente, evaluamos la capacidad de cada cepa para sobrevivir al interior de las amebas mediante la determinación del título de bacterias intracelulares de cada cepa a diferentes tiempos post-infección. Nuestros resultados muestran que la mutante  $\Delta phoPQ$  presenta defectos en la supervivencia al interior de *D. discoideum* a partir de la 4,5 h post-infección y que este defecto se acentúa a las 6 horas post-infección. Estos resultados indican que el sistema de dos componentes PhoP/PhoQ sería necesario para la supervivencia de *S. Typhimurium* en este protozoo y por lo tanto sería parte de un mecanismo conservado que le permite a *Salmonella* sobrevivir al interior de células fagocíticas de distinto origen.

**Financiamiento:** Proyectos FONDECYT 1140754 y 1120209. Beca CONICYT 21140615.

## Efecto de la nisina en el crecimiento de bacterias aerobias mesófilas y patógenos en cortes frescos de carne.

### Effect of nisin on the growth of mesophilic aerobic bacteria and pathogens in fresh cuts of meat.

**Montoya, Marcelo**<sup>1,2</sup>, González-Aravena, Marcelo<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Depto. Científico, Laboratorio de Biorrecursos Antárticos Instituto Antártico Chileno. (Patrocinado por Gerardo Gonzalez-Rocha).

Las enfermedades de transmisión alimentaria han adquirido una gran relevancia en los últimos años. Una solución a esta problemática ha sido la nisina de *Latococcus lactis*, cuyo uso está aprobado en alimentos por la FDA. Se tiene registro de su uso en productos cárneos, aunque restringido principalmente por la reducción en la actividad antimicrobiana debido a las características del medio. En el presente estudio se analizó el efecto de la nisina en el crecimiento cuantificable de bacterias aerobias mesófilas y patógenos clásicos en carne durante periodos cortos de refrigeración. Para los ensayos se trataron muestras de carne de vacuno con nisina 3,39 $\mu$ M y se mantuvieron a 4°C por 0h y 48h. Se realizaron recuentos de colonias de aerobios mesófilos (RAM), *Escherichia coli*/Gram negativos, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* a partir de diluciones de muestras de carne sembradas en medios cromogénicos selectivos y diferenciales específicos, expresando la carga bacteriana en UFC/g de carne. Los resultados demostraron que la carne tratada con nisina presenta un RAM inicial menor que la carne sin tratamiento, el cual aumenta significativamente al cabo de 48 horas de refrigeración en ambos casos. A diferencia de la carne sin tratamiento, existe aumento en la carga bacteriana de Gram negativos en carne tratada. No se observó aparición de *E. coli*, *S. aureus* y *L. monocytogenes* en ninguno de los dos casos. Es posible que la nisina actúe como un agente antimicrobiano selectivo, inhibiendo el crecimiento de las bacterias Gram positivas y favoreciendo el desarrollo de Gram negativos, se propone realizar caracterización por DGGE de las bacterias aisladas para confirmar este fenómeno. Los resultados indican la importancia de conocer el rango de acción antimicrobiana efectivo de un compuesto *in situ* antes de utilizarlo en ciertos tipos de productos en los que se puede favorecer el crecimiento de bacterias perjudiciales.

Proyecto Innova 11IDL2-10651

**Relación entre el desorden intrínseco y la agregación amiloide de la microcina E492.****Relationship between intrinsic disorder and amyloid aggregation of microcin E492.**

**Lobos, P<sup>1</sup>.**, Bignon, E<sup>1</sup>., Méndez, P<sup>1</sup>., Monasterio, O<sup>1</sup>., Lagos, R<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Lab. de Biología Estructural y Molecular, Fac. de Ciencias, U. de Chile. (Patrocinado por Rosalba Lagos Mónaco).

La microcina E492 (MceA) es un péptido antimicrobiano de bajo peso molecular producido por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. La proteína estructural MceA madura posee 84 residuos, se encuentra modificadapostraduccionalmente en su C-terminal con una molécula tipo salmoquelina que forma poros en membrana de la célula blanco (vía reconocimiento de la modificación por receptores de sideróforos) y que también es capaz de formar fibras amiloides. Las fibras amiloides son estructuras proteicas altamente estables que cumplen diversas funciones en microorganismos. Análisis mediante cromatografía de exclusión molecular, dicroísmo circular y barrido diferencial de fluorescencia demostraron que el monómero de MceA se encuentra en un estado parcialmente desordenado, y que la modificación disminuye el grado de desorden. El análisis bioinformático de la secuencia reveló 5 posibles regiones proamiloidogénicas y 2 posibles zonas de interacción proteína-proteína. Mediante experimentos de permeabilización en liposomas y cinéticas de agregación a partir de monómeros se demostró que la delección de la región proamiloidogénica 54-63 reduce drásticamente la agregación amiloide de MceA, conservando su actividad formadora de poros. Experimentos de entrecruzamiento mediante fotoactivación, microscopia de fuerza atómica y dicroísmo circular en UV cercano indicaron que la delección de los residuos 54-63 estabiliza la formación especies oligoméricas durante la cinética de agregación. A su vez, análisis de entrecruzamientos mediante cromatografía de exclusión demostraron que los oligómeros se favorecen en presencia de un inductor de estructura helicoidal. Estos resultados sugieren que MceA madura se encuentra en un estado parcialmente desordenado que es afectado por la modificación postraduccional, la cual ejerce un control cinético en la agregación amiloide donde interviene de manera esencial la región 54-63. Esta conclusión es congruente con un modelo propuesto nuestro laboratorio donde se postula que los oligómeros activos se encuentran fuera de la vía de agregación amiloide.

Financiado por FONDECYT 1140430



## **BACILLUS LICHENIFORMIS: UN MICROORGANISMO TERMOFÍLICO Y ALCALINOTOLERANTE CON UN METABOLISMO MUY VERSÁTIL**

### **BACILLUS LICHENIFORMIS: A THERMOPHILIC AND ALKALINETOLERANT MICROORGANISM WITH A VERSATILE METABOLISM**

**Peralta, R.**<sup>1</sup>, Blamey, J. M.<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Enzimología Fundación Científica y Cultural Biociencia.

Un microorganismo termofílico fue aislado de un sitio geotermal. Según el análisis del gen 16S rDNA, este presenta un 99% de identidad con *Bacillus licheniformis*. Este microorganismo, anaeróbico facultativo y motil, es capaz de crecer entre 16 y 70°C y presenta un pH óptimo de 7. Forma endosporas y exopolisacárido a un pH moderadamente alcalino y 37°C. Además, este microorganismo presenta un metabolismo muy versátil pues es capaz de usar distintos tipos de fuentes de carbono y nitrógeno, y de expresar funcionalmente diferentes enzimas con potencial biotecnológico como por ejemplo, fenoloxidasas como lacasa. La actividad lacasa fue detectada en sus endosporas luego de aislarlas y preparar una suspensión de ellas.

A pesar de que la enzima lacasa está ampliamente distribuida en plantas y hongos también ha sido encontrada en algunas bacterias y arqueas, incluyendo *Azospirillum lipoferum*, *Marinomonas mediterranea*, *Bacillus subtilis*, *Haloarcula marismortui*, *Natronomonas pharaonis* y *Pyrobaculum aerophilum*. En estos microorganismos, las lacasas participan de una multiplicidad de funciones vinculadas a procesos de pigmentación de endosporas, en el desarrollo de patogénesis y en la oxidación de metales. Varios métodos de extracción de las proteínas que forman parte de la cubierta de las endosporas de este microorganismo, fueron probados. Solo la incubación realizada con KOH tuvo buenos resultados, logrando con esto, el aislamiento de la enzima lacasa a partir de las esporas en forma funcional. Su posterior purificación se llevó a cabo mediante tres pasos cromatográficos. Los resultados obtenidos en esta investigación, permitieron la identificación de algunas de las proteínas que forman parte de la cubierta de las endosporas de *B. licheniformis* y estudiar el rol que ellas cumplen cuando el microorganismo es sometido a un estrés medioambiental.

**Análisis de los genes asociados al metabolismo de xilosa en *Wickerhamomyces anomalus*.****Analysis of genes associated to xylose metabolism of in *Wickerhamomyces anomalus*.**

**Calfullán, Héctor**<sup>1</sup>, Alcaíno, Jennifer<sup>1</sup>, Cifuentes, Victor<sup>1</sup>, Baeza, Marcelo<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile.

En la actualidad existe un interés considerable en la producción de biocombustibles a partir de residuos agrícolas, como los lignocelulósicos. Estos desechos son hidrolizados, producto de lo cual el principal azúcar que se obtiene es xilosa. Previamente, nuestro grupo caracterizó veintidós especies de levaduras, aisladas desde la Región subantártica, respecto de la asimilación de fuentes de carbono mediante galería API. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar levaduras que utilicen xilosa, como única fuente de carbono e identificar los genes asociados a tal metabolismo. Para ello las levaduras se cultivaron en medio mínimo suplementado con 2% de xilosa. Del panel de especies analizadas, la levadura *Wickerhamomyces anomalus* fue la que presentó un mejor crecimiento. Se diseñaron partidores degenerados en regiones conservadas de las nueve enzimas descritas en dicha ruta metabólica, y fueron utilizados en reacciones de PCR, usando como molde DNA genómico purificado desde el cultivo de levaduras capaces de crecer en xilosa. Los amplicones obtenidos fueron clonados, secuenciados y comparados contra la base de datos NCBI. Las secuencias que arrojaron "hits" con alta cobertura y porcentaje de identidad, fueron seleccionadas. Se diseñaron partidores específicos, los que fueron usados para confirmar las secuencias. De este modo se pudo clonar parte de cuatro posibles genes de la ruta: una xilosa reductasa, un transportador de xilosa, una ribulosa fosfato 3 epimerasa y una transaldolasa. Con los resultados obtenidos podemos sugerir que *W. anomalus* es un buen candidato para ser aplicado en la producción de bioetanol a partir de derivados lignocelulósicos.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1130333

## Análisis de la producción de proteínas anticongelantes por levaduras antárticas.

### Analysis of the production of antifreeze proteins by Antarctic yeasts.

**Villarreal, P<sup>1</sup>.**, Carrasco, Mario <sup>2</sup>., Barahona, Salvador <sup>3</sup>., Alcaíno, Jennifer <sup>3</sup>., Cifuentes, Víctor <sup>3</sup>., Baeza, Marcelo <sup>3</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile. <sup>3</sup>Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Marcelo Baeza).

Las levaduras que habitan en la región antártica han desarrollado adaptaciones para contrarrestar las condiciones ambientales adversas, como la congelación. Previamente determinamos la resistencia a ciclos de congelación y descongelación (C-C/D) de 18 especies de levaduras aisladas desde muestras de suelo Antártico. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar la producción de proteínas anticongelantes en las especies de levaduras que presentaron mayor tolerancia a C-C/D. Para ello fue necesario implementar una metodología colorimétrica basada en nanopartículas de oro (AuNPs), las cuales fueron sintetizadas a partir de tetracloroaurato de hidrógeno trihidratado, citrato de sodio y ácido mercaptosuccínico. Las muestras a ensayar se obtuvieron desde sobrenadantes de cultivos de las levaduras, mediante precipitación con 80% de sulfato de amonio. El ensayo de la actividad anticongelante consistió en mezclar 450  $\mu$ l de AuNPs con 50  $\mu$ l de muestra y someter a un C-C/D a  $-20/22^{\circ}\text{C}$ . Se midió la absorbancia de la mezcla a 520 y 650 nm antes y después del congelamiento. Si la razón de las absorbancias (520/650 nm) no varía entre antes y después del C-CD, es indicativo de actividad anticongelante. Del total de muestras ensayadas, la proveniente de *Leucosporidiella cretinivora* presentó la mayor actividad anticongelante, mientras que *Candida parpilopsis* no presentó esta actividad. Ambas levaduras presentan alta tolerancia a la congelación, por lo que se puede asumir que la levadura *C. parpilopsis* presentaría otros mecanismos para contrarrestar los efectos de la congelación.

Fondecyt 1130333.

## La atenuación de la expresión de un gen que codifica para un factor de transcripción hipotético del tipo $Zn(II)_2Cys_6$ altera el fenotipo de *Penicillium roqueforti*

### Attenuation of the expression of a gene encoding for an hypothetical $Zn(II)_2Cys_2$ transcription factor changes the phenotype of *Penicillium roqueforti*

**Rojas- Aedo, J F<sup>1</sup>**, Gil-Durán, C<sup>1</sup>, Medina, E<sup>1</sup>, García-Rico, R.O<sup>2</sup>, Vaca, I<sup>3</sup>, Chávez, R<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>2</sup>Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología (GIMBIO), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona, Colombia.<sup>3</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

*Penicillium roqueforti* es un hongo filamentoso que ha sido muy poco estudiado. En nuestro laboratorio contamos con una cepa de este hongo que contiene una GTPasa mutada, lo que causa alteraciones fenotípicas en el hongo. Estudios previos indican que esta cepa mutante expresa diferencialmente un gen que codifica para un factor de transcripción del tipo  $Zn(II)_2Cys_6$  (denominado gen C6) cuya función es desconocida. Los factores de transcripción del tipo  $Zn(II)_2Cys_6$  son exclusivos de hongos y han sido involucrados en procesos como el uso de fuentes de carbono y nitrógeno, la producción de metabolitos secundarios, y el desarrollo sexual/asexual. Para observar el efecto del gen C6 sobre *P. roqueforti*, se atenuó su expresión mediante la técnica de RNA de interferencia (RNAi). Para ello, un pequeño segmento de cDNA del gen C6 se clonó en el vector pJL43-RNAi, el cual es ampliamente usado para interferir genes de especies de *Penicillium*. Con la construcción obtenida, se procedió a la transformación de *P. roqueforti*. Al ser evaluados por RT-PCR, dos de los transformantes obtenidos mostraron casi una completa desaparición de los transcritos del gen C6. Estos transformantes mostraron evidentes cambios en la morfología macroscópica del hongo, y varios de sus parámetros fenotípicos, al ser cuantificados, aparecen alterados. De esta forma, los transformantes presentan una menor tasa de extensión apical en relación a la cepa nativa en varios medios de cultivo ensayados. Asimismo, los transformantes presentaron una menor tasa de conidiación y un mayor porcentaje de germinación conidial. Nuestros resultados sugieren que el gen C6 de *P. roqueforti* regula positivamente el control de la extensión apical y la producción de conidios, pero reprime la germinación conidial

Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT 1120833 y DICYT-USACH

## Caracterización de comunidades bacterianas asociadas a la filosfera de *Deschampsia antarctica*.

### Characterization of bacterial communities associated with the phyllosphere of *Deschampsia antarctica*

**Cid, F<sup>1</sup>.**, Jorquera, Milko<sup>2</sup>., Marileo, Luis<sup>1</sup>., Inostroza, Nitza<sup>2</sup>., Campos, Daniela<sup>2</sup>., Mora, María De La Luz<sup>2</sup>., Barrientos, Leticia<sup>3</sup>., <sup>1</sup>Centro de Interacción Suelo, Planta y Biotecnología de Recursos Naturales, Doctorado en Ciencias de Recursos Naturales, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Centro de Interacción Suelo, Planta y Biotecnología de Recursos Naturales, Scientific and Technological Bioresources Nucleus, Universidad De La Frontera. <sup>3</sup>Centro de Biología Molecular y Farmacogenética, Medicina, Universidad de La Frontera. (Patrocinado por Milko Jorquera Tapia, León Bravo Ramirez).

La superficie aérea de plantas, conocida como filósfera, permite el desarrollo de microorganismos epífitos como bacterias, levaduras y hongos. Sin embargo, este es un ambiente poco estudiado y sobre todo en plantas extremófilas de ambientes antárticos. Debido a esto, el objetivo de este estudio es caracterizar la estructura de la comunidad bacteriana asociada a la filósfera de *Deschampsia antarctica* de las islas Shetland del Sur, territorio Antártico Chileno. Bacterias desde hojas fueron colectadas con vortex (10 min) en 10 ml de solución salina esteril (0,85% NaCl), centrifugadas (13.000 rpm por 10 minutos) y resuspendidas en 50 µl de agua destilada esteril. La suspensión fue tratada con nitrógeno líquido para provocar la lisis celular y extraer el material genético. La amplificación del gen 16S ARNr se realizó con los primers EUBf933–GC/EUBr1387 y el producto de PCR (20 µl) fue cargado y corrido en un gel con gradiente denaturante 40-60% (urea-formamida) por 12 horas a 100V. El gel de DGGE fue fotografiado y la imagen analizada con el software Phoretix 1D y la matriz resultante sujeta a análisis de escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) para determinar diferencias significativas entre las comunidades. En adición, las bandas más representativas del gel de DGGE fueron cortadas, re-amplificadas y secuenciadas. El análisis del gel de DGGE separó las comunidades bacterianas en 2 cluster principales; uno de los cuales correspondió a muestras de plantas colectadas en el mismo sitio. Sin embargo, muestras colectadas en plantas de un mismo sitio también presentaron comunidades significativamente diferentes. Por otra parte la secuenciación de las bandas obtenidas coincidieron con secuencias del género *Pseudomonas* sp., *Psychrobacter* sp. y *Agrobacterium* sp. Este estudio evidenció que la estructura de las comunidades bacterianas presente en plantas de *D. antarctica* es variable inclusive en sitios de muestreo cercanos.

Agradecimientos: Beca de apoyo de tesis de Doctorado INACH (código DT\_01-13) y proyecto INACH (código RT\_14-12). Beca de apoyo de Doctorado Conicyt (no. 21140534).

## Uso de Espectroscopía Fotoacústica FTIR para la diferenciación rápida de especies de *Lactobacillus*.

### FTIR Photoacoustic spectroscopy for the rapid differentiation of *Lactobacillus* species.

**Inostroza, Juan Pablo**<sup>1</sup>, Saavedra, Renato<sup>1</sup>, Faúndez, Daniel<sup>1</sup>, Yañez, Jorge<sup>2</sup>, García, Apolinaria<sup>3</sup>, <sup>1</sup>CEFOP Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Química Analítica e Inorgánica, Ciencias Químicas, Universidad De Concepción. <sup>3</sup>Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción.

La diferenciación microbiana directa en la industria alimentaria es una herramienta esencial para la seguridad y calidad. Los métodos convencionales dependen de pruebas bioquímicas y serológicas específicas que toman varios días. En la última década la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) se ha convertido en una técnica ampliamente utilizada que proporciona información de la composición química y estructura molecular de materiales biológicos. El objetivo de este trabajo es explotar las ventajas de espectroscopía fotoacústica con FTIR (FTIR-PAS), combinado con análisis multivariado para la caracterización y diferenciación de cultivos de *Lactobacillus*: *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. plantarum* y *L. casei*. Las cepas fueron aisladas de biopsias gástricas y proveedores comerciales. Cada cepa fue cultivada (medio MRS Difco™, 48 hr, 37°C, 10% CO<sub>2</sub>, duplicado), liofilizada (Liofilizador Scientz 18n, -70°C, 13 Pa, 48 hr) y almacenada a -20°C hasta la lectura. Además cada una fue identificada mediante PCR. Los espectrogramas fueron obtenidos con un equipo Thermo-Nicolet Nexus 470 combinado con un detector fotoacústico MTEC-300 (rango 3500 y 700 cm<sup>-1</sup>, resolución 8 cm<sup>-1</sup>, 100 scans, triplicado). La exploración de las diferencias espectrales entre especies se realizó con preprocesamiento numérico y análisis de componentes principales (PCA) en el entorno de análisis estadístico R. Cada espectrograma muestra diferentes bandas asociadas con grupos funcionales específicos de los diferentes componentes celulares. El PCA permitió la diferenciación de muestras ciegas de cada cepa ensayada. Los gráficos de loadings indican las bandas espectrales relevantes que intervienen en la clasificación. La metodología establece FTIR-PAS como herramienta alternativa, rápida, sencilla y no destructiva para la discriminación de cepas de BAL en muestras liofilizadas.

Este trabajo fue financiado por el proyecto CONICYT PFB-0824.

## Caracterización y estudio de infectividad de *Piscirickettsia salmonis* en la línea celular SHK-1 de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) mediante microscopía confocal y microscopía electrónica de transmisión.

### Characterization and Infectivity study of *Piscirickettsia salmonis* in Atlantic salmon (*Salmo salar*) SHK-1 cell line by confocal and transmission electron microscopy.

**Oliver, Cristian**<sup>1</sup>, Valenzuela, Karla<sup>2</sup>, Figueroa, Jaime<sup>1</sup>, Yáñez, Alejandro Javier<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile. <sup>2</sup>Microbiology and Immunology Department Dalhousie University. (Patrocinado por Jaime Eugenio Figueroa Valverde).

*Piscirickettsia salmonis* es una bacteria Gram negativa, intracelular facultativa y agente etiológico de la piscirickettsiosis, una patología que afecta a las tres principales especies de salmónidos cultivadas en Chile. Pese a que el hospedero natural de *P. salmonis* son los peces, esta bacteria es capaz de infectar, sobrevivir y replicarse en células de insecto sf-9 y una serie de líneas celulares de peces como RTS-11 y CHSE-214. El objetivo de este trabajo fue caracterizar, en el curso del tiempo, la infección por *P. salmonis* en células SHK-1. Monocapas celulares fueron infectadas con *P. salmonis* y evaluadas a diferentes tiempos post-inoculación (*pi*): 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 3 h, 6 h, 24 h, 2 d, 4 d y 6 d mediante microscopía confocal y microscopía electrónica de transmisión. Los resultados mostraron que *P. salmonis* se encontró unida a la membrana celular a tiempos tan cortos como 15 min *pi* y, en algunos casos, las bacterias parecieran ser atrapadas por la célula hospedera. Las bacterias permanecen en esta etapa hasta 1 h *pi*. Posteriormente, entre 1 h y 3 h *pi*, las bacterias se comienzan a ver dentro de la célula hospedera en pequeñas vacuolas citoplasmáticas. 24 h *pi* se observan vacuolas citoplasmáticas de mayor tamaño y en algunos casos más de una única bacteria. A los 4 d y 6 d *pi*, se observan grandes vacuolas citoplasmáticas conteniendo múltiples bacterias en su interior y, en algunos casos, en evidente replicación. De acuerdo a los resultados obtenidos, se estableció el tiempo preciso en el cual *P. salmonis* ingresa en células SHK-1 y el orden secuencial de eventos posteriores al ingreso de la bacteria en la célula hospedera.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto FONDAP-INCAR 15110027 y MECESUP AUS-1203

## Aislamiento y caracterización de una bacteria perteneciente al género *Sulfobacillus* aislada desde una pila de lixiviación de sulfuros.

### Isolation and characterization of a bacterium belonging to the genus *Sulfobacillus* isolated from a sulfide leach pile.

**Cautivo, Dina**<sup>1</sup>, Acosta Grinok, Mauricio<sup>1</sup>, Demergasso, Cecilia<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología Alberto Ruiz Universidad Católica Del Norte.<sup>2</sup>Centro de Biotecnología ?Alberto Ruiz? Universidad Católica Del Norte.

Entre los microorganismos frecuentemente identificados en operaciones a temperaturas sobre 40°C se encuentran representantes del género *Sulfobacillus*. Los trabajos de identificación y monitoreo de los microorganismos presentes en la pila de biolixiviación de sulfuros de Minera Escondida (localizada en la región de Antofagasta, Chile) mostraron evidencias de la presencia de microorganismos termófilos en la pila, uno de los más frecuentes y abundantes correspondía a *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. Este microorganismo es una bacteria Gram positiva del filo Firmicutes. Las especies del género *Sulfobacillus* han sido aisladas de ambientes asociados a depósitos de minerales, yacimientos, plantas de procesamiento y áreas con actividad geotermal. Tienen un metabolismo versátil que les permite desarrollarse en ambientes de pH ácido, crecen en el rango 1,5 - 5,5 y el rango óptimo es de entre 1,9 y 2,4; el rango de temperatura para el crecimiento es de 20-60°C. Son mixotrofos y organotrofos facultativos, el Fe<sup>2+</sup>, S<sup>0</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, S<sub>4</sub>O<sub>6</sub><sup>2-</sup>, y minerales sulfurados son oxidados en presencia de sustratos orgánicos. El presente trabajo muestra los resultados del aislamiento y la caracterización del crecimiento de una cepa autóctona de *S. thermosulfidooxidans*. La cepa aislada presenta la mayor velocidad de oxidación de FeII a pH 1,5 y 45°C, mientras que el menor tiempo de duplicación se obtuvo en el rango de pH 1,7 - 2,0 a 49°C. El tiempo de duplicación en azufre elemental fue de 27 h, 18 veces más que el registrado con FeII. Cuando se inoculó en presencia de 1% pirita a 45°C, la disolución del mineral se inició al tercer día, la concentración de Fe total después de 40 días fue de 1000 ppm, correspondiente a un 22% de lixiviación de la pirita. Por otro lado, la cepa aislada es capaz de crecer en presencia de 200 mM de Cu<sup>2+</sup>, 100 mM de Cl<sup>-</sup> y 600 mM de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

Este trabajo fue, parcialmente, financiado por: Proyecto INNOVA 08-CM01-03 y Proyecto FONDECYT 1100887



## Generación y caracterización de las mutantes fumarato reductasa $\Delta hycDPQE$ y formato hidrogenoliasa $\Delta frdABCD$ en *Mycobacterium bovis* BCG.

Albornoz, A<sup>1</sup>., Zarraga, A<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral De Chile.

Se sugiere que la reducción de nitrato puede cumplir un rol importante durante anaerobiosis en *Mycobacterium tuberculosis* pues permite mantener una membrana energizada durante estados hipoxicos. Esta actividad enzimática estaría sujeta al aumento de expresión del transportador de nitrato NarK2, miembro del regulón DosR. En contraste, *M. bovis* no expresa *narK2* durante anaerobiosis. En este trabajo se propone que los operones fumarato reductasa *frdABCD* y formato hidrogenoliasa *hycDPQE* serían funcionales y contribuyen con el requerimiento energético del bacilo durante dormancia de *M. bovis* ya sea utilizando fumarato como aceptor final de electrones o acoplando un complejo formato hidrogenoliasa a la generación de ATP, como ha sido reportado para otras especies. Para investigar la participación de los operones *hycDPQE* y *frdABCD* en el metabolismo energético de *M. bovis*, se estudió su expresión en cultivos expuestos a óxido nítrico (NO), condición que simula el ambiente al interior del macrófago. Los resultados muestran que los genes de ambos operones se expresan en cepas silvestres de *M. bovis*, siendo la expresión del operón *hycDPQE* inducible por NO mientras que el operón *frdABCD* se regula negativamente frente a exposición con NO. Para estudiar el rol de dichos operones, se generaron mutantes de *M. bovis* BCG, por doble recombinación homóloga. No se apreciaron diferencias en el perfil de crecimiento. Dentro de los genes del metabolismo intermediario analizados post tratamiento con NO, triacilglicerol sintasa, miembro del regulon *dosR*, fue altamente sobre-expresado, destacándose una mayor sobre-expresión en  $\Delta frdABCD$ . Se observó además una menor expresión de la enzima málica y malato deshidrogenasa en las mutantes en comparación con la cepa silvestre de *M. bovis* BCG. Por otro lado, Isocitrato liasa se reguló positivamente en ambas mutantes a diferencia de la regulación negativa observada en *M. bovis* BCG. Se discute la importancia de ambos operones en la fisiología de *M. bovis*.

## Potencial probiótico de cepas de *Lactobacillus* aisladas de quesos de cabra frescos de la Región de Coquimbo.

### Potential probiotic *Lactobacillus* strains of isolated from fresh goat cheeses from the Region of Coquimbo.

González, Dagianna<sup>1</sup>, **Urriola, Nicole**<sup>2</sup>, Lara, Alejandro<sup>3</sup>, Rojas, Víctor<sup>3</sup>, Fernando, Costa Del Río<sup>3,4</sup>, Silva, Juan<sup>1</sup>, González-Cortez, Lux<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica Del Norte. <sup>3</sup>Escuela de Veterinaria Universidad Pedro De Valdivia. <sup>4</sup>INDAP, PRODESAL, Ilustre Municipalidad de Coquimbo.

Hasta el momento, pocos estudios han investigado la compleja microbiota de los quesos de cabra artesanales producidos en la Región de Coquimbo. Veinte y nueve cepas de bacterias ácido lácticas, sugeridas como *Lactobacillus* spp, fueron aisladas de quesos de cabra frescos producidos en el secano costero y secano interior de la Región de Coquimbo. De ellas fueron seleccionadas 3 cepas para realizar pruebas de virulencia: actividad gelatinásica, hialuronidásica y hemolítica, actividad antimicrobiana, resistencia a antibióticos (MIC), resistencia a tránsito gástrico, pruebas para evaluar capacidad tecnológica: actividad proteolítica, producción de coágulo y capacidad acidificante. Las tres cepas seleccionadas fueron negativas para los factores de virulencias. De los siete antibióticos probados, solo para ciprofloxacino las 3 cepas fueron resistentes, las cepas A1 y A2 presentaron resistencia a vancomicina, mientras que A3 fue resistente a gentamicina. Las cepas A1 y A2 presentaron actividad antimicrobiana para 8 de los 9 patógenos probados, mientras que A3 solo mostró actividad antimicrobiana frente a 3 patógenos. Las tres cepas fueron tolerantes a la acción de enzimas pancreáticas y pepsina por 3 horas. En las pruebas tecnológicas se observó que las tres cepas presentaron actividad proteolítica negativa, A1 presentó una buena capacidad acidificante a 37°C ( $\Delta$ pH 1,0), de igual forma esta cepa presentó formación de coágulo. Con estos resultados las 3 cepas pueden ser consideradas potenciales probióticos, con diferentes usos para la industria láctea. Así también, se siguen realizando estudios que permitan determinar los beneficios de estas cepas en la salud humana. Palabras Claves: Probióticos, bacterias ácido lácticas, queso de cabra artesanal.

## ***Salmonella* enterica serovar Typhimurium es capaz de sobrevivir en la ameba *Dictyostelium discoideum***

### ***Salmonella* Typhimurium is able to survive inside *Dictyostelium discoideum***

**Riquelme, Sebastián<sup>1</sup>**, Varas, Macarena<sup>2</sup>, Bravo-Toncio, Catalina<sup>2</sup>, Chávez, Francisco<sup>2</sup>, Santiviago, Carlos<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Patrocinado por Carlos Alberto Santiviago Cid).

La ameba social *Dictyostelium discoideum* se alimenta de bacterias y ha sido utilizada como modelo para el estudio del proceso de fagocitosis. De hecho, las amebas presentan una estrecha relación con los macrófagos ya que ambas células comparten mecanismos moleculares implicados en dicho proceso. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium es un patógeno intracelular facultativo que sobrevive al interior de los macrófagos. En vista de estos antecedentes, nos propusimos evaluar la supervivencia de *S. Typhimurium* en *D. discoideum* AX4. Para esto, desarrollamos un ensayo de fagocitosis *in vitro* que nos permite determinar la capacidad de diferentes bacterias de sobrevivir en este protozoo. Durante la implementación del ensayo se analizó la cepa 14028s de *S. Typhimurium*, una mutante  $\Delta$ aroA derivada de ésta y *E. coli* B/r, bacteria usada comúnmente para alimentar cultivos *in vitro* de *D. discoideum*. Se realizaron infecciones y se determinó el título de bacterias intracelulares de cada cepa a diferentes tiempos post-infección. También se evaluó la población de las amebas mediante recuento directo de células viables. Nuestros resultados indican que *S. Typhimurium* es capaz de permanecer en el ambiente intracelular, mientras que la mutante  $\Delta$ aroA y *E. coli* B/r son degradadas rápidamente por la ameba. Por otra parte, confirmamos que *D. discoideum* se alimenta de *E. coli* B/r, ya que el número de amebas aumenta al ser co-cultivada con esta bacteria. Sin embargo, este fenómeno no se observa en co-cultivos con *S. Typhimurium*. Estos resultados indican que *S. Typhimurium* es capaz de sobrevivir intracelularmente en *D. discoideum* y que las mutantes  $\Delta$ aroA presentan defectos en la supervivencia, al igual que lo observado en otras células fagocíticas eucariontes. Actualmente, el ensayo desarrollado nos permite evaluar la supervivencia de distintas mutantes de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*.

**Financiamiento:** Proyectos FONDECYT 1140754 y 1120209. Becas CONICYT 221320275 y 21120431.

## Comunicaciones Libres Paneles 1

**Desarrollo de un proceso productivo de ácido p-cumárico utilizando una cepa de *Pseudomonas putida* recombinante.****Development of production process of p-coumaric acid using recombinant strain of *Pseudomonas putida* KT2440.**

**Calderón, C<sup>1</sup>.**, Gentina, Juan<sup>1</sup>., Guzmán, Leda<sup>2</sup>., <sup>1</sup>Ingeniería Bioquímica, Ingeniería, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>2</sup>Bioquímica, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por Leda Marcela Guzmán Maluenda).

El desarrollo de un proceso biotecnológico productivo de ácido p-cumárico (pCA), utilizando la bacteria *Pseudomonas putida* KT2440 recombinante, que produce pCA mediante la inserción del gen tal de origen bacteriano, gen que codifica una tirosina amonio liasa (TAL). La TAL cataliza la conversión of tirosina a pCA, compuesto de atractivas actividades biológicas (anti-tumoral, ati- inflamatorio, anti-oxidante). Con esta metodología se busca producir un compuesto del tipo "fine chemical" con amplia aplicación en la industria farmacéutica, cosmética, de alimentos, y precursor de varios compuestos aromáticos (ácido caféico, resveratrol, etc.). Para ello, el gen *tal* fue clonado en el vector pBTBX-2 conteniendo el promotor Ara y P *putida* KT2440 (microorganismo tipo GRAS) fue transformada con dicho vector. Se determinaron parámetros cinéticos de la cepa, en distintas fuentes de carbono y energía utilizando cultivos batch. Se realizaron ensayos en matraz y biorreactor para variables como: Concentración de inductor, tiempo de inducción, alimentación L-tirosina/arabinosa, maximización de metodología de extracción del antioxidante. pCA y fuentes de C fueron cuantificados por HPLC, la biomasa se cuantifico por peso seco y turbidimetría. D-glucosa fue el carbohidrato con mejor productividad volumétrica de biomasa (0,22 g/L\*h), y arabinosa (inductor) no es utilizado como fuente de carbono y energía. La alimentación de L- tirosina parece ser el paso limitante para el aumento de producción de pCA. La concentración de pCA en las condiciones ensayadas fue de 12 mg/L. Por último, se estandarizó una metodología de extracción de pCA obteniendo sobre un 80% de recuperación frente al 50% obtenido utilizando metodologías descritas en literatura.

Beca Conicyt de Doctorado Nacional

Proyecto de financiamiento interno , PUCV

# Comunicaciones Libres Paneles 2

## **Estudio de la diversidad bacteriana de la columna de agua del Salar de Lllamará. Secuenciación Masiva: efecto de la salinidad y distribución espacial.**

### **Study of bacterial diversity in the wáter column from Salar de Lllamará. Next Generation Sequencing: effect of salinity and spatial distribution.**

**Arán, Pablo**<sup>1,2,3</sup>, Icaza, Gonzalo<sup>1,2,3</sup>, Dorador, Cristina<sup>1,2,3</sup>,<sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta.<sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta Universidad de Antofagasta.<sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad de Antofagasta. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz)

El Salar de Lllamará es un depósito hipersalino, ubicado en el Desierto de Atacama, norte de Chile, en la Región de Tarapacá, 10 km al norte de la localidad de Quillagua. Posee la particularidad de ser uno de los pocos salares con agua superficial ubicados en la depresión central del Desierto de Atacama, otorgándole características particulares sobre otros salares, como por ejemplo, alta radiación solar durante todo el día y el único en Chile, en poseer estructura similares a estromatolitos. La extracción de aguas desde el acuífero ha provocado episodios de sequedad de los pozos de agua superficiales y como consecuencia el aumento considerable de la concentración salina de sus aguas llegando a valores mayores a 50% de NaCl en algunos sitios. Debido a la importancia ecológica y ambiental de este salar, se analizó por primera vez la diversidad microbiana (Bacteria y Archaea) de 8 muestras de agua presentes en un área de 980 km<sup>2</sup> aproximadamente de extensión del salar utilizando técnicas de secuenciación masiva de ADN. Para este efecto, se tomaron muestras de agua y se realizó extracción de ADN y posterior secuenciación masiva del gen 16S utilizando pirosecuenciación. Se obtuvieron 38.940 secuencias, de las cuales, según los análisis por MOTHUR, 3.863 secuencias pertenecen a distintos OTUs, desde 8 sitios distintos de muestreo. Finalmente se ha logrado concluir, en primera instancia, que cada sitio de muestreo posee una diversidad única y que existe una importante cantidad de microorganismos que aún no han sido identificados dentro de las bases de datos. La alta diversidad microbiológica de este salar relicto, daría cuenta de importantes procesos metabólicos presentes en este ambiente, por lo cual es urgente su conservación.

CODEI-UA 5380; FONDECYT 1110953 y 1140179; Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia

## Caracterización de las actividades enzimáticas de microorganismos aislados desde los distintos estadios del desarrollo de *Octopus Mimus*: ¿Puede la microbiota epibionte contribuir a un ciclo de vida poco exitoso?

### Characterization of the enzymatic activities of microorganisms isolated from the different stages of development of *Octopus mimus*: Can epibiont microbiota contribute to lifecycle success?

**Alcayaga, V<sup>1</sup>**, Trench Fiol, Stephanie<sup>2</sup>, Infante, Claudia<sup>3</sup>, Hengst, Martha<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Biomedico, Ciencias de la salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio complejidad microbiana y ecología funcional, Ciencias de mar y recursos biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Laboratorio complejidad microbiana y ecología funcional, Centro de bioinnovación, Ciencias del mar y recursos biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>4</sup>Laboratorio complejidad microbiana y ecología funcional, Centro de bioinnovación, Instituto antofagasta, Centro de biotecnología y bioingeniería, Ciencias del mar y recursos biológicos, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst Lopez).

*Octopus mimus* es, después de *Concholepas concholepas* ("Loco"), el recurso bentónico más importante en la pesquería artesanal del norte de Chile. El 75% de su extracción es realizada en la región de Antofagasta, siendo de gran relevancia económica y social por su demanda en mercados internacionales. *O. mimus* es una especie de reproducción semelpara de ciclo vital corto, cuyas hembras mueren después del período reproductivo, existiendo una alta mortalidad larval tras la eclosión de los huevos (> 90%), cuyas causas no han sido establecidas hasta ahora.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la diversidad de microorganismos asociados a *O. mimus* y establecer su función en la sobrevivencia de estados inmaduros y adultos. Los microorganismos epibiontes, se aislaron desde diferentes estadios a partir de muestras ambientales y de hatchery, obteniendo un total de 50 aislados bacterianos, predominando los géneros *Vibrio* y *Shewanella*.

Como primera aproximación, se caracterizaron las siguientes actividades enzimáticas en bacterias epibiontes: i) hemolítica, ii) DNAsa, iii) Proteolítica, iv) Celulasa, v) Lipolítica y vi) Agarolítica. Posteriormente se realizó el método de doble capa de Dopazo, para la detección de las actividades antimicrobianas contra los patógenos marinos: *Vibrio anguillarum*, *Vibrio Ordalis* y *Vibrio parahaemolyticus*.

La producción de metabolitos secundarios producidos por las bacterias epibiontes y su influencia en la sobrevivencia de *O. mimus* está siendo estudiada por nuestro grupo. Estudios preliminares de extractos orgánicos obtenidos desde aislados bacterianos y analizados por HPLC-MS, muestran la presencia de moléculas del tipo polyen.

Estos resultados nos permiten postular que la comunidad epibionte de *O. mimus* está compuesta por microorganismos patógenos y probióticos, cuya composición varía de un estadio a otro y que esta podría contribuir a la sobrevivencia en estadios críticos del desarrollo, mediante posibles mecanismos de profilaxis desconocidos hasta ahora.

CeBiB (Centro de Biotecnología y Bioingeniería) FB 0001, CODEI-UA 5388, FICR4608, DAAD-Conicyt 2011-698.

## Aislamiento de actinobacterias asociadas a sedimentos marinos y esponjas marinas de la región de Atacama.

### Isolation of actinobacteria associated to marine sediments and sponges from the region of Atacama.

**Cumsille, Andres<sup>1</sup>**, Undabarrena, Agustina<sup>1</sup>, González, Myriam<sup>1</sup>, Seeger, Michael<sup>1</sup>, Beltrametti, Fabrizio<sup>2</sup>, Cámara, Beatriz<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología D Alakalay L Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>2</sup>Gerenzano, Italia. Actygea S.r.l. (Patrocinado por Michael Seeger Pfeiffer).

El aumento de la resistencia a antibióticos por parte de bacterias patógenas ha generado una urgencia en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos para el tratamiento de enfermedades infecciosas. El estudio del filo *Actinobacteria* ha dado múltiples reportes favorables para la producción de antibióticos debido a las propiedades metabólicas que poseen, como la producción de enzimas y la formación de metabolitos secundarios, generando no solo un interés farmacéutico, sino que también en procesos industriales. El filo *Actinobacteria* se encuentra en numerosos ecosistemas, pero en ambientes marinos ha tenido que desarrollar diversos mecanismos para sobrevivir en las condiciones adversas en las que se encuentra. Por otra parte, estos ecosistemas se conservan poco explorados en su mayoría, por lo que las actinobacterias marinas son una potencial fuente de nuevos compuestos bioactivos y de metabolitos secundarios. Con estos antecedentes, se propone la búsqueda de nuevas actinobacterias en las costas del norte de Chile, específicamente en la Caleta Chañaral de Aceituno (Región de Atacama) donde se analizaron muestras de sedimentos marinos y esponjas marinas. Esta investigación utilizó diversos medios y métodos de cultivos selectivos, con el fin de aislar actinobacterias. Se realizó una preselección de las cepas aisladas por microscopía, para luego realizar un análisis filogenético del gen que codifica el rRNA 16S. Se seleccionaron 27 cepas, dentro de las cuales algunas de ellas presentan morfologías características de actinobacterias como hifas aéreas, hifas vegetativas, micelios y formadoras de esporas. Algunas cepas identificadas pertenecen a las familias de *Streptomycetaceae* y *Nocardiopsaceae*. Se puede concluir que los ecosistemas marinos presentes en el norte de Chile, son una valiosa fuente para la búsqueda de actinobacterias.

Proyectos Fondecyt (11121571), PIE>A UTFSM (AC, AU), Beca Doctoral Conicyt (AU) y Swedish Research Council (2013-6713).



## Identificación de las rutas oxidativas del azufre que contribuyen al sulfato biogénico mediado por procariotas, en ecosistemas contrastantes del Altiplano Chileno.

### Identification of the sulfur oxidative routes that contribute to biogenic sulfate mediated by prokaryotes, in contrasting ecosystems in the Chilean high andean.

**Pérez, J<sup>1</sup>.**, Pérez, V<sup>2</sup>., Molina, V<sup>3</sup>., Dorador, C<sup>4</sup>., Icaza, G<sup>5</sup>., Hengst, M<sup>6</sup>., <sup>1</sup>Biomédico, Ciencias de la salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de complejidad microbiana y ecología funcional, centro de bioinnovación, Ciencias del mar y recursos biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Biología Universidad De Playa Ancha De Ciencias De La Educación. <sup>4</sup>Laboratorio de complejidad microbiana y ecología funcional, Centro de bioinnovación, instituto Antofagasta y centro de biotecnología y bioingeniería, Ciencias del mar y recursos biológicos, Universidad de antofagasta. <sup>5</sup>Laboratorio de complejidad microbiana y ecología funcional., Ciencias del mar y recursos biológicos., Universidad De Antofagasta. <sup>6</sup>Laboratorio de complejidad microbiana y ecología funcional, Centro de bioinnovación, instituto Antofagasta y centro de biotecnología y bioingeniería, Ciencias del mar y recursos biológicos., Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst López)

Los marcadores moleculares, en combinación con métodos de reconstrucción filogenética, han sido utilizados desde hace décadas para la comprensión de relaciones evolutivas entre especies, como también para definir grupos funcionales de origen polifilético. El objetivo de esta investigación fue la validación de marcadores moleculares para precisar los grupos funcionales más relevantes en el metabolismo oxidativo del azufre, en dos ecosistemas contrastantes del altiplano chileno: el Salar de Huasco y el Bofedal de Lirima. Para ello se han seleccionado 3 marcadores moleculares representativos de las 3 vías principales de oxidación de azufre en procariotas: Sox, Apr y Dsr, pertenecientes a complejos multienzimáticos con un rol clave en la oxidación de azufre hasta sulfato.

Se identificaron un total de 30 aislados provenientes de Huasco y 30 de Lirima por 16S ARNr, la mayor parte de ellos pertenecientes a Firmicutes y Proteobacteria. 19 especies fueron encontrados en Huasco y 9 en Lirima. Los resultados demuestran la presencia de los genes funcionales de las principales rutas de oxidación de azufre *sox*, *aps* y *dsr*, en determinados aislados de los ecosistemas en estudio. La variabilidad de las secuencias obtenidas para cada marcador funcional fue obtenida por comparación de secuencias aminoacídicas para todas las especies identificadas en este estudio.

Este trabajo permitirá establecer el aporte biogénico del sulfato en estos ambientes, ya que hasta ahora, la presencia de sulfato ha sido explicada únicamente por intemperización de rocas y actividad volcánica. No obstante, nuestros resultados apoyan una contribución biológica significativa mediada por la alta diversidad de microorganismos vinculados a procesos oxidativos y reductores de azufre presentes en estos ecosistemas.

Proyecto Centro de CeBiB FB 0001, Fondecyt N° 1140179 y N° 1140356, CODEI 5388.

## Estudio comparativo de la tolerancia a estrés oxidativo en las bacterias acidófilas ferrooxidantes *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

### Comparative study of oxidative stress tolerance in ferrooxidizing bacteria acidophilic *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Zapata, Claudia<sup>1</sup>., Farias, Ricardo<sup>1</sup>., Norambuena, Javiera<sup>1</sup>., Camejo, Pamela<sup>1</sup>., Levicán, Gloria<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile.

Las bacterias *Leptospirillum ferriphilum* y *Acidithiobacillus ferrooxidans* son importantes en la biolixiviación de minerales debido a su capacidad de oxidar hierro y/o azufre. Estudios de la dinámica poblacional de estas especies han revelado la dominancia de *L. ferriphilum*, sin embargo los motivos que explican esta dominancia no son claros. Los ambientes biolixivantes se caracterizan por poseer un pH muy ácido y elevadas concentraciones de metales, siendo por tanto ambientes típicamente oxidantes. En este trabajo hemos realizado un estudio comparativo de la capacidad de estos microorganismos para tolerar condiciones oxidantes. Ambas bacterias fueron expuestas a agentes oxidantes y se evaluó el crecimiento, el daño a las biomoléculas y la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Aunque los diferentes agentes oxidantes (230 y 260mM  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ , 4,6 y 6,2mM  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ , 10 y 30mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) afectan el crecimiento de ambas bacterias, este efecto resultó ser significativamente superior en *A. ferrooxidans*. Coincidentemente, el crecimiento de *L. ferriphilum* mostró una mejor recuperación luego de la exposición a agentes oxidantes o luz UV. Para analizar el efecto sobre las biomoléculas se midió el daño oxidativo sobre los lípidos mediante el método de las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico. Para evaluar el daño sobre el DNA se midió el nivel de dímeros ciclobutano de pirimidina mediante ELISA utilizando anticuerpos específicos. Los resultados obtenidos indican que *L. ferriphilum* posee una capacidad significativamente superior para revertir el daño a las biomoléculas analizadas. Finalmente, se determinó el nivel de ROS intracelular mediante la sonda fluorescente DCFH-DA. La exposición a estrés oxidativo llevó a un incremento del contenido de ROS en ambas bacterias, el cual disminuyó más rápidamente en *L. ferriphilum* pasado 8 horas post-estrés. En conjunto los resultados obtenidos indican que *L. ferriphilum* posee mayor capacidad de tolerar condiciones oxidantes lo cual podría explicar su dominancia en el ambiente biolixivante.

Fondecyt 1120746

## Efecto de *Piscirickettsia salmonis* sobre la respuesta inmune de macrófagos de salmón del Atlántico.

### Effects of *Piscirickettsia salmonis* on the immune response of Atlantic salmon macrophages.

**Soto-Herrera, Valentina**<sup>2</sup>, Morales, Jonathan<sup>1,2</sup>, Bastías-Riveros, Paulina<sup>2</sup>, González-Bown, María José<sup>1,2</sup>, Sandino, Ana María<sup>1,2</sup>, Reyes-Cerpa, Sebastián<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Patógenos de peces Ictio Biotechnologies. <sup>2</sup>Laboratorio de Virología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Ana María Sandino).

*Piscirickettsia salmonis* es un patógeno intracelular de salmonídeos que infecta macrófagos, reside en endosomas y evita su degradación lisosomal al interferir en la unión del complejo fagosoma-lisosoma, logrando sobrevivir y replicar al interior de los macrófagos. En este trabajo se evaluó el efecto sobre la expresión de moléculas asociadas a una respuesta inmune en cultivos primarios de macrófagos de riñón de salmón del Atlántico infectados por *P. salmonis*. Los cultivos primarios de macrófagos de riñón de salmón del Atlántico fueron obtenidos mediante gradiente discontinuo de Percoll. Los macrófagos fueron caracterizados mediante microscopía óptica y microscopía confocal, para luego ser infectados con *P. salmonis* en una cinética de 7 días. La expresión de transcritos asociados a respuesta inmune como TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$ , MHC II y CD86 fue realizada mediante qRT-PCR. La expresión de transcritos frente a la bacteria fue comparada con la expresión de éstos en macrófagos estimulados con LPS y poli I:C. Frente a una infección por *P. salmonis* la expresión de transcritos de citoquinas relacionadas con la respuesta inflamatoria temprana como IL-1 $\beta$ , IL-18 y TNF- $\alpha$  aumenta levemente, siendo comparable a lo obtenido al estimular con LPS y poli I:C. De modo opuesto, la expresión de transcritos de marcadores de activación de macrófagos como MHC-II y CD86 es levemente menor cuando se infecta con *P. salmonis* respecto a la inducción con LPS y poli I:C. La infección de *P. salmonis* en macrófagos si bien no disminuye la expresión de transcritos de respuesta inflamatoria temprana, si lo hace con aquellos marcadores asociados a la presentación antigénica, sugiriendo una inhibición en las funciones del macrófago.

Proyecto CORFO Consorcio 13CTI-21527

Proyecto INNOVA CORFO 09MCSS6698

**Genes relacionados a movilidad se expresan diferencialmente en aislados de *Listeria monocytogenes* con distinta capacidad de crecimiento en frío.****Genes related to motility are differentially expressed in isolates of *Listeria monocytogenes* with differential growth capacity in low temperature.**

**Maza, Felipe<sup>1</sup>**, Cordero, Ninoska<sup>1</sup>, Reyes-Jara, Angélica<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad De Chile.

*Listeria monocytogenes* (*Lm*) es una bacteria Gram positiva ubicua, transmitida por los alimentos y responsable de brotes de listeriosis a nivel mundial. Debido a aquello es que *Lm* es un organismo de crítica importancia a nivel de la industria alimentaria. Las barreras como temperatura de refrigeración, cloruro de sodio o sales cuaternarias, resultan no ser un impedimento para *Lm*. Esta alta tolerancia a factores estresantes, conllevan a una difícil eliminación del patógeno una vez que ha sido asentado. La capacidad de formación de biofilm y la persistencia del mismo, juegan un rol fundamental a la hora de colonizar una superficie. Estudios previos muestran que cepas mutantes para genes flagelares de *Lm* presentan una reducción en la formación de biofilm y así también que el biofilm se reduce a baja temperatura. Nuestro grupo ha estudiado la expresión global de *Lm* en respuesta a frío mostrando cambios transcripcionales diferenciales entre cepas con lento y rápido crecimiento a 8°C. El objetivo de este trabajo fue identificar genes asociados a la formación de biofilm que cambiaran su expresión en respuesta a frío diferencialmente entre cepas de crecimiento rápido y lento. El análisis mediante microarreglos y validación por qPCR permitió identificar genes asociados a la estructura flagelar y a quimiotaxis. Estos análisis han revelado una expresión diferencial en donde las cepas de crecimiento rápido presentan una represión de un mayor número de genes que codifican para estas proteínas (12,34% del total) a diferencia de las cepas de crecimiento lento (5,1% del total). Esto indicaría que la reducción de la formación de flagelo favorecería un crecimiento más rápido de *Lm* a bajas temperaturas. Estos datos junto con análisis de expresión temporal pueden revelar parte de los mecanismos que utiliza *Lm* para lograr una colonización rápida y eficiente en condiciones de estrés en la industria alimentaria.

Fondecyt 11121449

## La dieta afecta procesos neurodegenerativos inducidos genéticamente en *C. elegans* Diet affects genetically induced neurodegeneration in *C. elegans*

**Fuentes, A<sup>1</sup>**, Garcia, Victor<sup>1</sup>, Camicia, Federico<sup>1</sup>, Calixto, Andrea<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Neurociencias, Facultad de ciencias, Universidad Mayor.

*Caenorhabditis elegans* es un nemátodo bacterívoro, que es normalmente alimentado con *Escherichia coli* y es ampliamente utilizado como modelo en estudios de neurodegeneración (Calixto et al., 2012). Dependiendo del tipo de bacteria ingerida pueden ser afectados procesos fisiológicos del animal, como la longevidad, el desarrollo, la fertilidad y la tolerancia a factores de estrés. Sin embargo, el efecto de cambios en la dieta bacteriana en la neurodegeneración no ha sido investigado. Nuestro objetivo es evaluar el efecto de la dieta sobre la neurodegeneración. Para esto utilizamos el modelo neurodegenerativo *mec-4d* en *C. elegans*, el cual posee una mutación que genera la apertura constitutiva del canal MEC-4, produciendo degeneración de neuronas mecanosensoras. Se alimentaron nematodos con diferentes bacterias y se evaluó la integridad morfológica de la neurona (AVM) desde su nacimiento a las 12 horas hasta las 168 horas, mediante microscopía de fluorescencia. Posteriormente, se realizaron ensayos en bacterias irradiadas con luz UV y con mezclas de diferentes cepas. También se realizaron ensayos de sustitución de bacteria a las 12 horas. El mayor nivel de neurodegeneración fue producida por la alimentación con *E. coli* OP50, bacteria rutinaria para el cultivo de *C. elegans* en laboratorio. *E. coli* HT115 produjo el nivel de protección más alto, sostenido en el tiempo hasta las 168 horas. Las bacterias irradiadas con luz UV produjeron el mismo patrón de protección/degeneración que las bacterias vivas. La bacteria HT115 diluída 100 veces en OP50 produjo neuroprotección. El cultivo por 12 horas con HT115 fue suficiente para generar protección neuronal en animales posteriormente cultivados en OP50. *E. coli* HT115 genera factores neuroprotectores ausentes en OP50. Esta neuroprotección es generada de forma independiente a interacciones biológicas bacteria-hospedero. El factor neuroprotector activa eventos durante el desarrollo temprano del nemátodo que protegen de la neurodegeneración en etapas posteriores.

Investigación financiada a través de Proyecto FONDECYT 1131038 a AC.

## **Aumento de la expresión de la Vía General de Secreción (GSP) proteica en *Piscirickettsia salmonis* durante infección *in vitro* en células SHK-1 inducida por la bacteria.**

### **Increased expression of the general secretion pathway (GSP) in *Piscirickettsia salmonis* during *in vitro* infection in SHK-1 cells induced by the bacteria.**

**Sáez-Torres, J.<sup>1</sup>,** Cortés, M.<sup>1</sup>, Oliver, C.<sup>1</sup>, Sandoval, R.<sup>1</sup>, Haro, R.<sup>1</sup>, Silva, P.<sup>1</sup>, Calquín, P.<sup>1</sup>, Figueroa, J.<sup>1</sup>, Yañez, A.<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile. (Patrocinado por Jaime Eugenio Figueroa Valverde).

*Piscirickettsia salmonis*, bacteria Gram negativa, pleomórfica, cocoide, inmóvil e intracelular facultativa Gammaproteobacteria, agente causal de la Septicemia Rickettsial del Salmón (SRS), responsable de cuantiosas pérdidas en la salmonicultura en Chile, alcanzando mortalidades de 87,66% para salmón del atlántico (*Salmo salar*), 39,21% para salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) y 93,65% para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). El tratamiento de esta enfermedad mediante antibióticos y la utilización de vacunas aún no reflejan una disminución considerable de la enfermedad. Debido al poco conocimiento del mecanismo de infección involucrado, se evaluó la presencia de la Vía General de Secreción (GSP) en *Piscirickettsia salmonis* realizando cinéticas de infección en la línea celular SHK-1 con un MOI: 20. Se incubó a distintos tiempos post infección (1, 6, 12, 24 y 48 horas). Mediante PCR en Tiempo Real utilizando partidores específicos de los genes de GSP para la cepa bacteriana, y mediante el método de Cuantificación Relativa ( $\Delta\Delta Ct$ ), se observó un aumento en la expresión de los genes del complejo SecDFYajC a las 6h post infección que se mantiene hasta 24h e inclusive 48h en la mayoría de los genes evaluados, además de un aumento en la expresión del gen para YidC, proteína accesoria que también forma parte del Holotranslocon, comparado al crecimiento bacteriano libre en medio líquido donde no se observan estos cambios en los niveles de expresión. Esto en conjunto proporciona un indicio de que este sistema podría estar presente e involucrado en la infección. La presencia de esta vía de secreción es de gran importancia ya que es un sistema accesorio, que ayuda a otros sistemas de secreción cumpliendo un rol de traslocar proteínas hasta el espacio periplásmico, donde otro sistema de secreción podría tomar estas proteínas efectoras y secretarlas hacia el exterior de la bacteria durante la infección.

Trabajo financiado por el Proyecto FONDAP-INCAR N°15110027

## Producción de poli(3-hidroxiбутирато) y poli(3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiуalerato) por *Burkholderia xenovorans* LB400

### Production of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by *Burkholderia xenovorans* LB400

**Villegas, P<sup>1</sup>.**, Urtuvia, V<sup>1</sup>., Gonzalez, M<sup>1</sup>., Seeger, M<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Centro de Biotecnología & Centro de Nanotecnología y Sistemas Biológicos Universidad Técnica Federico Santa María.

Los polihidroxicanoatos (PHAs) son polímeros biodegradables y biocompatibles producidos principalmente por bacterias. Para la producción de PHAs las cepas bacterianas pueden utilizar azúcares o aceites vegetales como fuentes de carbono. Los PHAs son acumulados como gránulos discretos dentro del citoplasma bacteriano cuando la cepa es crecida en un exceso de la fuente de carbono y limitada en algún nutriente como nitrógeno, fósforo, cambios de pH y oxígeno. El objetivo de este estudio es caracterizar la producción poli(3-hidroxiбутирато), P3HB, y de poli(3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiуalerato), P3HB3HV, por la cepa LB400 en condiciones limitantes de nitrógeno. El P3HB y P3HB3HV, son los PHAs mejor estudiados y mayormente producidos. *Burkholderia xenovorans* LB400 es un eficaz degradador de policlorobifenilos y su genoma está secuenciado. Se ha identificado *in silico* que *B. xenovorans* LB400 posee los genes para dos rutas catabólicas involucradas en la síntesis de PHAs. A través de tinción con Sudan Black B se ha detectado la producción de PHAs cuando la cepa LB400 se cultivó en glucosa como fuente de carbono. *B. xenovorans* LB400 se cultivó en el medio mínimo M9 modificado empleando glucosa, xilosa y las mezclas glucosa/valerato y xilosa/valerato como fuentes de carbono. Se caracterizó el crecimiento en estas fuentes de carbono. Se determinó los parámetros cinéticos de la cepa. Mediante tinción con Rojo de Nilo se observó a través de microscopia de fluorescencia la producción de PHAs. Se identificaron los tipos PHAs producidos mediante GC-MS. Además se determinó el rendimiento y la productividad de PHAs. *B. xenovorans* LB400 se presenta como una atractiva cepa productora de PHAs utilizando como fuente de carbono hidrolizados de hemicelulosa.

FONDECYT (1110992), USM (131109, 131342), CNBS, CYTED-PRIBOP (MS, MG, VU) y Beca doctoral CONICYT (VU).

## PCR convencional como método diagnóstico para *Trichomoniasis* bucal.

### Conventional PCR as a diagnostic method for oral *trichomoniasis*.

**Bracamonte, C<sup>1</sup>.**, Herrera, Daniel<sup>2</sup>., Orrego, Patricio<sup>3</sup>., Bravo, Joel<sup>3</sup>., Araya, Jorge<sup>2</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Odontología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Departamento Biomédico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Jorge Enrique Araya Rojas)

**Introducción:** *Trichomonas tenax* (*T.tenax*) es un protozoo anaerobio facultativo que habita en la cavidad bucal humana. Su presencia se asocia a mala higiene oral, por lo que la probabilidad de identificarla aumenta en pacientes con enfermedad periodontal. Actualmente existe numerosos reportes con múltiples prevalencias de *Trichomoniasis* bucal, esto debido a la distinta metodología utilizada para su diagnóstico. **Objetivo:** Establecer la prevalencia de *T. tenax* en la cavidad bucal de pacientes adultos con periodontitis crónica generalizada severa (PCGS) mediante observación microscópica directa y por PCR convencional. **Materiales y métodos:** La toma de muestra se realizó antes de comenzar la terapia periodontal en 20 pacientes adultos con PCGS ingresados a la clínica de postítulo de Periodoncia en la Universidad de Antofagasta. De cada paciente se obtuvo 1 muestra de placa bacteriana adherida a la superficie dentaria, cálculo dentario supragingival y subgingival proveniente de sacos periodontales con una profundidad de sondaje  $\geq$  a 5 mm. Para la observación directa las muestras se concentraron a través de centrifugación y fueron observadas mediante microscopía óptica buscando la movilidad del trofozoíto. Para la PCR convencional, se utilizaron primers de diseño propio a partir de segmentos seleccionados de ADN de la región G3 beta-tubulina de *T.tenax*, generando un amplicón de 405 pb. **Resultados:** El 35% de los pacientes resulto positivo para la observación microscópica mientras que el 70% de los pacientes resulto positivo para amplificación de ADN por PCR convencional. **Conclusiones:** Nuestros resultados muestran diferencias significativas entre los métodos empleados para determinar la prevalencia de *T. tenax*. **Discusión:** Numerosos investigadores han establecido prevalencia sin embargo estas fluctúan en un rango de 0% a 53%, esta diferencia puede explicarse por la metodología utilizada como observación a fresco, tinción de muestras y cultivo en medio axénico que muestran una baja sensibilidad con respecto a la PCR convencional.

Proyecto financiado por programa de "Semilleros de investigación". Dirección de Gestión e Investigación - Universidad de Antofagasta



## Tamizaje de alto rendimiento de moléculas volátiles con potencial actividad anti-*Helicobacter pylori*

### High-throughput screening of volatile molecules with potential anti-*Helicobacter pylori*

**Carvajal, R<sup>1,2</sup>**, Pastene, E<sup>2</sup>, García, A<sup>1</sup>, Avello, M<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad De Concepción. (Patrocinado por Apolinaria Del Rosario García Cancino)

*Helicobacter pylori* (*Hp*) es una bacteria capaz de colonizar la mucosa gástrica humana y que está vinculada con patologías como la gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico. *Hp* presenta una alta prevalencia, afectando al 50% de la población mundial. El tratamiento consiste en una triple terapia antibiótica más un inhibidor de la bomba de protones. Sin embargo, se han reportado fallas terapéuticas debido a los efectos secundarios, lo que la ha llevado a selección de resistencia. Por esta razón, se deben explorar nuevas alternativas. Varios productos naturales poseen un potencial para el desarrollo de nuevos fármacos. Entre ellos, se ha reconocido a los aceites esenciales (AE) como uno de los grupos fitoquímicos de elevado interés. Los AE son una mezcla compleja de compuestos volátiles, los que confieren el aroma a las plantas y además, las protegen frente a agentes bióticos como bacterias, hongos e insectos. Dicha complejidad dificulta identificar con exactitud qué compuestos son los activos y su concentración efectiva, provocando una pérdida de información al momento de ser utilizados. Es por eso, que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto contra *Hp* (cepa ATCC 43504) de un grupo de compuestos volátiles aislados disponibles en nuestro laboratorio. Mediante un tamizaje de alto rendimiento (HTS) y usando ensayos de microdilución en caldo, se identificó los mejores compuestos. En cada caso se determinó su concentración mínima inhibitoria y eligió los mejores. De los compuestos evaluados, 21 presentaron actividad. De éstos, seis fueron los más activos: citronelal 0,21 ug/ml, nerol 0,215 ug/ml, geraniol 0,217 ug/ml, citral 0,221 ug/ml, linalol 0,222 ug/ml e isoeugenol 0,263 ug/ml. Para la validación, estos fueron mezclados en diferentes proporciones para optimizar la máxima actividad. Así se logró establecer su potencial para el desarrollo de nuevas formulaciones fitoterapéuticas complementarias para el manejo de la infección.

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 11110442 e Innova Bio Bio Cod. 12.123-IN-IEM.

## Caracterización parcial y actividad anti-microbiana *in vitro* de péptidos bio-activos presentes en el veneno del escorpión *Bothriurus coriaceus*.

### Partial characterization and anti-microbial activity *in vitro* of bioactive peptides present in the venom of the scorpion *Bothriurus coriaceus*.

**Bugueño, D<sup>1</sup>.**, González, Katterine<sup>1</sup>., Poblete, Juan Gerardo<sup>1</sup>., Orrego, Patricio<sup>2</sup>., Ordenes, Kely<sup>1</sup>., Cortes, William<sup>1</sup>., Catalán, Alejandro<sup>1</sup>., Herrera, Daniel<sup>1</sup>., Sagua, Hernán<sup>1</sup>., Araya, Jorge<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>Biomédico, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Patrocinado por Jorge Enrique Araya Rojas).

Los escorpiones son arácnidos que han vivido en la tierra desde hace más de 400 millones de años. Su larga historia evolutiva y la naturaleza proteica de su veneno les han permitido diversificar sus toxinas bajo la presión selectiva del medio donde viven. Se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo, de los cuales *Bothriurus coriaceus* es una especie endémica de Chile.

Nuestros estudios se sustentan en la problemática global de la terapia anti-microbiana y en la potencialidad de encontrar péptidos antimicrobianos de diferentes masas moleculares en el veneno del escorpión *Bothriurus coriaceus*.

Nuestro proyecto consideró una etapa inicial de recolección de *Bothriurus coriaceus* y su adaptación en cautiverio. En paralelo a esto, se mantuvieron en cultivo las cepas bacterianas de *Escherichia coli* (ATCC®25922), y *Staphylococcus aureus* (ATCC®29213). En una segunda etapa se procedió a extraer veneno mediante estimulación eléctrica del telson de los escorpiones, seguido de determinación y su caracterización electroforética. Conjuntamente, se fraccionaron las proteínas del veneno mediante técnicas de ultrafiltración.

Luego la evaluación del potencial anti-bacteriano *in vitro* evidenció una fuerte actividad antibacteriana frente *E. coli* no así en *S. aureus*, fenómeno biológico realmente interesante, argumentando a favor de un mecanismo diferencial de acción bactericida. Las moléculas responsables de este efecto sorprendentemente fueron las mayores de 30 kDa. Con esto, podemos concluir que existen componentes de naturaleza proteica con actividad antibacteriana en el veneno de *B. coriaceus*, resaltando el valor endémico de este artrópodo, siendo además este el primer reporte y una importante fuente para investigaciones futuras que profundicen en esta temática.

Proyecto FONDEF IDEA CA12110298

## Patrones de expresión de genes de resistencia a estrés (*cspC* y *opuCA*) frente a condiciones fluctuantes de temperatura y salinidad en *Exiguobacterium* spp. aisladas desde el salar de Ascotán, Chile.

### Expression patterns of stress resistance genes (*cspC* and *opuCA*) versus fluctuating temperature and salinity in *Exiguobacterium* spp. isolated from the Salar de Ascotán, Chile.

**Sanchez, Victor**<sup>1,2,3</sup>, Miranda, Nicolas<sup>1,3,2</sup>, Ávalos, Vladimir<sup>1,2,3</sup>, Icaza, Gonzalo<sup>1,2,3</sup>, Dorador, Cristina<sup>1,2,3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz).

*Exiguobacterium* comprende organismos mesófilos, termófilos, psicrófilos, alcalófilos, los cuales presentan tolerancia al aumento de salinidad (halófilos), considerándose como un género representante de la poliextremofilia, en donde sus mecanismos de resistencia y estrategias adaptativas frente a factores ecológicos limitantes aún no han sido descritos en profundidad. Para lo cual, se evaluó la transcripción diferencial del gen de resistencia a estrés salino *opuCA*, y el gen de resistencia a shock frío *cspC*, para miembros del género *Exiguobacterium*, identificando los patrones de expresión de estos genes en respuesta a un gradiente de temperatura y uno de salinidad.

Se utilizó la cepa *E. antarcticum* B7 (DSM 14480) como cepa de referencia, en contraste a una cepa ambiental del género *Exiguobacterium* aislada desde el salar de Ascotán, II región de Antofagasta, Chile. Las cepas fueron sometidas a dos factores limitantes del crecimiento, en un rango de temperatura que va desde los 4°C hasta los 42°C, y una salinidad que abarca desde 0% hasta 6% de NaCl. Los patrones de expresión fueron visualizados en gel de Agarosa; previa extracción de ARN, reacción de retrotranscripción, y amplificación mediante la cadena de la polimerasa para los genes en estudio.

Resultados preliminares muestran patrones de expresión génica diferenciales en cada uno de los genes funcionales utilizados, además de diferencias significativas en los patrones de crecimiento de las cepas frente a distintas condiciones ambientales.

FONDECYT N° 1140179; Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia

***Bacillus megaterium* como vehículo de expresión *in situ* de citoquinas de Salmónidos.*****Bacillus megaterium* as *in situ* expression vehicle for Salmonid cytokines.**

**Leyton, Rodrigo**<sup>1,4</sup>, Espinoza, Carolina<sup>2,4</sup>, González, Josué<sup>1,4</sup>, Arriaza, Francisco<sup>1,4</sup>, Muñoz, Carlos<sup>1,4</sup>, Sandino, Ana María<sup>3,4,1</sup>, Tello, Mario<sup>1,4</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Metagenómica Bacteriana, Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología, Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Virología, Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. <sup>4</sup>Ictio Biothechnologies General del Canto N° 460, Providencia, Santiago, Chile.. (Patrocinado por Mario Tello Reyes).

**Introducción:** En humanos la administración de citoquinas ha sido utilizada con éxito para combatir diversas patologías. Sin embargo, el alto costo de su purificación y administración hace inviable su aplicación en acuicultura. El uso de bacterias como sistemas de liberación de péptidos al interior del tracto gastrointestinal (liberación *in situ*) es una estrategia de bajo costo, potencialmente aplicable en acuicultura. *Bacillus megaterium* es una bacteria Gram positiva, GRAS, de gran tamaño y elevada tasa de síntesis proteica. Esta bacteria ha sido utilizada con éxito en la expresión de diversas proteínas, entre ellas anticuerpos, sin embargo su utilización como sistema de liberación *in situ* aún no ha sido evaluada. **Hipótesis:** *Bacillus megaterium* permite la expresión *in situ* de citoquinas inmunoestimulantes de Salmónidos. **Metodología:** Mediante síntesis *in vitro* de DNA, el gen que codifica para una citoquina de salmón fue clonado en un vector de expresión inducible por xilosa. La expresión de este gen fue verificada mediante Western Blot y ELISA. La supervivencia de *Bacillus megaterium* y expresión *in situ* se evaluó mediante microscopía confocal utilizando cepas que expresan GFP. La estimulación del sistema inmune fue determinada mediante Real Time PCR cuantificando la expresión de los genes Mx y PKR. **Resultados:** La administración de alimento suplementado con *Bacillus megaterium* expresando una citoquina inmunoestimulante produce un incremento de la expresión de Mx y PKR en los órganos inmunológicos de *Oncorhynchus mykiss*. Los ensayos de supervivencia mostraron que *Bacillus megaterium* es degradado al interior del tracto gastrointestinal, muy probablemente liberando su contenido proteico *in situ*. **Conclusión:** La administración de *Bacillus megaterium* expresando una citoquina inmunoestimulante de salmón permite la estimulación del sistema inmune mediante su liberación *in situ*. Nuestros experimentos indican que *Bacillus megaterium* es un buen candidato probiótico para ser utilizado en acuicultura como vehículo de liberación de agentes inmunoestimulantes de naturaleza proteica.

Agradecimientos: Proyecto FIA PYT20120056, CORFO INNOVA 13 CTI-21527.

**Caracterización del operon *pel* en la bacteria extremófilo *Acidithiobacillus caldus*.****Characterization of *pel* operon from the extremophile bacterium *Acidithiobacillus caldus*.**

**León, Nelson<sup>1</sup>**, Farah, Carolina<sup>1</sup>, Schaefer, Francisca<sup>1</sup>, Castro, Matías<sup>1</sup>, Guiliani, Nicolas<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología, Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Nicolas Guiliani).

En el ambiente las bacterias se encuentran predominantemente formando biopelículas. Estas son comunidades bacterianas adheridas a superficies bióticas o abióticas que se mantienen juntas mediante la síntesis de una matriz extracelular compuesta por exopolisacáridos (EPS), proteínas y ácidos nucleicos. El polisacárido Pel es un componente esencial del EPS de varias bacterias gram-negativas. Su síntesis involucra siete proteínas codificadas en el operon *pelABCEDFG*. Recientemente, hemos identificado la presencia de un operón tipo *pel* en la bacteria acidófila *Acidithiobacillus caldus*. Las diferentes proteínas Pel de *At. caldus* presentan un alto grado de identidad con las proteínas de *Pseudomonas aeruginosa* sugiriendo que la regulación de la síntesis del EPS Pel en este microorganismo extremófilo podría involucrar también la vía del mensajero secundario c-di-GMP mediante el efector proteico capaz de unir c-di-GMP PelD. Tomando en cuenta el rol del polisacárido Pel en la formación de biopelículas, se ha iniciado la caracterización del operón *pel* de *At. caldus* mediante análisis transcripcionales y genéticos. Los primeros resultados indican que los siete genes *pelABCEDFG* podrían conformar una sola unidad operónica. Actualmente, se está realizando estudios transcripcionales comparativos entre células adheridas y planctónicas con el fin de analizar si existe una mayor expresión del operón en células adheridas. Además, luego de desarrollar un vector suicida que conlleva la resistencia a kanamicina, se está construyendo una cepa mutante nulo *pelD*- mediante intercambio de marcador genético con el fin de estudiar el rol de la vía del c-di-GMP en la regulación de la síntesis del EPS Pel en *At. caldus*. Un primer ensayo de conjugación ha permitido aislar clones recombinantes que se están caracterizando mediante PCR, secuenciación y Southern Blot.

FONDECYT 1120295

## Activación de la vía de señalización antiviral de IFN- $\alpha$ mediada por el flavonoide H y su efecto sobre la replicación del virus ISA e IPN en líneas celulares de salmónidos.

### Activation of the IFN- $\alpha$ antiviral signaling pathway by H flavonoid and its effect on the replication of ISA and IPN viruses in salmonid cell lines.

**Soto-Aguilera, S<sup>1</sup>**, Valenzuela, B<sup>1</sup>, Cortéz-San Martín, M<sup>1</sup>, Sandino, A.M<sup>1</sup>, Modak, B<sup>1</sup>, Imarai, M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Mario Tello Reyes).

**Introducción:** IFN- $\alpha$  constituye la mayor línea de defensa contra infecciones virales en vertebrados, activando varios genes de acción antiviral temprana en la célula. Estudios previos realizados en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y en la línea celular SHK-1, demostraron que el flavonoide H, derivado del género *Heliotropium*, es capaz de producir un incremento en los transcritos de IFN- $\alpha$ , sugiriendo que este compuesto puede producir un estado antiviral mediante la activación de la vía de señalización antiviral de IFN- $\alpha$  en salmónidos. En este trabajo examinamos si la capacidad del flavonoide H de aumentar los niveles de transcrito de esta citoquina, se correlaciona con la actividad antiviral contra el virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV) y contra el virus de la Necrosis Pancreática (IPNV). **Metodología:** La línea celular SHK-1 fue estimulada con el compuesto H, produciéndose un medio condicionado. Posteriormente la línea celular ASK fue tratada con el medio condicionado proveniente de células SHK-1 y luego fue infectada con ISAV o IPNV. La inducción de IFN- $\alpha$ , los genes inducidos por IFN y carga viral de ISAV e IPNV se evaluaron mediante PCR en tiempo real. **Resultados:** En las células SHK-1 el flavonoide H produjo un incremento de los niveles de transcrito de los genes IFN- $\alpha$ , Mx, PKR y  $\gamma$ IP. Las células ASK mostraron un elevado incremento de la expresión de IFN- $\alpha$ , Mx, PKR a partir del cuarto día de tratamiento con medio condicionado H. Una concomitante disminución de la carga viral de ISAV e IPNV fue observada tras el cuarto o el segundo día de tratamiento respectivamente. **Conclusiones:** El flavonoide H induce en las células de salmónidos compuestos capaces de activar la vía de señalización antiviral de IFN- $\alpha$ , inhibiendo la replicación de ISAV e IPNV en etapas tempranas de la infección celular *in vitro*.

CONICYT, VRID-USACH, INNOVA-CHILE-PBT90 07CN13, FONDECYT 1110295.

## Caracterización de bacterias termófilas etanol tolerantes del género *Geobacillus*, aisladas en la macrozona norte de Chile.

### Characterization of ethanol-tolerant thermophilic bacteria of the genus *Geobacillus*, isolated from geographic macrozone of Northern Chile.

**Sanchez, Lesly**<sup>1.</sup>, Zamorano, Pedro<sup>1.</sup>, Valenzuela, Bernardita<sup>2.</sup>, <sup>1</sup>Biomédico, Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de Microorganismos Extremófilos, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta.

En las últimas décadas varios microorganismos termófilos etanol tolerantes han sido caracterizados y aislados desde diferentes ambientes con la intención de evaluar su capacidad de fermentación y desarrollar la producción de etanol a gran escala. Previamente en el Laboratorio de Microorganismos Extremófilos se aislaron bacterias del género *Geobacillus sp.* desde distintos lugares de la macrozona norte de Chile. Miembros de este género se han descrito como productores de etanol y presentar etanol tolerancia, destacando la cepa *Geobacillus thermoglucosidasius* (M10EXG), capaz de tolerar concentraciones de etanol hasta 10% (v/v). El objetivo de este trabajo fue realizar una caracterización de la etanol tolerancia que presentan cepas de *Geobacillus sp.* aisladas de la Zona Macro Norte de Chile, determinando la tasa de crecimiento a distintas concentraciones de etanol (0-5% v/v), la viabilidad bacteriana (0-15% v/v) y la utilización de azúcar de 5 y 6 carbonos. Todas las determinaciones realizadas a 60°C. Los datos obtenidos indican que las cepas C3 y CJ1 son capaces de proliferar a concentraciones de 4% v/v de etanol, M3 y TB4 a 3% v/v de etanol; y TB5, Q1 y 3A55 2% v/v de etanol. Sin embargo todas las cepas exceptuando M3 presentan viabilidad bacteriana en presencia de concentraciones de etanol del 15% v/v. Además las cepas C3, CJ1, M3, TB4 Y 3A55 son capaces de utilizar xilosa y glucosa como fuentes de carbono. Los resultados de este trabajo demuestran que las cepas C3 y CJ1 del género *Geobacillus sp.*, aislados de la Macrozona norte de Chile, son potenciales candidatos para la producción de bioetanol en termófilos.

PROYECTO FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD REGIONAL ANTOFAGASTA (4636).

PROYECTO VIU FONDEF 130046.

## Posibles Mecanismos de respuesta a estrés salino en la cepa bacteriana halotolerante *Exiguobacterium sp.* SH31 aislada desde el Salar de Huasco.

### Possible mechanisms of salt stress response in the halotolerant bacterial strain *Exiguobacterium sp.* SH31 isolated from Salar de Huasco.

**Fortt, Jonathan**<sup>1</sup>., Ossandón, Francisco<sup>2</sup>., Quatrini, Raquel<sup>2</sup>., Remonsellez, Francisco<sup>2</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química, Laboratorio de Tecnologías de membranas, Biotecnología y Medio Ambiente, Universidad Católica del Norte. <sup>2</sup>Fundación Ciencia y Vida Fundación Ciencia y Vida.

El género *Exiguobacterium* se ha detectado en ambientes extremos como el glaciar de Groenlandia, Siberia (Rusia), lago Ginger (Antártida), aguas termales del parque Yellowstone, y humedales andinos. Interesantemente, cepas de este género poseen mecanismos de adaptación únicos, y presentan algunas propiedades de interés con potencial biotecnológico.

El propósito de este trabajo es identificar y proponer mecanismos de osmoadaptación mediante herramientas genómicas en la cepa *Exiguobacterium sp.* SH31, aislada previamente desde el Altiplano Chileno.

La secuencia del genoma de la cepa SH31 se obtuvo mediante el uso de la plataforma Roche 454 FLEX en OMICSolutions (Chile). El genoma se ensambló manualmente utilizando secuencias de referencia disponibles pertenecientes al género *Exiguobacterium*. Finalmente, se obtuvo un "pseudocromosoma" de 2.982.757 bases y contenido G+C de 51,14 %. Además, se identificaron 3.542 secuencias codificantes (CDS) mediante el sistema de anotación automática ORFminer.

El genoma codifica dos copias del transportador ABC para glicina-betaina/colina (sistema opuB), y una copia del transportador de prolina (opuE). Además, detectamos la presencia de genes que codifican proteínas responsables de la síntesis de glicina-betaina a partir de colina (gbsA y gbsB). Por otro lado, detectamos la presencia de proteínas tales como gltA (glutamato sintasa) y glnA (glutamina sintase), las cuales están relacionadas con la síntesis de solutos compatibles. Además, el genoma arrojó la presencia de genes que responden a estrés salino en *Bacillus subtilis* y *Listeria monocytogenes*, como Pyrrolina-5-carboxilato-reductasa (proC), proteína de unión a la pared celular (yocH), proteína del motor flagelar (motB), biosíntesis de flagelo (fliZ), y chaperona de respuesta a estrés térmico (cspD y groES).

Este trabajo destaca al Salar de Huasco como un ambiente con gran potencial de microorganismos no descritos que pueden ser utilizados en estudios detallados de mecanismos de osmoadaptación y otros factores de estrés ambiental.

Proyecto Fondecyt 11100414



## The role of the nuclear cap-binding complex on gene expression from the full-length unspliced HIV-1 genomic RNA

**García, Francisco J<sup>1</sup>.**, Rojas, Barbara V<sup>1</sup>., Pereira, Camila A<sup>1</sup>., Soto-Rifo, Ricardo A<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Programa de Virología, ICBM, Medicina, Universidad De Chile.

In mammals, the nuclear cap-binding complex (CBC), composed of the CBP20/80 heterodimer, binds to the m<sup>7</sup>G cap structure of the RNA polymerase II (RNAPII) transcripts and plays a critical role during transcription, splicing, nuclear export, non sense-mediated decay and the pioneer round of translation. As a typical RNAPII-transcribed mRNA, the HIV-1 genomic RNA (gRNA) is capped and recruits the CBC. However, and in contrast to the vast majority of the cellular mRNAs, the HIV-1 gRNA retains its introns resulting in the inability to use the classical NXF1-mediated mRNA export pathway. Nevertheless, the viral protein Rev serves as an adaptor between the gRNA and the cellular export factor CRM1, thus allowing nuclear export of the viral mRNA through a non-canonical pathway. To date, its unknown whether the recruitment of the CBC to the gRNA cap impacts viral gene expression as has been shown for classical cellular mRNAs exported by NXF1. Here, we show that overexpression of CBP80 but not CBP20 stimulated both cytoplasmic accumulation and translation of the gRNA. Interestingly, this role of CBP80 required the CBP20-mediated cap binding activity of the CBC and more importantly, was dependent on the presence of the Rev protein. Finally, we used molecular modelling to gain insights into the mechanism by which Rev binds to CBP80 in the context of the CBC. Together, our data suggest that the Rev protein binds to the gRNA cap-associated CBC allowing the formation of a specific viral nuclear export mRNP that favours both, cytoplasmic accumulation and translation of the HIV-1 gRNA.

Fondecyt 11121339

## Dissecting the function of the DEAD-box RNA helicase DDX3 on HIV-1 genomic RNA translation.

**Fröhlich, Álvaro**<sup>1</sup>, Rubilar, Paulina<sup>2</sup>, Rojas, Barbara<sup>1</sup>, Ohlmann, Théophile<sup>2</sup>, Soto-Rifo, Ricardo<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomedicas, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.<sup>2</sup>CIRI, International Center for Infectiology Research Université de Lyon, Lyon, France.

DDX3 is a host factor essential for HIV-1 replication and thus, a potential target for novel therapies aimed to overcome viral resistance. We have previously shown that DDX3 plays a critical role during translation initiation of the HIV-1 genomic RNA (gRNA). As such, DDX3 binds to the gRNA and destabilize the TAR RNA motif allowing the recognition of the m<sup>7</sup>GTP cap structure and the engagement of the viral RNA in cap-dependent translation initiation. Interestingly, this process seems to occur in cytoplasmic granules where the gRNA accumulates with DDX3 and translation initiation factors eIF4G1 and PABP. Although the function of DDX3 during HIV-1 translation requires its catalytic activity, it is unknown whether domains surrounding the catalytic core are involved. Here, we have conducted an analysis in order to determine the involvement of the N- and C-terminal domains of DDX3 in regulating HIV-1 gRNA translation. Our results suggest that the N-terminal domain of DDX3 is intrinsically disordered and contains three putative, non-canonical RNA-binding motifs involved in the assembly of the gRNA in cytoplasmic granules and translation. Interestingly, overexpression of the N-terminal domain of DDX3 resulted in the specific inhibition of gRNA translation. Interestingly, we observed that inhibition of Gag expression by the N-terminal domain of DDX3 was conserved in the closely related lentivirus HIV-2 suggesting a conserved role that could be exploited in the development of novel anti-HIV drugs aimed to counteract the generation of viral resistance.

Fondecyt 11121339

## Desarrollo y caracterización de un vector proviral para el estudio del rol de la proteína viral Rev en el control de la expresión génica de VIH-1

### Development and characterization of a proviral-based reporter vector to study the role of the viral protein Rev in the control of HIV-1 gene

**Rojas, B<sup>1</sup>.**, Soto-Rifo, Ricardo<sup>1</sup>., Garcia-de-Gracia, Francisco<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Virología, ICBM, Medicina, Universidad De Chile.

The HIV-1 genomic RNA (gRNA) plays at least three major roles during viral replication as it i) undergoes alternative splicing to generate the 2-kb fully spliced and the 4-kb partially spliced transcripts; ii) is used as an mRNA for the synthesis of Gag and Gag-Pol precursors and iii) serves as the genome incorporated into progeny virions. While nuclear export of the 2-kb fully spliced viral transcripts follows the classical cellular mRNA export pathway mediated by NXF1, intron-containing transcripts such as the gRNA may overcome quality control mechanisms that normally retain and degrade intron-containing transcripts within the cell nucleus. However, the viral protein Rev acts as an adaptor between the gRNA and the host export factor CRM1, thus ensuring the nuclear export of this class of viral transcripts. In addition, it has been suggested that Rev could also promote viral mRNA translation by an unknown mechanism. In order to evaluate the role of Rev in HIV-1 gene expression, we developed and characterized a proviral-based reporter DNA carrying a mutation that abolished Rev expression. This mutation resulted in a strong inhibition of Gag expression from the gRNA that was rescued by expression of Rev *in trans*. Analysis of the molecular mechanisms at play confirmed the role of Rev in nuclear export and revealed a critical role on gRNA translation. Interestingly, this activity of Rev is partially exerted by acting at the 5'-UTR. The role of Rev in coupling gRNA nuclear export and its association with the host translational machinery will be discussed.

Proyecto Fondecyt 11121339

## Caracterización estructural del micovirus *Bc378V1* que infecta a *Botrytis cinerea* CCg378 Structural characterization of the mycovirus *Bc378V1* that infects to *Botrytis cinerea*

**Reyes, Juan**<sup>1</sup>, Cottet, Luis<sup>1</sup>, Castillo, Antonio<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile.

*Botrytis cinerea* CCg378 se encuentra infectada por un *partitivirus* icosaédrico de aproximadamente 32 nm de diámetro. El genoma de este micovirus está conformado por dos segmentos de dsRNA, cada uno con un tamaño de 2,2 kpb, denominados dsRNA-1 y dsRNA-2. El ORF del dsRNA-1 codifica para un polipéptido de 564 residuos de aminoácidos con una masa molecular de 64 kDa y el ORF del dsRNA-2 codifica para un polipéptido de 634 residuos de aminoácidos, con una masa molecular de 70 kDa. Mediante análisis filogenéticos, se determinó que el ORF contenido en el dsRNA-2 codifica para la proteína de la cápside micoviral.

El cDNA correspondiente al ORF del dsRNA-2, se clonó en los vectores de expresión pMG1 y pMH919 del sistema de autoselección de *Saccharomyces cerevisiae*. Los vectores recombinantes obtenidos, se utilizaron para transformar *S. cerevisiae* MGY70, para posteriormente inducir la sobreexpresión del gen clonado, obtener alta cantidad de copias de la proteína de la cápside viral con capacidad de autoensamblamiento y así poder detectar partículas micovirales vacías de 32 nm de diámetro.

Se realizó RT-PCR con primers específicos para detectar los transcritos del gen de la proteína de la cápside viral, obteniéndose un producto de amplificación de aproximadamente 2,0 kpb. Con el análisis electroforético por SDS-PAGE de extractos proteicos de las cepas transformadas, se pudo detectar un polipéptido de alrededor de 70 kDa, que correspondería a la proteína estructural del micovirus. Finalmente la visualización de secciones ultrafinas al microscopio electrónico de transmisión, de las clones recombinantes de *S. cerevisiae*, reveló la presencia de partículas virales con un tamaño aproximado de 32 nm de diámetro.

Financiado por proyecto DGT-2014AC

## **Participación de la fibronectina en la adhesión y respuesta inflamatoria inducida por *Escherichia coli* diarreogénicas sobre células en cultivo.**

### **Participation of the fibronectin in the adherence and inflammatory response induced by *Escherichia coli* diarrheagenic on epithelial cells.**

**Yáñez, Dominique<sup>1</sup>**, Izquierdo, Mariana<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Mauricio Farfán Urzúa)

Los receptores celulares en el epitelio intestinal que permiten el reconocimiento de *E. coli* diarreogénicas (ECD) no han sido caracterizados. Por otro lado, las cascadas de señalización como parte de la respuesta inflamatoria generada, tampoco han sido establecidas. Hasta la fecha se ha señalado como marcador pro-inflamatorio en la infección con las distintas cepas ECD, el aumento en la secreción de la citoquina IL-8. Resultados preliminares han señalado a fibronectina como un nuevo receptor celular para algunas cepas de ECD. De acuerdo a esto, se evaluó la participación de fibronectina en un modelo celular, y con ello su posterior participación en la respuesta inflamatoria. Los resultados mostraron que, a pesar del aumento en la adhesión mediada por fibronectina en células HEP-2 infectadas con la cepa de EAEC 042, se observó una disminución de la IL-8 secretada a las 3 horas post infección, así como una disminución en la expresión del gen que la codifica. Al contrario, la expresión de otras citoquinas proinflamatorias evaluadas no mostró esta tendencia. Sin embargo, cuando se evaluó la expresión del gen para IL-8 durante 3 horas de infección, las células preincubadas con fibronectina mostraron un claro aumento en la expresión del mensajero. Para demostrar la participación de la fimbria en este modelo, se evaluó la cepa mutante para la fimbria y la cepa complementada bajo las mismas condiciones. Adicionalmente, se utilizaron células HEP-2 transfectadas con ARN de interferencia para fibronectina, en donde se observó una disminución significativa de la adhesión sin cambios en la secreción de IL-8. Estos resultados sugieren que la fibronectina tendría una participación tanto en la adhesión de EAEC a células epiteliales como en la respuesta inflamatoria generada.

FONDECYT 1120809

## Caracterización de virus fúngicos que infectan a cepas silvestres de *Botrytis cinerea* y su correlación con el grado de virulencia del hongo hospedador.

### Characterization of fungal viruses that infect wild-type strains of *Botrytis cinerea* and their correlation with the degree of virulence of the fungus host

Leal, G<sup>1</sup>., Cottet, Luis<sup>1</sup>., Castillo, Antonio<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile.

La mayoría de los virus fúngicos se caracterizan por poseer genomas de RNA de doble hebra y por no causar cambios fenotípicos a su hospedero. No obstante, se han descrito micovirus que disminuyen la virulencia del hongo hospedador. El objetivo general de este trabajo fue "detectar y caracterizar micovirus que infectan y atenúan el grado de virulencia de cepas silvestres del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*". El plan de trabajo para lograrlo consistió en: recolección de aislados silvestres de *B. cinerea*, detección de genomas micovirales, obtención de clones monospóricos y posterior curación de micovirus, comparación de la virulencia entre la cepa curada de virus y la cepa infectada, análisis ultraestructural de partículas virales por microscopía electrónica y secuenciación y análisis bioinformático de los genomas micovirales.

Se aisló la cepa silvestre *Botrytis cinerea* Bc7811, que presenta rasgos asociados a hipovirulencia y se encuentra infectada por dos tipos distintos de micovirus con genomas de RNA de doble hebra de aproximadamente 2 y 10 kpb. Dichos dsRNAs están asociados a dos tipos de partículas virales diferentes, el más pequeño a partículas icosaédricas de 32 nm de diámetro y el de 10 kpb a vesículas membranosas polimórficas. Los datos de secuencias de ambos genomas revelaron que el micovirus icosaédrico corresponde al partitivirus Bc378V1, previamente asociado a hipovirulencia en *B. cinerea*, mientras que el de 10 kpb, se asemeja a un micovirus no clasificado que infecta a *Sclerotinia sclerotiorum* y que no está relacionado con el fenotipo de hipovirulencia.

Financiado por proyecto DGT-2014AC

## Participación de la integrina $\alpha 5\beta 1$ , receptores de tipo Toll y balsas lipídicas en la adherencia e inflamación mediada por fibronectina de cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas a células en cultivo

### Role of integrin $\alpha 5\beta 1$ , Toll-like receptors and lipid rafts in fibronectin-mediated adhesion and inflammation caused by diarrheogenic *Escherichia coli* strains in cultured cells.

**Alvestegui, Alejandra**<sup>1</sup>, Izquierdo, Mariana<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular Universidad De Chile. <sup>2</sup>Departamento de Biología Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Mauricio Javier Farfán Urzúa).

El proceso patogénico de distintas cepas de *E. coli* diarreogénicas (ECD) se puede agrupar en 3 etapas: (1) adhesión de las bacterias al epitelio intestinal, (2) la liberación de cito y enterotoxinas y (3) desarrollo de un proceso inflamatorio y diarrea. La etapa de adherencia es fundamental para el inicio de la colonización, sin embargo, los receptores celulares que participan en este proceso no han sido caracterizados. Estudios previos han demostrado que cepas de *E. coli* Enteroagregativa (EAEC), *E. coli* Enterohemorrágica (EHEC) y *E. coli* Enterotoxigénica (ETEC) unen la proteína de matriz extracelular fibronectina. Con el objetivo de identificar nuevos receptores celulares involucrados en el reconocimiento del complejo bacteria-fibronectina se evaluó la participación de la integrina  $\alpha 5\beta 1$ , los receptores de tipo Toll (TLR-2 y TLR-4) y las balsas lipídicas en la adherencia de estas cepas a células en cultivo y en la secreción del marcador proinflamatorio IL-8. Resultados preliminares muestran que el bloqueo del receptor integrina  $\alpha 5$  utilizando RNA de interferencia se traduce en una disminución de la adhesión a células HEP-2 en presencia de fibronectina, lo cual es corroborado al utilizar anticuerpos específicos contra el sitio de reconocimiento de la integrina  $\alpha 5\beta 1$  con fibronectina. Esto, sin embargo, no tendría un efecto relevante en la secreción de IL-8. Por otra parte, al disminuir la presencia de balsas lipídicas con  $\beta$ -metilciclodextrina no se observaron cambios en la adherencia mediada por fibronectina de estas cepas. Finalmente, mediante el uso de anticuerpos específicos contra los receptores TLR2 y TLR4, se descartó un rol significativo de éstos receptores tanto en la adhesión de las bacterias a las células como en la posterior secreción de IL-8.

Nuestros resultados apoyan la participación de la integrina  $\alpha 5\beta 1$  en la adhesión de *E. coli* mediada por fibronectina y descartan el rol inflamatorio de los receptores evaluados en dicho proceso infeccioso.

Fondecyt Regular 1120809

## Actividad antifouling de extractos de algas y bacterias epibiontes marinas.

### Antifouling activity of extracts from marine algae and marine epibionts bacteria.

**Obreque, M<sup>1</sup>.**, Ruiz-Tagle, N<sup>2</sup>., Perez, C<sup>3</sup>., Becerra, J<sup>3</sup>., Urrutia, H<sup>4</sup>., Sossa, K<sup>1</sup>.,<sup>1</sup>Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Centro de Biotecnología Universidad De Concepción. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas Universidad De Concepción. <sup>4</sup>Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad De Concepción. (Patrocinado por Katherine Elizabeth Sossa Fernandez).

Biofouling es la adherencia y acumulación de depósitos bióticos en una superficie artificial en contacto con agua marina, generando millonarias pérdidas monetarias en la industria acuícola y naviera. Como solución existen pinturas antifouling que pueden ser tóxicas, por lo que el desafío actual es la búsqueda de compuestos activos naturales e inoocuos para el ambiente. Nuestro objetivo es evaluar la actividad antifouling de extracto algales y sus bacterias epibiontes.

Se realizó un ensayo de antagonismo a 55 cepas epibiontes inmovilizadas en agar sobre cuatro cepas del fouling, se midió el halo de inhibición a las 24h. A extractos de seis algas inmovilizados en agar se le efectuaron ensayos de quimiotaxis para cepas epibiontes; y se realizaron ensayos de inhibición del microfouling; se utilizaron como tratamientos sobrenadante de cepas epibiontes, extracto de sobrenadante, extracto de pellet y extracto de algas, todos en cinco concentraciones, los que se probaron sobre biopelícula y fase planctónica de dos cepas del microfouling; a las 24h se calculó el índice SBF. Se realizó en triplicado, con  $\text{CuSO}_4$  a 1000 ppm como control positivo.

De las 55 cepas del ensayo de antagonismo, un 33% presentó halos de inhibición sobre cepas del fouling mayores a  $\text{CuSO}_4$  a 1000 ppm. En los ensayos de quimiotaxis, el alga B1 logró atraer un 100 % de las cepas epibiontes. En los ensayos de crecimiento y formación de biopelículas sólo se obtuvo inhibición del microfouling con extractos de sobrenadante y pellet de 3 de las 5 cepas, siendo mejores que  $\text{CuSO}_4$ , sin diferencias significativas entre las concentraciones de los extractos.

Extractos algales atraen a sus cepas epibiontes con actividad antagónica sobre el microfouling quienes conservan sus propiedades en extractos. Estos resultados indican el potencial de estos extractos como compuestos naturales con actividad antifouling.

Financiado por proyecto INNOVA Chile 11IDL2-10665



## Identificación, clonamiento y caracterización de la expresión de transcritos de IFN $\alpha$ de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) frente a la infección con virus ISA.

### Identification, cloning and characterization of the transcript expression of IFN $\alpha$ of salmon coho (*Oncorhynchus kisutch*) against ISA virus infection.

**Andrade-Madrigal, Cristian**<sup>1,2</sup>, González-Catrilebún, Sebastián<sup>1,2</sup>, Soto-Herrera, Valentina<sup>1,2</sup>, González-Bown, María José<sup>1,2</sup>, Morales, Jonathan<sup>1,2</sup>, Bastías-Riveros, Paulina<sup>1,2</sup>, Sandino, Ana María<sup>1,2,3</sup>, Reyes-Cerpa, Sebastián<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Virología, Centro de Biotecnología Acuícola (CBA), Universidad De Santiago De Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Virología ACTIVAQ SA. (Patrocinado por Ana María Sandino).

De las tres especies de salmónidos cultivados en Chile, salmón coho ha mostrado una menor susceptibilidad frente a la infección por ISAV y otros virus en comparación con las otras especies salmónidas. La ausencia de información de los componentes y regulación del sistema inmune de salmón coho, ha llevado a asumir que la respuesta inmune innata debería ser semejante a la descrita en salmón del Atlántico y trucha arcoíris. Por ello, en este trabajo se propone identificar y caracterizar el transcrito de IFN $\alpha$  de salmón coho, inductor de la respuesta innata antiviral y evaluar su expresión *in vitro* frente al ISAV. En base a las secuencias de salmón del Atlántico y trucha arcoíris disponibles en Genbank mediante PCR, RACE PCR y análisis bioinformáticos se obtuvo la secuencia del mRNA de IFN $\alpha$  de salmón coho. Posteriormente utilizando partidores diseñados para la región conservada entre las tres especies salmónidas se evaluaron los niveles de expresión de IFN $\alpha$  en líneas celulares provenientes de salmón del Atlántico, trucha arcoíris y salmón coho estimuladas con poli I:C y LPS e infectadas con ISAV mediante cuantificación relativa por qRT-PCR. La secuencia codificante obtenida de IFN $\alpha$  presenta gran identidad entre las tres especies de salmónidos, no así las regiones 5' y 3' UTR que difieren significativamente. Al evaluar la expresión de IFN $\alpha$  en células de salmón coho estimuladas con poli I:C, LPS e ISAV se observa una fuerte expresión del transcrito, siendo como se esperaba mayor la respuesta antiviral. Basándonos en el análisis de los resultados obtenidos respecto a la expresión de IFN $\alpha$  en la estimulación con LPS, Poli I:C e ISAV usando diferentes líneas celulares de salmónidos podríamos obtener luces de la responsabilidad de las regiones no codificantes en las diferencias de expresión de IFN $\alpha$  entre las especies salmónidas.

## Estudio del efecto del ion cúprico sobre la formación de biopelículas en la bacteria biolixivante *Leptospirillum rubarum*.

### Study of the effect of the cupric ion on biofilm formation in the bioleaching bacterium *Leptospirillum rubarum*.

**Gálvez, Paula**<sup>1.</sup>, Guiliani, Nicolás<sup>2.</sup>, Levican, Gloria<sup>1.</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Comunicación Bacteriana, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile.

Las biopelículas bacterianas forman estructuras tridimensionales que se encuentran adheridas a sustratos sólidos a través de sustancias poliméricas extracelulares (SPE). *Leptospirillum rubarum* es una bacteria Gram negativa acidófila, que presenta forma de espiral y crece a una temperatura de 37 °C. Este microorganismo se encuentra asociado a minerales sulfurados y participa en la biolixiviación de valores metálicos, por lo que usualmente está expuesto a altas concentraciones de metales. Para llevar a cabo este proceso las bacterias se adhieren a la superficie del mineral formando una biopelícula donde los iones metálicos como por ejemplo el cobre forman complejos con las SPE. Este fenómeno es considerado un mecanismo de tolerancia a metales. No obstante, a la fecha no se ha evaluado la protección que este mecanismo confiere, ni el impacto de las altas concentraciones de metales sobre la fisiología de los microorganismos adheridos.

En base a estos antecedentes, nos propusimos estudiar los efectos del ion cúprico ( $\text{Cu}^{+2}$ ) sobre el crecimiento celular y el desarrollo de las biopelículas de *L. rubarum*. Para eso, se realizaron cultivos celulares en medio líquido en presencia de diferentes concentraciones de iones  $\text{Cu}^{+2}$ . Además, células sésiles adheridas a filtros de policarbonato fueron también sometidas a diferentes concentraciones de  $\text{Cu}^{+2}$ , con el fin de analizar la producción de exopolisacáridos (EPS) y el desarrollo de biopelícula mediante microscopía de fluorescencia usando los fluoróforos 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) y Concanavalina A, una sonda específica para EPS. Los resultados indican que el crecimiento de las células planctónicas es totalmente inhibido en presencia de 100 mM de  $\text{Cu}^{+2}$ . Por otro lado, resultados preliminares demuestran que el  $\text{Cu}^{+2}$  también afecta negativamente el crecimiento de biopelículas de *L. rubarum*. Estos resultados sugieren que bajo las condiciones analizadas, el mecanismo de acomplejación del ion  $\text{Cu}^{+2}$  no es suficiente para proteger las células adheridas de *L. rubarum*.

Financiamiento proyectos Fondecyt 1120746 y 1120295.

## Los sistemas de secreción T3SS-1 y T3SS-2 de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium son necesarios para la supervivencia intracelular en la ameba *Dictyostelium discoideum*

### The type III secretion systems T3SS-1 and T3SS-2 of *Salmonella Typhimurium* are required for intracellular survival in *Dictyostelium discoideum*

**Chahin, Nicolás<sup>1</sup>,** Riquelme, Sebastián<sup>1</sup>, Velozo, Paula<sup>1</sup>, Chávez, Francisco<sup>2</sup>, Álvarez, Sergio<sup>1</sup>, Santiviago, Carlos<sup>1</sup>,  
<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.  
<sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los sistemas de secreción tipo III T3SS-1 y T3SS-2 de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium están codificados en las islas de patogenicidad SPI-1 y SPI-2, respectivamente. Estas islas de patogenicidad le confieren a la bacteria la capacidad de invadir y sobrevivir dentro de células eucariontes. Este efecto es mediado por distintas proteínas efectoras que son translocadas hacia el citoplasma de las células del hospedero a través de ambos sistemas de secreción. Debido al papel que cumplen SPI-1 y SPI-2 en la supervivencia y proliferación de *S. Typhimurium* en macrófagos, investigamos la importancia de los sistemas de secreción que codifican en otro modelo bacteriófago eucarionte, la ameba *Dictyostelium discoideum*. Para ello, construimos mutantes en genes que codifican componentes estructurales esenciales de los sistemas de secreción T3SS-1 y T3SS-2 de *S. Typhimurium* 14028s ( $\Delta invA$  y  $\Delta ssaD$ , respectivamente) y realizamos ensayos de fagocitosis en *D. discoideum* AX4. En dichos ensayos, se comparó la internalización y supervivencia de las mutantes y la cepa silvestre al interior de las amebas mediante la determinación de unidades formadoras de colonias a diferentes tiempos post-infección. Nuestros resultados indican que las mutantes  $\Delta ssaD$  y  $\Delta invA$  son internalizadas 2 y 4 veces más que la cepa silvestre, respectivamente. En cuanto a la capacidad de sobrevivir en la ameba, observamos que el número de bacterias intracelulares de la cepa silvestre disminuye levemente a las 3 horas post-infección y luego aumenta hasta alcanzar un valor máximo a las 20 horas post-infección. Sin embargo, el número de bacterias intracelulares de las mutantes  $\Delta invA$  y  $\Delta ssaD$  disminuye de manera drástica y continua hasta alcanzar un valor mínimo a las 20 horas post-infección. En conjunto, estos resultados sugieren que los sistemas de secreción T3SS-1 y T3SS-2 son necesarios para la supervivencia intracelular de *S. Typhimurium* en *D. discoideum*.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 1140754 y 1120209.

## Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* y *T. virens* sobre *Phytophthora capsici* Leonian

### Antagonistic effects of *Trichoderma harzianum* and *T. virens* on *Phytophthora capsici* Leonian

Herrera Jimenez, Erick<sup>1</sup>, Alarcon, Alejandro<sup>1</sup>, Sánchez-Viveros, Gabriela<sup>2</sup>, Castillo Rocha, Doris Guadalupe<sup>3</sup>,<sup>1</sup>Edafología, Microbiología del Suelo, Colegio de Postgraduados.<sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana.<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrícolas Universidad Veracruzana. (Patrocinado por Dr. Nicholas A. Giuliani)

El género *Trichoderma* es capaz de ser usado como agente de biocontrol, debido a sus mecanismos de acción hacia patógenos del suelo. Una de las enfermedades más importantes para este cultivo de Chile (*Capsicum annuum* L.) es la marchitez causada por *Phytophthora capsici* Leonian. El objetivo principal fue, evaluar la capacidad antagónica *in vivo* e *in vitro* de dos cepas de *Trichoderma* en plántulas de Chile serrano var. HS-44 contra *P. capsici*. Las semillas de Chile fueron impregnadas con *Trichoderma harzianum* y *T. virens* ( $4 \times 10^2$  UFC), puestas a germinar en almácigo dentro de una cámara de ambiente controlado. Posteriormente, las plántulas fueron inoculadas con 5 mL de una suspensión de zoosporas de *P. capsici* ( $1 \times 10^6$  UFC), y se incubó durante 17 días a una temperatura de 28°C para la producción de esporangios. Después de ello, se sometieron a 11°C durante 30 minutos para la liberación de las zoosporas. La concentración de zoosporas se calibró utilizando una cámara Neubauer. La evaluación final se realizó 30 días después de la inoculación del patógeno. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, mediante la prueba LCD con un  $\alpha=5$  usando el paquete estadístico SAS 9.0. En las variables evaluadas (altura total de planta, longitud de raíz, peso seco de raíz, área foliar, unidades SPAD, peso seco de raíz, peso seco aéreo y peso seco total) no existieron diferencias significativas con relación al testigo. Finalmente se concluye que, la interacción de cepas de *Trichoderma* generaron protección a todas las plántulas frente al patógeno inoculado, debido al no presentarse efectos de marchitez o necrosamiento en las plántulas de Chile.

Este trabajo de investigación fue realizado gracias a CONACYT dentro del Proyecto SEP-CONACYT 130262 y Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

## Efecto de la proteína codificada por el gen AFE1939 presente en el secretoma de *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 sobre su velocidad de crecimiento

### Effect of secretome protein coded by gene AFE1939 from *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 on its growth rate

Ramos, J.S.<sup>1</sup>, Navarro, C.A.<sup>1</sup>, Jerez, C.<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Biología Universidad De Chile.<sup>2</sup> Universidad De Chile.

La minería es un pilar fundamental para la economía en Chile, convirtiendo al país en una potencia a nivel mundial. Debido a esto, se han buscado nuevas estrategias que permitan un procesamiento más eficaz y de bajo costo de los minerales. Una de estas estrategias es la utilización de un consorcio bacteriano capaz de solubilizar los metales mediante un proceso conocido como biolixiviación. Entre los microorganismos presentes en consorcios utilizados para la solubilización de minerales de cobre se encuentra *Acidithiobacillus ferrooxidans*, que ha sido intensamente estudiado con el objetivo de potenciar su participación en el proceso de biolixiviación. Uno de los pasos clave en la biolixiviación es el fenómeno de adhesión del microorganismo al mineral. Este proceso está mediado por interacciones hidrofóbicas y electrostáticas entre las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) del microorganismo y la superficie del mineral. Se ha propuesto que la adhesión de *A. ferrooxidans* está mediada por otros productos extracelulares, como por ejemplo proteínas. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio han demostrado que un extracto proteico del secretoma de *A. ferrooxidans*, obtenido de un cultivo crecido en azufre, acorta la fase lag de crecimiento de la bacteria cuando ésta se desarrolla sobre sustratos sólidos (Solicitud de Patente 1831-09). Para caracterizar dicho fenómeno, se identificaron y clonaron los genes codificantes para algunas de las proteínas identificadas en el secretoma, las que se purificaron y ensayaron individualmente para determinar si reproducen el efecto mostrado anteriormente por el secretoma. Encontramos que la proteína codificada por AFE1939 generó un efecto sobre el crecimiento de *A. ferrooxidans* similar al obtenido con el secretoma completo. El paso siguiente para caracterizar dicho fenómeno será establecer el efecto de la adición de la proteína codificada por AFE1939 sobre el crecimiento de *A. ferrooxidans* en presencia del cobre liberado por minerales como la calcopirita.

Proyecto Fondecyt 1110214

## Utilización de *Lactobacillus sp.*, en la inhibición de biopelículas cariogénicas formadas por *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus mutans*.

### Use of *Lactobacillus sp.*, in the inhibition of cariogenic biofilms formed by *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*

Vargas, Y.<sup>1</sup>, Vergara, L.<sup>2</sup>, Carrasco, M.<sup>2</sup>, Cofré, J.<sup>3</sup>, Pardo, K.<sup>3</sup>, Mellado, J.P.<sup>4</sup>, Aguayo, M.J.<sup>5</sup>, Contreras, P.<sup>5</sup>, Cárcamo, F.<sup>5</sup>, Castro, E.<sup>6</sup>, Sossa, K.<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biopelículas. Centro Biotecnología, Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Laboratorio de Biopelículas. Centro Biotecnología Universidad De Concepción. <sup>3</sup>Laboratorio de Bacterias Lácticas Universidad De Concepción. <sup>4</sup>Laboratorio de Bacterias Lácticas. Universidad de Concepción. <sup>5</sup>Laboratorio de Bacterias Lácticas. Universidad de Concepción. <sup>6</sup>Laboratorio de Bacterias Lácticas. , Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Universidad San Sebastián. (Patrocinado por Katherine Elizabeth Sossa Fernandez)

La carie es una enfermedad inducida por microorganismos que forman una biopelícula llamada placa dental, la cual se adhiere a la superficie del diente. La bacteria colonizadora es *Streptococcus sanguinis*, que genera las condiciones para el asentamiento de *Streptococcus mutans*, principal agente cariogénico. Este estudio tuvo como objetivo determinar la capacidad de inhibición de las biopelículas formadas por *S. sanguinis* y *S. mutans*, utilizando lactobacilos. Las cepas empleadas para este estudio fueron: *S. sanguinis* (ATCC S/62/04), *S. mutans* (ATCC S/361/06) y *Lactobacillus sp.* cepas 1 y 2, aislados desde personas sin historial clínico de caries. Se determinó la cinética de crecimiento en biopelícula para cada cepa, utilizando sistemas discontinuos, con saliva artificial y dientes estériles. Se evaluó el efecto de las cepas de *Lactobacillus sp.* en la formación y maduración de la biopelícula para ambas cepas de *Streptococcus*, en ensayos independientes, realizando recuento de UFC/ml. En las cinéticas de crecimiento de biopelículas de *S. sanguinis*, *S. mutans*, y *Lactobacillus sp.* cepas 1 y 2 se obtuvieron velocidades de crecimiento de biopelículas estimada de  $\mu_{max} = 1.32 \text{ h}^{-1}$  y  $\mu_{max} = 1.16 \text{ h}^{-1}$ ,  $\mu_{max} = 0,63 \text{ h}^{-1}$  y  $\mu_{max} = 0,70 \text{ h}^{-1}$  respectivamente. En el proceso de formación de la biopelícula, las cepas utilizadas: *S. sanguinis* y *Lactobacillus sp.* 2, lograron igual nivel de adherencia en el soporte dental, con velocidades de crecimiento entre  $\mu_{max} = 1.55 \text{ h}^{-1}$  y  $\mu_{max} = 1.19 \text{ h}^{-1}$  no existiendo diferencias significativas entre ellas. Por otra parte, en la biopelícula madura colonizada por *Lactobacillus sp.* 1, se obtuvo una adhesión de *S. mutans*, significativamente menor, con respecto al control, alcanzando recuentos entre 3 y 4  $\log_{10}$  UFC/ml. Se concluye que la cepa 1 de *Lactobacillus sp.* logra reducir la adherencia de *S. mutans*, siendo un tratamiento preventivo factible contra la formación de carie dental.

Este estudio fue financiado con aportes del Proyecto de Investigación INNOVA CHILE 12IDL2-13632.

## Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on lettuce (*Lactuca sativa*) in soils of Coquimbo Region

**Avila, Bastian**<sup>1,2</sup>, Maldonado, Stefanie<sup>2</sup>, Bravo, Jaime<sup>3</sup>, Stoll, Alexandra<sup>2,4</sup>, <sup>1</sup>Agronomía, Ciencias, Universidad De La Serena. <sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Aplicada Centro de Estudios Avanzados en Zonas Aridas CEAZA. <sup>3</sup>Biotecnología Universidad Politécnica de Pénjamo, Gto, México. <sup>4</sup>DIULS Universidad De La Serena.

En la región de Coquimbo, el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) alcanza una superficie aproximada de 1.500 ha, siendo el segundo mayor productor nacional. Sin embargo, la ineficiente aplicación de fertilizantes está afectando la producción y causando daños en el ambiente. Por el otro lado, las normas sanitarias internacionales y las nuevas tendencias de los consumidores exigen mejores productos desde un punto de vista productivo, nutricional y ecológico. Se hace necesario la búsqueda de alternativas sustentables y viables, como el uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR). El objetivo central de este trabajo es evaluar el efecto de la aplicación de PGPR sobre el crecimiento y producción del cultivo de lechuga. Para ello, se realizaron ensayos en condiciones de campo, utilizando tres tratamientos basados en bacterias nativas con potencial PGPR, en combinación con cuatro dosis de fertilización (0, 25, 50 y 100% de la recomendación del cultivo). Se evaluaron variables físicas (altura, número de hojas, área foliar, peso seco de hojas y raíces) y químicas (concentración de nitratos, fosfatos, proteínas y clorofila). Los resultados muestran, que las dosis de 25% y 50% de fertilizante en combinación con las PGPR produjeron un incremento en la biomasa (altura, peso seco, área foliar) y concentración de elementos químicos (nitratos, fosfatos, proteínas) en la planta respecto el control. En cambio, la dosis de 100% fertilización, la inoculación con PGPR no mostro diferencias significativas. En conclusión, el uso de PGPR genera un efecto positivo sobre el crecimiento y producción del cultivo de lechuga utilizando una menor cantidad de fertilizantes, lo que permitiría a los agricultores mantener una buena producción abaratando sus costes económicos y reducir el impacto ambiental.

FIC 2012 Desarrollo de Tecnologías Orgánicas a base de microorganismos nativos para potenciar el sector Hortícola en zonas áridas de Chile

## Síntesis de prodigiosina en bacterias expuestas a estrés salino, aisladas de vertientes del desierto costero de la región de Antofagasta

### Prodiginosin synthesis in bacteria exposed to salt stress, isolated from slopes of the coastal desert of the Antofagasta region

**Lampidis, M<sup>1</sup>**, Hengst, M<sup>2,1,3,4</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería Universidad De Antofagasta. <sup>4</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst).

La prodigiosina bacteriana es un pigmento natural rojo tripirrólico, descrito por primera vez en *Serratia marcescens*, cuya importancia radica en sus múltiples propiedades bioactivas, tales como: inmunosupresor, anticáncer, antibacteriano, antiprotozoario, antimalaria y antifúngico. Debido a su importancia se ha evaluado diversas condiciones de cultivo para favorecer su producción como, el efecto de la disponibilidad de oxígeno, fosfato, pH, temperatura, luz, entre otros. Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios sobre el efecto de ambientes salinos en la biosíntesis de prodigiosina. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de prodigiosina en bacterias aisladas desde acuíferos salobres del desierto costero. Los aislados, fueron obtenidos en tres medios de cultivo, Marine Agar 2216 Difco y dos medios oligotróficos (5g de peptona, 2g de levadura y 15g de agar para 1L de cultivo) con 1% y 5% de NaCl, respectivamente. Los aislados fueron identificados por 16S ARN y corresponden a *Serratia proteomaculans*. La prodigiosina se extrajo a partir de cultivos escalados a 1 L, utilizando tres solventes acidificados al 4% y uno sin acidificar: i) etanol, ii) metanol, iii) acetona y iv) acetato de etilo, respectivamente. Los pigmentos serán analizados por HPLC-MS en Alemania y posteriormente se trabajará con la expresión de algunos genes envueltos en la biosíntesis de prodigiosina frente al estrés por salinidad, ya que anteriormente, se registró una variación en la coloración del pigmento de rojo a rosado al cultivar el mismo aislado bacteriano en el medio oligotrófico 1% y 5% respectivamente. Análisis de HPLC anteriores daban cuenta de la existencia de más de dos moléculas en el extracto del pigmento crudo. Finalmente se espera más adelante hacer análisis de HPLC-MS del pigmento aislado en diferentes concentraciones de sal para saber si el cambio de coloración se debe a la producción de moléculas diferentes o a la degradación de prodigiosina.

Proyecto Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia, Fondecyt N°1140179



## ***Mycobacterium bovis* inhibe autofagia y modifica el perfil de expresión de microRNA en macrófagos humanos infectados.**

### ***Mycobacterium bovis* inhibits autophagy and modifies microRNA expression profile in infected human macrophages.**

**Figueroa, Álvaro<sup>1</sup>**, Zárraga, Ana María<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral De Chile.

*Mycobacterium bovis*, patógeno responsable de la tuberculosis bovina puede también causar la tuberculosis en el humano, patología infecciosa de alta tasa de mortalidad a nivel mundial. A pesar de la alta identidad de secuencia a nivel del genoma (99.6 %), *M. bovis* y *Mycobacterium tuberculosis* presentan diferencias en virulencia y en el rango de hospedero. La infección por *M. tuberculosis* altera el proceso de autofagia e inflamación. Con el fin de contribuir a comprender la respuesta a la infección por *M. bovis*, en este estudio se investigó autofagia y la participación de microRNAs (miRNAs) en macrófagos humanos postinfectados. La respuesta de autofagia fue evaluada por western blot e inmunofluorescencia utilizando los marcadores de autofagia LC3B y p62, a su vez los cambios de expresión de miRNAs fueron evaluados por qRT-PCR. Los resultados demuestran que en macrófagos infectados por *M. bovis*, la autofagia es inhibida. Por otra parte, después de 24h de infección, los macrófagos sobre-expresan miR-125b, miR-155, miR-146b y miR-26b. Bases de datos y herramientas bioinformáticas sugieren que genes relacionados a autofagia serían blancos de regulación de los miRNAs sobre-expresados.

CORFO 12IDL2-12974, MECESUP AUS 1203 y MECESUP UCO0606

## Comunidades virales asociadas a cianobacterias termófilas en el sistema hidrotermal Porcelana.

### Viral communities associated with thermophilic cyanobacteria within Porcelana hot spring.

**Guajardo, Sergio**<sup>1</sup>, Pinto , Fabian<sup>2</sup>, Díez, Beatriz<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile.<sup>2</sup>Bioquímica, Ciencias Químicas y Farmacología , Universidad De Chile. (Patrocinado por Beatriz Díez Moreno).

Los ambientes hidrotermales terrestres, ecosistemas de amplia distribución mundial, presentan una biodiversidad única dominada por arqueas y bacterias termófilas e hipertermófilas. En muchos de estos sistemas las cianobacterias son dominantes jugando un rol fundamental en la producción primaria e impactando en los ciclos biogeoquímicos del Carbono y Nitrógeno. En estos ambientes extremos, los fagos son prácticamente los únicos predadores, con la potencialidad de regular la transferencia de energía y nutrientes entre niveles tróficos. Sin embargo, su identidad e influencia sobre los microorganismos termales ha sido poco explorado, y a la fecha no existen reportes referentes a fagos asociados a cianobacterias termófilas. En el sistema hidrotermal Porcelana, localizado en la Región de Los Lagos, con temperatura en el rango termófilo (40°C - 70°C) y un pH neutro, se desarrollan de forma permanente tapetes microbianos dominados por cianobacterias termófilas pertenecientes a los géneros *Mastigocladus* y/o *Fischerella*. En este sistema, se detectó (EFM) y analizó la diversidad morfológica (TEM) y genética (genómica y metagenómica) tanto de la comunidad viral natural como de aislados en cultivo de las cianobacterias dominantes. Nuestros resultados revelan la existencia de 10<sup>6</sup> VLPs/mL en los tapetes microbianos con una amplia diversidad morfológica asociada mayoritariamente al orden Caudovirales. El análisis morfológico de fagos recuperados desde inducciones en los aislados en cultivo, indicó la total correspondencia con dicho orden. Nuestro análisis de secuencias asignadas a fagos en el metagenoma obtenido para Porcelana, y para el genoma de un aislado en cultivo de cianobacteria reveló que más del 50% de los genes predichos pertenecen también al orden Caudovirales, donde el 21% estarían directamente asociados a cianofagos siendo la familia Podoviridae la más representada. Nuestros resultados representan el primer reporte de fagos asociados a cianobacterias termófilas, sugiriendo su potencial importancia en la regulación de estas poblaciones en los sistemas termales del mundo.

Beca CONICYT Doctorado Nacional 2013

**Inducción de la producción de sideróforos en cultivos líquidos de *Piscirickettsia salmonis*****Production of siderophore for the intracellular salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis***

**Calquín, Paulina**<sup>1,4</sup>, Sandoval, Rodrigo<sup>1,4</sup>, Nualart, Daniela<sup>1,4</sup>, Isla, Adolfo<sup>1,4</sup>, Haro, Ronie<sup>1,4</sup>, Figueroa, Jaime<sup>1,4</sup>, Oliva, Harold<sup>2</sup>, Avendaño, Rubén<sup>4,3</sup>, Yáñez, Alejandro<sup>1,4</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Investigación y Desarrollo Veterinaria S.A. <sup>3</sup>Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuicola, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>4</sup> Interdisciplinary Center for Aquaculture Research-INCAR FONDAF-INCAR. (Patrocinado por Jaime Eugenio Figueroa Valverde).

La Septicemia *Piscirickettsia* Salmonídea (SPS) es una enfermedad sistémica causada por la bacteria intracelular facultativa *Piscirickettsia salmonis*. Durante años se consideró a *P. salmonis* como una bacteria intracelular obligada, sin embargo, nuestros estudios de cultivo bacteriano en medio líquido y sólido han demostrado que uno de los requerimientos claves para su crecimiento es la alta disponibilidad de hierro. Recientemente, el análisis de secuencia de genomas parciales de diferentes aislados chilenos evidenció la presencia de genes importantes en el metabolismo de Fe<sup>+3</sup>. El estudio *in silico* de una extensa región génica permitió diseñar partidores de qRT-PCR capaces de detectar la expresión funcional de genes que participan en la síntesis y transporte de sideróforos. Estos resultados fueron complementados por cinéticas de cultivo en condiciones restrictivas de hierro, observando la existencia de distintos requerimientos dependiendo del aislado estudiado. Asimismo, se corroboró la producción de sideróforos utilizando la prueba clásica en placas microbiológicas con Cromo Azurol-S. Este estudio representa la primera evidencia de un mecanismo de captación de hierro mediado por sideróforos en el patógeno de salmónidos *P. salmonis*.

FONDAF-INCAR 15110027, MECESUP 1203

## Síntesis de los RNA pequeños en respuesta a estrés oxidativo en *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

### Expression of small RNAs in response to oxidative stress in *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

**Alamos, Pamela**<sup>1</sup>, Gonzalez, Cynthia<sup>1</sup>, Schmaryahu, Amir<sup>2</sup>, Levican, Gloria<sup>3</sup>, Daume, Michael<sup>4</sup>, Randau, Lennart<sup>4</sup>, Orellana, Omar<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Bioinformática Fundación Ciencia y Vida. <sup>3</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>4</sup>Laboratorio de RNA pequeños procarióticos Instituto Max Planck para Microbiología Terrestre, Marburg, Alemania . El control traduccional de la expresión génica por los RNA pequeños no codificantes (sRNA) ha sido descrito en varios microorganismos. En *Escherichia coli*, el sRNA RyhB y el sRNA OxyS participan en el metabolismo del hierro y en el estrés oxidativo, respectivamente. La bacteria biolixivante quimiolitótrofa *Acidithiobacillus ferrooxidans* no posee RyhB ni OxyS, por lo que surge la siguiente pregunta; ¿Existen sRNA que responden a estrés oxidativo en este microorganismo? Para identificar los sRNA codificados en las regiones intergénicas (RIG) de *A. ferrooxidans* que responden al tratamiento con peróxido de hidrógeno, se han utilizado dos enfoques basados en la secuenciación masiva de RNA (Solexa/Illumina) combinada con el análisis bioinformático. 1.- Se predijeron bioinformáticamente los posibles promotores y terminadores de la transcripción en las RIG de *A. ferrooxidans* que variaron sus niveles en respuesta al tratamiento con peróxido de hidrógeno. Se seleccionaron 8 RIG para análisis posteriores. Se observó que las predicciones fueron consistentes con los datos de secuenciación masiva y los niveles de los sRNA fueron validados por RT-PCR. Posibles blancos de regulación para los sRNA están en proceso de identificación. 2.- Se está trabajando en la identificación de los sRNA que interaccionan con la chaperona de RNA Hfq. Esta proteína es requerida para facilitar el apareamiento de los sRNA de acción en *trans*, que poseen complementariedad de bases limitada con el mRNA blanco. En *A. ferrooxidans* se encontró que esta proteína presenta el estado hexamérico característico de los microorganismos en que se ha descrito regulación de la expresión génica facilitada por Hfq, lo que podría avalar la presencia de mecanismos regulatorios mediados por sRNA y Hfq en *A. ferrooxidans*.

PROYECTOS FONDECYT 1110203 Y 1120746.

## **Análisis funcional del módulo de recombinación del ICEAfe1, un elemento genético móvil de la bacteria acidófila *Acidithiobacillus ferrooxidans*.**

### **Functional analysis of the recombination module from ICEAfe1, a mobile genetic element from the acidophilic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*.**

**Castillo, Andrés<sup>1</sup>.**, Flores, Rodrigo<sup>1</sup>., Acuña, Lillian<sup>2</sup>., Quatrini, Raquel<sup>2</sup>., Orellana, Omar<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Ecofisiología Microbiana Fundación Ciencia y Vida.

La adaptación al medio ambiente es crucial para la sobrevivencia de todos los seres vivos y la transferencia génica horizontal es una de las estrategias más efectivas de los microorganismos para adecuarse al entorno cambiante. Los elementos integrativos y conjugativos (ICE) son elementos genéticos móviles capaces de escindirse del genoma de una célula dadora, transferirse por conjugación a una célula receptora y posteriormente integrarse en el genoma del nuevo hospedero. *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC23270, una bacteria acidófila quimiolitótrofa que participa en la biolixiviación de minerales, posee un ICE (ICEAfe1) de 300 kpb activo en escisión, codifica genes predichos para módulos de recombinación, regulación y funciones accesorias adicionales. El módulo de recombinación está compuesto por una integrasa (perteneciente a la familia de las tirosina recombinasas) y una escisionasa. Ambos genes se encuentran adyacentes al sitio de recombinación (un gen de tRNA<sup>Ala</sup>). En este trabajo analizamos la funcionalidad de la integrasa de este módulo. Ensayos de retardo en la movilidad electroforética han demostrado unión de la integrasa y la escisionasa a los sitios de recombinación *att*. La actividad de la integrasa se ensayó en *E. coli* JM109 usando dos plasmidios compatibles en que uno contiene el sitio *attB* y el otro el sitio *attP* más la integrasa del ICEAfe1 junto con marcadores de selección. La formación de un cointegrado de los dos plasmidios confirma la funcionalidad de la integrasa, cuya especificidad será evaluada en ensayos donde la región *attB* será modificada y reemplazada por un *attB* predicho en *Acidithiobacillus caldus*. La implementación de este ensayo sienta las bases para el desarrollo de herramientas genéticas en *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Beca Conicyt para estudios de doctorado 21120316 (AC), 21110235 (RF), CA13110162 (LA), Fondecyt 1140048 (RQ) y 1110203 (OO).

## Actividad de agentes antibacterianos sobre bacterias aisladas de muestras de lagunas de Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica.

### Activity of antibacterial agents against bacteria isolated from samples of Fildes Peninsula lagoons, King George Island, Antarctica.

**Jara, Daniela**<sup>1</sup>, Bello, Helia<sup>1</sup>, Dominguez, Mariana<sup>1</sup>, González-Rocha, Gerardo<sup>1</sup>, Fernández, Paulina<sup>1</sup>, Vergara, Luis<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA), Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias biológicas y Químicas, Facultad de Ciencia, Universidad San Sebastián. (Patrocinado por Gerardo González-Rocha) La Antártica es considerada un lugar remoto que, debido al aislamiento y extremas condiciones ambientales, ha permitido que muchos de los ecosistemas se hayan mantenido inalterados o tengan una escasa intervención humana. Sin embargo, el aumento del turismo y establecimientos de personas por períodos prolongados pudiesen permitir la introducción de bacterias resistentes a antibióticos a este ambiente. Este trabajo evaluó la susceptibilidad a agentes antimicrobianos de bacterias aisladas de muestras de agua dulce de zonas con diferente grado de intervención humana en Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica, mediante método de difusión en agar, de acuerdo a recomendaciones del CLSI (2012), modificando el medio de cultivo y la temperatura de incubación. Se ensayó antibióticos  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, quinolonas y otros misceláneos. Las cepas controles fueron *Escherichia coli* ATCC-25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC-25923. La presencia de halos de inhibición  $\leq 10$  mm de diámetro fue considerado como resistencia. Los resultados obtenidos muestran que en zonas con alto impacto humano se presenta mayor porcentaje de bacterias resistentes a  $\beta$ -lactámicos, aminoglicósidos y ácido nalidíxico, observando multiresistencia en algunas cepas, lo cual no se evidenció en zonas remotas de difícil acceso para humanos y sin asentamiento permanente de animales. Además, se encontró un mayor número de bacterias resistentes a antibióticos considerados semisintéticos en zonas con impacto antropogénico, cercanas a las bases. Se concluye que existe diferencia en el comportamiento frente a antibióticos de distintos grupos entre bacterias aisladas de muestras de agua dulce de zonas con y sin influencia humana, por lo que se sugiere que la presencia de bacterias resistentes a determinados agentes antibacterianos se podría relacionar con el impacto de la actividad humana en el área estudiada.

Agradecimientos al Instituto Antártico Chileno (INACH) por el financiamiento entregado al Proyecto: RT\_06-12 y a CONICYT por la Beca para estudios de Magister en Chile año académico 2012.

## Biodiversidad de actinobacterias marinas del Sur de Chile y evaluación de su actividad antimicrobiana

### Biodiversity of marine actinobacteria from Southern Chile and evaluation of their antimicrobial activity

**Undabarrena, Agustina**<sup>1</sup>, Beltrametti, Fabrizio<sup>2</sup>, González, Myriam<sup>1</sup>, Seeger, Michael<sup>1</sup>, Cámara, Beatriz<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Química, Center for Nanotechnology and Systems Biology & Centro de Biotecnología D. Alkalay L., Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María.<sup>2</sup>Actygea, Italia, Srl. (Patrocinado por Michael Seeger).

Las actinobacterias marinas han demostrado ser una extensa fuente de producción natural de metabolitos secundarios con diversas propiedades bioactivas, donde destacan los compuestos antimicrobianos. De los 22.500 compuestos bioactivos provenientes de microorganismos, casi la mitad son producidos por el *phylum Actinobacteria*. Un gran número de estos compuestos bioactivos son producidos por sintetasas de péptidos no ribosomales (NRPS) y policétido sintetasas (PKS), o una combinación de ambos. El descubrimiento de nuevos aislados provenientes de ambientes marinos prístinos e inexplorados, posiblemente puede llevar al descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos con propiedades biotecnológicas. Bajo este contexto, se propuso aislar y caracterizar actinobacterias provenientes de sedimentos marinos de los fiordos del Golfo de Ancud, Chile, y evaluar la actividad antimicrobiana de los aislados encontrados. Los aislados encontrados se identificaron mediante la secuenciación del 16S rRNA, obteniéndose actinobacterias correspondientes a 9 géneros diferentes que comprenden las familias *Micrococcaceae*, *Dermabacteraceae*, *Brevibacteriaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Microbacteriaceae*, *Dermacoccaceae*, *Dietziaceae*, y *Streptomyetaceae*. Se evaluó su potencial actividad antimicrobiana mediante ensayos cualitativos en placas, frente a cepas tipo de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae* y *Listeria monocytogenes*, encontrándose diversas actividades inhibitorias de crecimiento. Se evaluó la presencia de genes que codifican para NRPS y PKS (tipo I, II y III). Todos los aislados dieron positivo para al menos alguno de estos genes, indicando la potencial participación en la biosíntesis de compuestos con actividad antimicrobiana. Este estudio refleja la gran biodiversidad de actinobacterias marinas cultivables en ambientes inexplorados y su potencial de producir compuestos bioactivos de interés biotecnológico, debido a la presencia de genes biosintéticos y su producción de antibióticos.

Beca Doctoral Conicyt (AU), proyectos Fondecyt (11121571, 1110992), PIE>A UTFSM (FC, AU) y UTFSM 131342.

## Efecto de derivados de fenstatina sobre la polimerización de FtsZ

### Phenstatin derivatives effect on FtsZ polymerization

**Araya, G<sup>1</sup>.**, Lagos, Rosalba<sup>1</sup>., Monasterio, Octavio<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile.

La fenstatina un análogo estructural de la combrestatina, presenta actividad antimitótica con alta selectividad y citotoxicidad contra un amplio número de células tumorales. Se une a la tubulina, detiene la proliferación de las células cancerígenas e inhibe su polimerización *in vitro*. Los sitios de unión de tubulina y de su homóloga estructural FtsZ, muestran una alta homología estructural. Este hecho y la importancia de FtsZ en la división celular bacteriana, hizo pensar que los compuestos derivados de fenstatina también podrían unirse a FtsZ produciendo la inhibición de su polimerización y llegar a ser potenciales antibióticos bacterianos. Para probar esta hipótesis se utilizaron dos compuestos, análogos de fenstatina, denominados NPY y B2T, y se determinó *in vitro* su efecto sobre la actividad GTPásica de FtsZ dependiente de la polimerización. La morfología de los polímeros se determinó por microscopía electrónica. La polimerización se registró mediante dispersión de luz a 350 nm y la actividad GTPásica cuantificando el fosfato inorgánico con verde de malaquita. Los resultados mostraron que la actividad GTPásica no se altera en presencia de los compuestos aunque se observó una disminución de la dispersión de luz con una conducta hiperbólica que se ajustó a una inhibición competitiva y se calcularon las constantes de inhibición. Esta inhibición produjo un cambio en la morfología de los polímeros observándose polímeros más cortos y propensos a formar manojos. *In vivo* se analizó el efecto de los compuestos sobre la viabilidad y morfología de bacterias Gram positivas y negativas, mediante ensayos de halos de inhibición y microscopia de contraste de fase. Los resultados mostraron proporcionalidad entre la concentración de los compuestos y el diámetro y opacidad de los halos, teniendo su mayor efecto sobre *Bacillus subtilis*. Se observó también una tendencia a la filamentación de las células, propia de la inhibición de la división bacteriana.

Financiado por proyecto FONDECYT 1130711 y DIVINOCELL project of the European Commission (FP7 223431)



## EXPRESIÓN HETERÓLOGA DE LOS GENES *lamB* Y *malF* DE CEPAS DE *Shigella sonnei* FERMENTADORAS RÁPIDA DE LACTOSA, EN UNA CEPA CONTROL DE *S. sonnei*.

### HETEROLOGOUS EXPRESSION OF *lamB* AND *malF* GENES OF QUICK LACTOSE FERMENTING *Shigella sonnei* STRAINS IN A *S. sonnei* CONTROL STRAIN.

**Rivas, Lina**<sup>1</sup>, Hermosilla, Germán<sup>1</sup>, Toro, Cecilia<sup>1</sup>, Silva, Juan<sup>2</sup>, Camponovo, Rosanna<sup>3</sup>, Ulloa, María Teresa<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Departamento de Tecnología Médica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Microbiología INTEGRAMÉDICA.

Normalmente las cepas de *S. sonnei* aisladas de gastroenteritis presentan fenotipo lactosa negativo a las 24 horas de incubación, sin embargo, en dos brotes de diarrea: Antofagasta y la Región Metropolitana 2009-2010, se aislaron cepas que presentaron fermentación rápida de lactosa (24h). En dos genomas secuenciados de *S. sonnei* (Ss046 y 53G), el gen *lacZ* está intacto mientras que el gen *lacY*, que codifica para la permeasa de lactosa, está incompleto y presenta una IS1. Además, en *E. coli* se han descrito mutaciones del sistema transportador de maltosa que amplían su rango de sustratos, permitiendo la incorporación de lactosa por esta vía. Considerando estos antecedentes, nuestro objetivo fue determinar, mediante expresión heteróloga, si los genes *lamB* y *malF* (que codifican para la maltoporina y la maltosa permeasa del sistema transportador de maltosa, respectivamente) de cepas de *S. sonnei* fermentadoras rápidas de lactosa, participan en la incorporación de lactosa. Para ello, se caracterizó la actividad  $\beta$ -galactosidasa y la integridad del gen *lacY* en 10 cepas fermentadoras rápidas de cada brote, y se realizó la expresión heteróloga de los genes *lamB* y *malF* en la cepa control de *S. sonnei* ATCC25931 (fermentación de lactosa >24h) mediante el vector de expresión pBAD24 inducible por arabinosa. Para todas las cepas se confirmó la actividad  $\beta$ -galactosidasa, la pérdida de la integridad e inserción del elemento IS1 en el gen *lacY*. Las cepas transformantes de ATCC 25931 para los genes *lamB* y *malF* no presentaron cambios en el fenotipo de fermentación de la lactosa. Estos resultados demuestran que ambos genes no estarían involucrados en la internalización de lactosa en las cepas fermentadoras rápidas, sugiriendo la participación de otro transportador alternativo.

Proyecto Fondecyt 1130394

## EFFECTO DEL GEN *PMR1* EN LA ESTRUCTURA DE LA PARED CELULAR, VIRULENCIA Y ESPORULACIÓN DEL HONGO FITOPATOGENO *Botrytis cinerea*.

### ***Botrytis cinerea* bcpmr1 gene is involved in virulence, cell wall integrity and essential for full virulence.**

Plaza, V<sup>1</sup>., Carvajal, Mauro<sup>1</sup>., Lagües, Yanssuy<sup>1</sup>., Pasten, Alice<sup>1</sup>., Araya, Maria Constanza<sup>1</sup>., Castillo, Luis<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Biología, Ciencias, Universidad De La Serena. (Patrocinado por Luis Carlos Castillo Barahona)

*Botrytis cinerea* es un ascomiceto fitopatógeno que afecta a más de 200 especies diferentes de plantas. La pared celular de los hongos cumple un rol fundamental en el proceso de infección, ya que es la zona de contacto entre él y el huésped. La composición de la pared celular de *B. cinerea* ha sido poco estudiada, sin embargo en otros hongos esta compuesta por  $\beta$ -glucanos, quitina y glicoproteínas. Las glicoproteínas de la pared celular se encuentran *N* y *O* glicosiladas, proceso en que participan múltiples enzimas como las que pertenecen al grupo de las manosil transferasas. En otras especies como *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* el gen *PMR1* codifica para una ATPasa localizada en el Aparato de Golgi, proporcionando los iones  $Ca^{2+}$  y  $Mn^{2+}$ , esenciales para la actividad de las manosiltransferasas que catalizan la *N* y *O* glicosilación de las proteínas de la pared celular. El objetivo de esta investigación fue identificar y caracterizar el gen *bcpmr1* de *B. cinerea* y su implicancia en la estructura de la pared celular y su efecto en la virulencia. Para ello, el gen fue interrumpido mediante recombinación homóloga y se realizó diferentes estudios fenotípicos. Dichos análisis muestran que el mutante *bcpmr1* presenta una reducción en esporulación, adhesión y crecimiento a diferentes temperaturas. Por otro lado, el mutante resulto ser hipersensible a agentes perturbantes de la pared celular como por ejemplo Calcofluor white, Rojo Congo, Cafeína y Zimoliasa. Estos datos respaldan la importancia de la proteína PMR1 en *B. cinerea* en el proceso de glicosilación y su implicancia en la virulencia.

Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética (NC120043)

## **Detección del gen *sul2* en 2 grupos de cepas de *Shigella sonnei* resistentes a trimetoprim-sulfametoxazol, con patrones plasmidiales diferentes, aisladas en los periodos 2004-2007 y 2008-2009.**

### **Detection of *sul2* gene in 2 groups of *Shigella sonnei* strains resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole, with different plasmidial patterns isolated in the periods 2004-2007 and 2008-2009.**

Ávila, Bárbara<sup>1</sup>, Hermosilla, Germán<sup>1</sup>, Toro, Cecilia<sup>1</sup>, Ulloa, M. Teresa<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Microbiología y Micología, Medicina, Universidad De Chile.

*Shigella sonnei* es responsable de producir un cuadro clínico conocido como shigelosis, una de las pocas infecciones entéricas tratada con antimicrobianos. Trimetoprim- sulfametoxazol (SXT) es una combinación de agentes antibacterianos utilizado en el tratamiento de esta infección, sin embargo, su uso se ha visto limitado en los últimos años, debido al rápido incremento de su resistencia. Se ha descrito que la presencia de genes *sul*, que codifican para una dihidropteroato sintasa altamente resistente a sulfonamidas, permite bloquear la vía enzimática que lleva a la formación de ácido tetrahidrofólico en uno de sus niveles. De este grupo destaca *sul2* como el más prevalente y está presente en plásmidos de alrededor de 4 MDa. Estudios previos revelaron la presencia de plásmidos de alrededor de 4 MDa en cepas de *S. sonnei* aisladas durante el periodo 2008-2009, que no estaban presentes en cepas aisladas años anteriores (2004-2007). El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia del gen *sul2* en cepas chilenas de *Shigella sonnei* resistentes a trimetoprim- sulfametoxazol aisladas en 2 periodos (2004-2007 y 2008-2009) y cuyos perfiles plasmidiales eran diferentes. Para ello, se analizó mediante PCR la presencia del gen *sul2* en su DNA plasmidial. Los resultados demostraron que las cepas aisladas en ambos periodos presentan el gen *sul2*. Estos datos sugieren que el gen en estudio no necesariamente está presente en plásmidos de 4 MDa, ya que las cepas del periodo 2004-2007 que no poseen estos plásmidos, también amplificaron para este gen. Investigaciones futuras proponen dilucidar la ubicación del gen *sul2* en estas cepas.

**Proyecto FONDECYT 1130394**

## Comunicaciones Libres Paneles 2

**Mutantes condicionales, dependientes de tetraciclina, de *salmonella* para ser usadas como vectores o vacunas.****Conditional, tetracycline-dependent, mutants of *Salmonella* to be used as vectors or vaccines.**

**Hidalgo, Alejandro A.<sup>1</sup>**, Villagra, Nicolas A.<sup>1</sup>, Arias, Angel J.<sup>2</sup>, Mora, Guido C.<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Microbiología, Medicina, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Guido C. Mora).

*Salmonella* Typhi es el agente causal de la fiebre tifoidea, enfermedad que puede causar la muerte y para la cual no existe una vacuna eficaz. En un trabajo anterior, se encontró que inserciones del transposón T-POP en los genes *tyrS*, *yqgE*, o *yabB* de *S. Typhi*, produce mutantes condicionales a tetraciclina que podrían sobrevivir para producir inmunidad y luego dejar de replicarse. Para avanzar en ensayos preclínicos, se obtuvieron inserciones del *cassette* de resistencia a tetraciclina *tetRA* que produce mutantes condicionales pero en *S. Typhimurium*, para así valerse del modelo *S. Typhimurium*-ratón. Las mutantes fueron plaqueadas en agar LB con y sin tetraciclina y los fenotipos condicionales dependientes de tetraciclina fueron reproducidos en todas las mutantes excepto para la inserción en el gen *yqgE*. Para investigar si las mutantes condicionales de *S. Typhimurium* dependientes de tetraciclina conservan su capacidad para invadir células y si conservan el fenotipo condicional, se realizaron experimentos de invasión y proliferación en células. De estos experimentos se determinó que la mutante en el gen *yabB* es la más prometedora ya que muere después de 24h. Esta mutante fue usada para inocular ratones BALB/c bajo dieta normal y dieta con Clortetraciclina (Ctet), un análogo de la tetraciclina. tres días post inoculación, los ratones infectados con la cepa *yabB* y mantenido con dieta + Ctet presentaron signos de hepatitis infecciosa y esplenomegalia, comparable a ratones infectados con la cepa silvestre bajo dieta normal; mientras que ratones infectados con la cepa *yabB* y sujetos a dieta normal presentaron órganos de forma y tamaño normal. Además, este último grupo no presentó bacterias en hígado y bazo después de 3 días post infección. Concluimos que la mutante *S. Typhimurium yabB::tetRA* es la mejor candidata para ser usada como vector o vacuna.

FONDECYT 3130523

## Mecanismos de tolerancia al estrés oxidativo inducidos por alta radiación UV, en comunidades microbianas de ambientes acuáticos altoandinos.

### Microbial communities of Andean aquatic environments possess several oxidative stress tolerance mechanisms induced by high UV radiation.

**Perez, V<sup>1</sup>.**, Dorador, Cristina<sup>2</sup>., Molina, Veronica<sup>3</sup>., Hengst, Martha<sup>4</sup>., Hernandez, Klaudia<sup>5</sup>., <sup>1</sup>Biomedico, Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Departamento Biotecnología, Ciencias del mar y recursos biológicos., Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Biología, Ciencias naturales y exactas, Universidad De Playa Ancha De Ciencias De La Educación. <sup>4</sup>Laboratorio Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Departamento Biotecnología, Centro de bioinnovación, Instituto Antofagasta, Centro de biotecnología y bioingeniería, Ciencias del mar y recursos biológicos., Universidad De Antofagasta. <sup>5</sup>Instituto de ciencias marinas y limnológicas Universidad Austral De Chile. (Patrocinado por Martha Hengst Lopez).

El Salar de Huasco es un humedal de gran altura (3.800 m.s.n.m) caracterizado por condiciones climáticas extremas, incluyendo amplios rangos de temperatura diarios, balance hídrico negativo, amplio rango de salinidad y alta radiación solar (>1000 W/m<sup>2</sup>). Este ecosistema presenta un alto grado de endemismo y está caracterizado por la novedad de clusters no cultivados de Arquea y Bacteria. En este humedal los microorganismos en ciertos sectores forman tapetes microbianos, constituidos por bacterias fotótrofas anoxigénicas en capas superficiales, y cianobacterias y microorganismos reductores de azufre, en capas más profundas. Se cree que las condiciones ambientales fluctuantes y extremas del altiplano, favorecen la existencia de una alta diversidad microbiana, cuyos factores determinantes son desconocidos, aunque podrían estar determinados por los mecanismos de respuesta al estrés oxidativo y el daño inducido por UV. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la radiación UV en la diversidad microbiana a través de la identificación de mecanismos de respuesta a estrés oxidativo inducido por exposición natural a alta radiación solar. Para desarrollar este objetivo se realizaron análisis metagenómicos shotgun. Los datos metagenómicos muestran la presencia de diversos genes relacionados a respuestas a estrés ambiental, como: estrés osmótico, cold y heat shock, estrés ácido y estrés oxidativo. Más del 40% de estas secuencias identificadas se relacionan a respuestas de estrés oxidativo, siendo las más abundantes catalasas, peroxidasas, superóxido dismutasas y reductasas. Estos resultados demuestran por primera vez que las comunidades microbianas del humedal poseen una alta abundancia y diversidad de genes relacionados a respuesta a estrés oxidativo. Además los datos obtenidos en este trabajo es el primer paso en el estudio que ayudará a determinar los efectos de la radiación solar sobre la diversidad y dinámica de comunidades microbianas en este ecosistema particular, ofreciendo una nueva visión de la respuesta a estrés a nivel comunitario.

Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) N°FB0001, Fondecyt N° 1140179; Fondecyt N° 1100953; Fondecyt N° 1140356

## La sobreexpresión del sRNA SroC de *Salmonella* Typhimurium regula negativamente la expresión de KatE.

### The overexpression of the sRNA SroC from *Salmonella* Typhimurium down-regulates the KatE expression.

**Calderón, Paulina<sup>1</sup>.**, Fuentes, Danitza<sup>1</sup>, Acuña, Lillian<sup>2</sup>, Jeréz, Sebastián<sup>1</sup>, Cabezas, Carolina<sup>1</sup>, Briones, Alan<sup>1</sup>, Saavedra, Claudia<sup>1</sup>, Gil, Fernando<sup>1</sup>, Calderón, Iván<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Fundación Ciencia & Vida, Fundación Ciencia & Vida, Fundación Ciencia & Vida. (Patrocinado por Iván Luis Calderón Lizana).

Las bacterias pueden responder a diversas condiciones de estrés y mantener su homeostasis mediante la expresión de RNAs pequeños (sRNAs). Estas moléculas de RNA no codificante pueden regular positiva o negativamente la expresión génica a nivel post-transcripcional mediante apareamiento de bases con un mRNA específico. SroC es un sRNA presente en varias enterobacterias, como por ejemplo *Salmonella* Typhimurium. Este sRNA posee 161 nt y su función es desconocida a la fecha. En el presente estudio se verificó que la expresión de SroC de *S. Typhimurium* es inducida significativamente en fase estacionaria de crecimiento. Mediante un aproximación bioinformática se identificó de manera preliminar que un posible blanco para este sRNA corresponde al gen *katE* que codifica para la catalasa KatE de fase estacionaria. Con el propósito de validar este blanco se clonó el gen *sroC* en un vector apropiado para su sobreexpresión y así amplificar su efecto regulador sobre sus mRNA blancos. Mediante un análisis de RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR) y un zimograma de actividad para KatE, se verificó que en una cepa que sobreexpresa SroC se produce una menor expresión de *katE*, en comparación con una cepa silvestre. Los resultados sugieren que el sRNA SroC de *S. Typhimurium* regula negativamente la expresión de *katE*.

Proyecto Fondecyt 11110216 y UNAB DI-340-13/R

## El comportamiento de *Caenorhabditis elegans* es modulado por la dieta.

### Diet modulates behavioral responses in *Caenorhabditis elegans*.

**Palominos, MFernanda**<sup>2,1</sup>, García-Angulo, Víctor A. <sup>2</sup>, Andrea, Calixto<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Biología, Ciencias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Biotecnología, Ciencias, Universidad Mayor. (Patrocinado por Francisco P. Chávez).

El alimento que consumimos afecta significativamente nuestra conducta, pero los mecanismos que subyacen ésta relación y la manera en la cual evocan una respuesta en el organismo, aún son desconocidos. Por tanto, es imperante realizar un análisis cuantitativo de la implicancia que tiene la dieta sobre los cambios fenotípicos y el comportamiento de los animales. *Caenorhabditis elegans*, un nemátodo bacterívoro de vida libre, provee una oportunidad única para estudiar los cambios evocados durante la interacción con distintas dietas. En condiciones de laboratorio *C. elegans* se alimenta de *Escherichia coli* OP50, una cepa auxotrófica para uracilo. Hemos caracterizado, bajo microscopía estereoscópica, la tasa de reproducción, ciclo de vida y comportamiento (índice de escape, número de bombeos faríngeos, y patrón locomotor) de *C. elegans* cuando es alimentado con *E. coli* HT115, *Comamonas aquatica*, *Comamonas testosteronii*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* y con tres cepas bacterianas aisladas por nuestro grupo, de nichos naturales en la comuna de Huechuraba, Santiago de Chile. Descubrimos que el ciclo de vida, reproducción y comportamiento de *C. elegans* difieren al alimentarse con éstas bacterias en comparación con aquellos gusanos alimentados con *E. coli* OP50. Hemos observado también, utilizando el modelo de neurodegeneración MEC-4d (Calixto et al., 2012), que la morfología neuronal de *C. elegans* se ve afectada por la dieta, generándose una necrosis neuronal prematura o tardía dependiendo de ésta. Esto nos lleva a concluir que la exposición de *C. elegans* a distintas dietas bacterianas provoca cambios en su expresión génica, los cuales inducen conductas particulares que benefician al gusano y a su descendencia, reflejados en éstos parámetros específicos de la biología de *C. elegans*, los cuales permiten establecer que existe una relación entre el momento en el cual se evoca la respuesta conductual y el cambio en la cantidad y calidad de la dieta.

Proyecto Fondecyt 1131038 y Proyecto colaborativo Chile-USA número USA2013-0041 de AC.

**Evaluación de la permisividad de la línea celular NCI-H292 a la infección por rinovirus-1b.****Assesment of the permissiveness of NCI-H292 cell line to rhinovirus 1b-infection.**

**Núñez, Francisco**<sup>1</sup>, Gaggero, Aldo<sup>1</sup>, Ampuero, Sandra<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Programa de Virología, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. (Patrocinado por Sandra Patricia Ampuero Llanos)

Rhinovirus humano (HRV) pertenece a la familia *Picornaviridae*, es un virus no envuelto con genoma RNA de simple hebra (7,2 Kb), de polaridad positiva. La infección causa el resfrío común y afecta a todos los grupos de edad. La circulación de distintos serotipos provoca reinfecciones. Actualmente, se ha detectado en infecciones del tracto respiratorio inferior (TRI). En lactantes chilenos con bronquiolitis, HRV se ha detectado en 15,8% y en coinfección con virus respiratorio sincicial (RSV), en 20,1%. Para entender la patogenia de HRV en el TRI es importante disponer de líneas celulares permisivas a la infección. En este estudio, evaluamos la capacidad de HRV-1b de replicar en la línea celular de pulmón NCI-H292, mediante la observación del efecto citopático y detección del genoma en sobrenadantes obtenidos a distintos tiempos postinfección (24, 48, 72 y 96 horas), mediante transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) semicuantitativa. No se logró visualizar un efecto citopático en los distintos tiempos. Sin embargo, en la detección semicuantitativa del genoma, se observó un aumento a las 24 horas, disminuyendo a las 72 y 96 horas postinfección. Esto concuerda con datos de evolución de la infección, que dura entre 7 a 10 días, presentando un alza entre el segundo y tercer día. Se construyó un plásmido con un fragmento de la región 5' UTR del genoma viral designado como pFNA1907, para cuantificar las copias genómicas mediante PCR en tiempo real. La detección del genoma viral a distintos tiempos postinfección, indican que esta línea celular es permisiva para la replicación de HRV-1b y que puede utilizarse en aislamiento viral. Además, nos permite disponer de una línea de TRI para realizar estudios de la infección por HRV y coinfección con RSV, cuya replicación en esta línea celular, ya había sido evaluada anteriormente en nuestro grupo.



## Posible participación de la Proteína *BcEcm33* en la estructura de la pared celular en *Botrytis cinerea*.

### Putative *BcEcm33* protein involvement in cell wall structure of *Botrytis cinerea*.

**Notte, A<sup>1</sup>**, Plaza, Verónica<sup>1</sup>, Castillo, Luis<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Biología, Ciencias, Universidad De La Serena. (Patrocinado por Luis Castillo Barahona).

*Botrytis cinerea* es un hongo fitopatógeno filamentoso de gran importancia agrícola, ya que infecta a una amplia gama especies plantas de cultivo. Produciendo enormes pérdidas económicas a los agricultores alrededor de todo el mundo. La pared celular es el punto contacto inmediato entre el hongo y la célula vegetal. Por lo tanto, cumple un rol esencial en la adhesión e infección sobre la célula vegetal. Por otro lado, la pared celular está constituida principalmente de glucanos ( $\alpha$ -1,3-glucanos,  $\beta$ -1,3 y 1,6-glucanos), manoproteínas y quitinas ( $\beta$ -1,4 linked N-acetylglucosamine). Existe poca información acerca de la composición de la pared celular de *B. cinerea*, sin embargo, estudios recientes han demostrado que las proteínas son el segundo componente principal de la pared celular de *B. cinerea*.

En *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* se ha descrito que la proteína Ecm33 está anclada a la pared celular mediante un glicosilfosfatidilinositol (GPI). En *C. albicans* esta proteína es necesaria para la arquitectura normal de la pared celular y las interacciones con la célula hospedera. Se ha descrito que la delección del gen *ECM33* en *S. cerevisiae* debilita la pared celular, la desorganiza, produce defectos en la glicosilación y en la activación de la vía de integridad de la pared celular. Con el objetivo de identificar el ortólogo del gen *ECM33* en *B. cinerea*, se procedió a realizar un análisis informático en el genoma de la cepa T4 y B05.10 de *B. cinerea*. El estudio comparativo de la secuencia proteica de *Ecm33* de *S. cerevisiae* y *C. albicans* con el genoma de *B. cinerea*, nos revela la existencia de un gen de 1209 nucleótidos (proteína de 403 aminoácidos) con la presencia de 2 intrones en su secuencia, y con una similitud con *S. cerevisiae* y *C. albicans* del 33% y 30% respectivamente. Además, cabe señalar que la similitud es mayor con otros hongos filamentosos como *Sclerotinia sclerotiorum*, *Marssonina brunnea*, *Glarea lozoyensis* y *Aspergillus fumigatus* con un 83%, 60%, 54%, y 45% respectivamente. La delección del hipotético gen *bcecm33* de *B. cinerea* nos permitirá conocer su posible localización, así como su rol en la virulencia y patogénesis.

Núcleo Milenio sobre Biología Fúngica Integrativa y Sintética (NC120043)

## Generación de nuevos glicósidos de flavonoides mediante sustituciones secuenciales con enzimas microbianas.

### Generation of novel flavonoids glycosides through sequential substitutions with microbial enzymes.

**Cárdenas, Franco**<sup>1</sup>, Méndez, Valentina<sup>1</sup>, González, Myriam<sup>1</sup>, Overwin, Heike<sup>2</sup>, Hofer, Bernd<sup>2</sup>, Seeger, Michael<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Química Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>2</sup>CBIO Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. (Patrocinado por Michael Seeger) Los flavonoides son metabolitos secundarios de plantas con más de 10.000 variantes estructurales reportadas. Sustituciones por hidroxilación, glicosilación, malonilación, metilación, acilación, prenilación o polimerización llevan a la gran diversidad de esta familia; y tienen gran impacto sobre sus funciones, solubilidad y degradación. En plantas, se encuentran principalmente como *C*-glicósidos u *O*-glicósidos, siendo estos últimos más frecuentes. Éstos poseen azúcares unidos a grupos hidroxilos de la aglicona (flavonoide sin azúcar), generalmente en las posiciones 3 ó 5. Glucosa es el carbohidrato más frecuente, seguido de ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa. Con el objetivo de incrementar la hidrofiliidad, la biodisponibilidad y ampliar sus funciones biológicas, se realizaron sustituciones de flavonoides por biotransformación con enzimas microbianas. Se realizaron dos pasos secuenciales: hidroxilación y posterior glicosilación. Se utilizaron células en reposo de *E. coli* que sobreexpresan las enzimas bifenilo dioxigenasa y bifenilo-2,3-dihidrodiol 2,3-deshidrogenasa de *B. xenovorans* LB400 para las hidroxilaciones. Productos de estas biotransformaciones fueron purificados y sometidos a una segunda biotransformación con glucosiltransferasa R (GtFR) de *Streptococcus oralis* ó amilosucrasa (AS) de *Neisseria polysaccharea*, sobreexpresadas en cepas de *E. coli*. De los flavonoides biotransformados por (mono- ó di-) hidroxilación, se purificaron productos de crisina, naringenina, genisteína y *trans*-chalcona, los que posteriormente fueron sometidos a glicosilaciones. Cada muestra fue analizada por HPLC-UV y GC-HRMS. Con ambas glicosiltransferasas se obtuvieron productos más hidrofílicos que los sustratos y presentaron desde 1 a 3 moléculas de glucosa por molécula de flavonoide, enlazadas, probablemente, al carbono 3. De esta forma, se generaron nuevos flavonoides por diferentes sustituciones, haciéndolos mejores antioxidantes (hidroxilaciones) y más hidrofílicos (glicosilaciones), con potenciales otras actividades biológicas.

Becas Mecesus FSM0710, FSM1204, PIIcy AT-24121602 (FC). Proyectos Fondecyt 1110992, Conicyt-BMBF (2009-174,2011-642), Fondecyt de Cooperación Internacional 7100027, USM (131109 & 131342) y CN&SB.

## La eficiencia traduccional del péptido señal Usp45 modula la producción de proteínas recombinantes en *L. lactis*.

### Codon optimization of signal peptide Usp45 in *L. lactis* modulates recombinant protein production.

**Arriaza, Francisco**<sup>1,2</sup>, Muñoz, Carlos<sup>1,2</sup>, Leyton, Rodrigo<sup>1,2</sup>, González, Josue<sup>1,2</sup>, Sandino, Ana Maria<sup>3,2,1</sup>, Tello, Mario<sup>1,2</sup>,  
<sup>1</sup>Laboratorio de Metagenómica Bacteriana, Centro de Biotecnología Acuicola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad Santiago de Chile. <sup>2</sup>Ictio Biotechnologies General del Canto N° 460, Providencia, Santiago, Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Virología, Centro de Biotecnología Acuicola, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad Santiago de Chile. (Patrocinado por Mario Tello Reyes).

**Introducción.** La producción de proteínas recombinantes está determinada por diversos factores, entre ellos la eficiencia traduccional. Estudios bioinformáticos han determinado que genes altamente expresados presentan una baja eficiencia traduccional al inicio de su secuencia la cual aumenta progresivamente en los primeros 20 a 50 aminoácidos. A pesar de ser un patrón conservado, la importancia de esta rampa en la producción de proteínas aún no ha sido evaluada empíricamente. En este trabajo planteamos como **hipótesis** que la cantidad de proteína sintetizada depende de la pendiente de la rampa de eficiencia traduccional. **Metodología:** Para evaluar esta hipótesis utilizamos como modelo de expresión a *Lactococcus lactis* y el péptidos señal de la proteína USP45. La composición codogénica y de tRNAs se determinó mediante los algoritmos codonW, ARAGORN y tRNAScan-SE. Esta información se utilizó para diseñar genes con rampas positivas, negativas y neutras a lo largo de la región que codifica para el péptido señal. Estos genes fueron clonados en el vector pNZ8148 y transformados en *Lactococcus lactis*. La cantidad de proteína sintetizada fue evaluada mediante ensayos de Western Blot y ELISA. El efecto de la rampa sobre la estructura del mRNA se determinó mediante RNAfold. **Resultados:** Los estudios bioinformáticos permitieron identificar tRNAs que reconocen solo a 55 de los 61 codones codificantes. Identificamos una correlación positiva entre la frecuencia de uso de codones y el número de copias de los tRNAs que los reconocen. La cantidad de proteína obtenida se incrementó con la pendiente de la rampa de eficiencia traduccional y genes con rampas negativas resultaron en una expresión indetectable. **Conclusiones:** Nuestros resultados sugieren que es posible aumentar la cantidad de proteína producida por *Lactococcus lactis* incrementando la rampa traduccional de la región que codifica para el péptido señal, corroborando la importancia de la rampa de eficiencia traduccional en la expresión de proteínas.

FIA PYT20120056, CORFO INNOVA 13 CTI-21527, Beca CONICYT Magister Nacional Complementario 2013 a Francisco Arriaza

## Identificación de péptidos con acción antimicrobiana *in vitro* en el plasma (hemolinfa) de la tarántula chilena *Grammostola porteri*.

## Identification of peptides with antimicrobial activity *in vitro* in plasma (hemolymph) of the Chilean tarantula *Grammostola porteri*.

**Herrera, D<sup>1</sup>.**, Orrego, Patricio<sup>2</sup>., Ordenes, Kely<sup>1</sup>., Mieres, Daniel<sup>1</sup>., Araya, Jorge., <sup>1</sup>Tecnología Médica, Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Unidad de Biología celular de la Universidad de Antofagasta, Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. (Patrocinado por Jorge Enrique Araya Rojas).

**Introducción:** La existencia de microorganismos multirresistentes a antibióticos se ha transformado en un gran problema de salud Pública. En consecuencia, existe hoy, un gran interés en descubrir nuevas sustancias terapéuticas con poder bactericida. Dentro de los últimos 25 años surgieron los péptidos antimicrobianos (PAMs). Los organismos invertebrados han sido un gran reservorio de PAMs, esto están ampliamente distribuidos y pueden ser encontrados en casi todo los ambientes, su dispersión y sobrevivencia depende en gran parte a su sistema inmunológico de defensa contra un gran tipo microorganismos. En artrópodos como arañas se han podido aislar PAMs a partir del veneno y la hemolinfa. **Objetivo general:** Establecer las condiciones de laboratorio para identificar y caracterizar péptidos con acción antimicrobiana *in vitro* en el plasma (hemolinfa) de la tarántula chilena *Grammostola porteri* (*G.porteri*). **Materiales y métodos:** La extracción de la hemolinfa se realizó mediante punción cardiaca en tarántulas hembras adultas con buffer citrato pH 4,6 como anticoagulante obteniendo el plasma mediante centrifugación. Para la caracterización molecular se utilizó electroforesis SDS-PAGE y 2D SDS-PAGE, la selección y recolección de los péptidos se realizó mediante RP-HPLC con una columna semi-preparativa C18 en un gradiente lineal usando Acetonitrilo / 0,05% Acido trifluoroacetico que va de 2-60% de Acetonitrilo en 60 minutos con un flujo de 1,5 mL/min. La secuenciación de los péptidos se realizó mediante espectrometría de masa MS/MS. Los bioensayos se realizaron con los péptidos aislados por HPLC en agar Mueller Hinton con bacterias y hongo de la colección ATCC. **Resultados:** Se establecieron los protocolos para SDS-PAGE, 2D SDS-PAGE y RP-HPLC para aislar los péptidos contenidos en la hemolinfa de *G.porteri*, se observa en ellos numerosos péptidos inferiores a 60 KDa. Los spot y peak aislados por 2D SDS-PAGE y RP-HPLC, actualmente se encuentran en secuenciación. **Conclusión:** Algunos péptidos aislados mediante RP-HPLC, presentarían actividad antimicrobiana.

Financiado por: FONDEF IDeA CAI10298

## All1769 y All1765, proteínas de membrana de *Anabaena* sp. PCC7120 involucradas en la regulación de la fragmentación del filamento multicelular.

## All1769 and All1765, membranes proteins of *Anabaena* sp. PCC7120 involved in regulation of multicellular filament fragmentation.

**Trigo, Carla**<sup>1</sup>., Mandakovic, Dinka<sup>1</sup>., Gómez Lillo, Gabriela<sup>1</sup>., Adell, María<sup>2</sup>., Riquelme, Brenda<sup>1</sup>., Fita, Ignasi<sup>2</sup>., Monasterio, Octavio<sup>3</sup>., Vásquez, Luz Monica<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana y Toxicología Ambiental. Depto. Genética molecular y Microbiología, Ciencias biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Cristalografía de proteínas, Instituto de Biología Molecular de Barcelona (IBMB-CSIC), Universidad de Barcelona, España. <sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología Molecular Estructural, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Luz Mónica Vásquez).

Important aspects of the development of the multicellular filamentous cyanobacteria and how both intercellular transfer of molecules and maintenance of filament occur are still unclear. *all1765*, an exclusive gene of filamentous cyanobacteria, encodes a hypothetical protein in *Anabaena* sp. PCC 7120. Five other genes with unknown function are arranged in the proximity of *all1765* forming a cluster, which shows synteny in a wide number of filamentous cyanobacteria. These proteins have high similarity to proteins that belong to the type II secretion pathway (TIISP). Considering these antecedents, we suggest that All1765 and All1769 form a protein complex in *Anabaena* sp. PCC 7120 membranes. Our aim is to identify the subcellular localization of these proteins and to determine their function. We generated a polyclonal antibody against All1765 and All1769. A membrane disposition of the protein in the filaments was observed. A real time RT-PCR shows a significant overexpression of *all1769* in absence of combined nitrogen in the medium. We have also generated a mutant strain for *all1765* and *all1769* in *Anabaena* sp. PCC 7120. The first mutant was evaluated in different fragmentation stimulus. The mutant strain compared to the wild type showed a significant resistance to the filament fragmentation. These results suggest a function of this protein in mechanisms involved in filament fragmentation and a probable regulation by nitrogen. Further analyses must be done to definitely demonstrate this function. We are currently investigating the function of *all1769* with the same approaches described above for *all1765*. We also purified and analyzed by Circular Dichroism (CD) different protein constructs for protein crystallization. The All1769 crystals are under analysis. These results suggest a function of this protein in mechanisms involved in filament fragmentation and a probable regulation by nitrogen.

Fondecyt 1131037.

CONICYT Fellowship of thesis support AT 24121072

CONICYT Doctoral Fellowship

## Efecto de la deglaciación y profundidad en las comunidades bacterianas de lagos de altura.

### Effect of deglaciation and depth in the bacterial communities of highland lakes.

**Echeverría, A<sup>1</sup>**, Serrano, Antonio<sup>1</sup>, Demergasso, Cecilia<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Biotecnología Universidad Católica Del Norte. (Patrocinado por Cecilia Demergasso).

Laguna Negra (LN) y Lo Encañado (E) son dos lagos distanciados por menos de un kilómetro, ubicados bajo la pendiente sur del glaciar Echaurren Cercano a San José de Maipo en la Región Metropolitana (33.65S/70.13W) a 2.700 m de altitud. Lo Encañado recibe el deshielo del glaciar lo que provoca la presencia de sedimentos en suspensión, Laguna Negra en cambio, es alimentada principalmente por efluentes fluviales, siendo de aguas prístinas. Se muestreó agua desde distintas profundidades (superficie, 5, 10 y 20 m) desde ambas lagunas y se analizó la composición microbiana por secuenciación de ADN de 16s rDNA mediante Illumina (MiSeq). Luego de ser pre-procesadas, se utilizó BLAST (NCBI) con una base de datos de secuencias curadas de GreenGenes para determinar especies más cercanas. Se encontraron secuencias correspondientes a 17 Filos dentro de los cuales, Proteobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes y Actinobacteria son los mayormente representados. Se identificaron en total 167 especies más otras 88 no identificadas pertenecientes en total a 156 géneros distintos. Mediante análisis comparativo de los OTUS a nivel de especie por matriz de distancias euclidianas y MDS, se generaron dos clusters coincidiendo con cada uno de los lagos muestreados. Por otro lado, 22 especies bacterianas exclusivas de E y 24 exclusivas de LN además de diferencias significativas en los índices Evenness y Shannon entre los dos lagos, los definen como comunidades diferentes. Por otro lado, la relación entre el número efectivo de especies bacterianas (ENS) y el índice de riqueza de especies de Margalef con la profundidad es indicador de una variación vertical en la distribución de especies. Estos resultados nos muestran que la composición de las comunidades bacterianas de estos lagos de altura, está influenciada en gran medida por el tipo de efluente y la profundidad.

Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte.

The Planetary Lake Lander project, NASA ASTEP.

## Comparación de la diversidad microbiológica entre tejido apical sano y cecidias en *Haplopappus foliosus* (Asteraceae).

### Microbial diversity in gall-induced and non-induced apical branches of *Haplopappus foliosus* (Asteraceae).

**Zadjelovic, Vinko**<sup>1,2,3</sup>, Severino, Esteban<sup>1,2,3</sup>, Dorador, Cristina<sup>1,2,3</sup>, Villagra, Cristian<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad De Antofagasta. <sup>4</sup>Instituto de Entomología Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz).

Las agallas o cecidias son deformaciones del crecimiento en el tejido vegetal producto del desarrollo de artrópodos usualmente en interacción con bacterias, hongos y levaduras. El arbusto *Haplopappus foliosus* (Asteraceae) es una planta endémica de Chile. En esta especie preliminarmente se han encontrado agallas apicales conformadas producto de la oviposición de una mosca cecidomida que utiliza los ápices para el desarrollo de sus larvas. Complementariamente, este trabajo explora la posible participación de componentes microbianos en la formación y mantención de estas agallas. Para esto se comparó la composición microbiana (bacterias, hongos y levaduras) entre agallas y ápices sanos (no inducidos). A partir de la disección de agallas y ápices sanos, y el uso de diversos medios de cultivo, fue posible obtener aislados puros de bacterias, levaduras y hongos, siendo este último el que representa al menos el 52% del total de aislados. De estos, el 72% de los aislados se encuentra en las agallas (tejido inducido) y un 28% en el tejido no parasitado (Índice  $D_{MG} = 10,2$  y  $D_{MG} = 1,9$  respectivamente). La mayor diversidad de microorganismos encontrado en agallas, en comparación con ápices sanos, sugiere que la inducción de cecidias en los ápices incorpora una amplia gama de microorganismos a la planta. Sugerimos que esta comunidad adicional encontrada es aportada por la mosca cecidomida durante su oviposición dentro del tejido vegetal. Esto considerando además que se ha descrito para *H. foliosus* que su tejido se encuentra recubierto por resinas terpenoides con funcionalidad antimicrobiana, lo que podría corresponder a una barrera natural a la colonización de sus ápices sin la intervención de un insecto que pueda atravesar esta barrera con el ovipositor.

Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia, C. Dorador ; FONDECYT Iniciación N° 11100109 C. Villagra.

## Uso de Bacterias ácido lácticas para la liberación *in situ* de Citoquinas antivirales en Salmónidos.

### Lactic Acid Bacteria as vehicle to *in situ* delivery of antiviral cytokines in Salmonoids.

**González, Josué**<sup>1,2</sup>, Muñoz, Carlos<sup>1,2</sup>, Sandino, Ana María<sup>3,2</sup>, Tello, Mario<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Metagenómica Bacteriana, Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Biología Ictio Biothechnologies, General del Canto N° 460, Providencia, Santiago, Chile. <sup>3</sup>Laboratorio de Virología, Centro de Biotecnología Acuícola, Departamento de Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Dr. Mario Tello Reyes).

**Introducción:** En mamíferos y peces las citoquinas antivirales tienen un potente efecto sobre la replicación viral. En Humanos la administración citoquinas antivirales se utiliza terapéuticamente contra diversos virus. En acuicultura, la aplicación a gran escala de citoquinas antivirales se ve impedida por el alto costo de purificación, por lo tanto es necesario desarrollar sistemas alternativos de liberación. Las bacterias ácido lácticas (LAB) son bacterias Gram-positiva, GRAS (generally regarded as safe), habitualmente presentes en el tracto gastrointestinal de los salmónidos. En mamíferos estas bacterias se han utilizado para la liberación *in situ* de citoquinas y péptidos inmunizantes. En este trabajo planteamos como **Hipótesis** En Salmónidos, las bacterias ácido lácticas pueden actuar como vehículo de liberación *in situ* de citoquinas antivirales, produciendo la estimulación de la respuesta inmune innata. **Metodología.** Mediante técnicas de DNA recombinante se generó una cepa de LAB productora de citoquina antiviral. Las propiedades inmunoestimulantes de esta cepa fueron estudiadas *in vivo*, administrando una dosis oral de  $1 \times 10^7$  UFC/día a Trucha arcoiris. La inmunoestimulación se evaluó cuantificando por QRT-PCR los mRNA de genes Mx y PKR en Bazo y Riñón. Como control de expresión se utilizó rRNA 18s y para evaluar toxicidad se registró la mortalidad y las características morfológicas de los órganos. **Resultados.** La administración de la LAB productora de citoquinas antivirales no tuvo efectos sobre la sobrevivencia de los peces, registrándose una mortalidad de 0%. En Bazo, la expresión de Mx y PKR aumentó 3,5 y 4 veces, respectivamente. En riñón, los niveles de expresión de estos genes no mostraron cambios. El análisis de la expresión de PKR mostró resultados similares. Los órganos inmunológicos no mostraron cambios en su morfología luego del tratamiento. **Conclusiones:** La administración oral de una LAB productora de citoquinas antivirales se presenta como una alternativa terapéutica no invasiva y de bajo costo en la industria salmonera para el tratamiento profiláctico de infecciones virales.

Agradecimientos: FIA PYT20120056, CORFO INNOVA 13 CTI-21527



## Espectroscopía Fotoacústica (FTIR-PAS) y análisis multivariado para el estudio de bacterias ácido lácticas suplementadas con selenio.

### Photoacoustic spectroscopy (FTIR-PAS) and multivariate analysis to study lactic acid bacteria supplemented with selenium.

**Inostroza, Juan Pablo**<sup>1</sup>, Saavedra, Renato<sup>1</sup>, Henriquez, Pablo<sup>1</sup>, Yañez, Jorge<sup>2</sup>, García, Apolinaria<sup>3</sup>,<sup>1</sup>CEFOP Universidad De Concepción.<sup>2</sup>Química Analítica e Inorgánica, Ciencias Químicas, Universidad De Concepción.<sup>3</sup>Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción.

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) se encuentran entre los microorganismos más importantes que se utilizan en la producción de alimentos fermentados. Considerando sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas e inmunoestimulantes, la suplementación de selenio (Se) tiene gran interés en la industria alimentaria, además de tener un papel funcional en la estimulación enzimática en BAL. La espectroscopía infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) ha sido reconocida como método alternativo para diferenciar/identificar microorganismos. En este trabajo evaluamos el uso de espectroscopía fotoacústica-FTIR (FTIR-PAS) combinada con análisis multivariado en el estudio de BAL con Se suplementado en diferentes concentraciones. Los cultivos de *L.rhamnosus* cepa 25A y *L.salivarius* cepa 979C fueron aislados de biopsias gástricas, y mantenidas en cepario. Cada cultivo (medio MRS-Difco™, 48 hr, 37°C, 10% CO<sub>2</sub>, duplicado) fue suplementado con Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (0, 1, 5 y 10 mg/L), luego liofilizados (Liofilizador Scientz 18n, -70°C, 13 Pa, 48 hr) y almacenados (-20°C) hasta lectura. Los espectrogramas fueron obtenidos con equipo Thermo-Nicolet Nexus 470 combinado con detector fotoacústico MTEC-300 (rango 3500 y 700 cm<sup>-1</sup>, resolución 8 cm<sup>-1</sup>, 100scans, triplicado). La exploración espectral se realizó con preprocesamiento numérico, análisis de componentes principales (PCA) y mínimos cuadrados parciales (PLS) en el entorno de análisis estadístico R. Paralelamente, la concentración de Se se determinó con espectroscopía de absorción atómica. El PCA permite diferenciación de cultivos con distintas concentraciones de Se. Los gráficos de loadings señalan bandas del espectro fotoacústico asociadas con especiación de selenio y biosíntesis de nanopartículas. Una calibración es necesaria para la cuantificación directa de Se mediante FTIR-PAS, sin embargo PLS permite obtener una correlación entre intensidad de señal fotoacústica y concentración de Se.

Este trabajo fue financiado por el proyecto CONICYT PFB-0824.

## Evaluación del potencial probiótico de cepas ácido lácticas y su actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas humanas.

### Evaluation of potential probiotic strains of lactic acid and its antimicrobial activity against human pathogenic strains.

González, D<sup>1</sup>., **Urriola, Nicole**<sup>2</sup>., Rojas, Víctor<sup>3</sup>., Lara, Alejandro<sup>3</sup>., Costa Del Río, Fernando<sup>3,4</sup>., Silva, Juan<sup>1</sup>., Bórquez, Cecilia<sup>2</sup>., González-Cortez, Lux<sup>3</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica Del Norte. <sup>3</sup>Escuela de Medicina Veterinaria Universidad Pedro De Valdivia. <sup>4</sup>INDAP, PRODESAL, Ilustre Municipalidad de Coquimbo.

En las últimas décadas el interés de los probióticos por parte de la industria para fabricar alimentos funcionales ha ido en aumento, debido a esto existe una gran cantidad de productos en el mercado que contienen cepas probióticas de lactobacilos, que producen diferentes beneficios en la salud de los consumidores. El objetivo de este estudio fue aislar, identificar y caracterizar bacterias ácido lácticas aisladas de quesos de cabra frescos, como potenciales probióticos con actividad antimicrobiana sobre cepas patógenas humanas. Se muestrearon 50 quesos de cabra frescos de la Región de Coquimbo y se sembraron en placas de medio MRS. Se aislaron 89 cepas sugeridas como *Lactobacillus* spp., luego de ser negativas en las pruebas de catalasa y oxidasa. Se seleccionaron 13 cepas a las cuales se les realizaron pruebas de virulencia: actividad hemolítica, gelatinásica y hialuronidásica, se observó su resistencia a antibióticos (MIC) y actividad antimicrobiana frente a 9 patógenos. Las trece cepas presentaron actividades negativas en las pruebas de hemólisis, actividad gelatinásica y actividad hialuronidásica. Todas las cepas fueron resistentes a ciprofloxacino, mientras que solo una cepa fue resistente a vancomicina. Las 13 cepas de *Lactobacillus* spp. presentaron actividad antimicrobiana frente a 5 o más de las 9 cepas de patógenos humanos probadas. Es por esto, que estas trece cepas de *Lactobacillus* podrían ser consideradas como potenciales cepas probióticas con capacidad antimicrobiana contra patógenos humanos, siendo necesarios más estudios que permitan identificar los beneficios de estas cepas para la salud de las personas.

Palabras Claves: Probióticos, alimentos funcionales, actividad antimicrobiana.

## Caracterización de bacterias ácido-lácticas con posible actividad probiótica aisladas de queso de cabra artesanal producidos en la región de Coquimbo, Chile

### Characterization of lactic acid bacteria with probiotic activity possible isolated from artisanal goat cheese produced in the region of Coquimbo, Chile

**González, Dagianna**<sup>1</sup>., Urriola, Nicole<sup>2</sup>., Rojas, Víctor<sup>3</sup>., Costa Del Río, Fernando<sup>3,4</sup>., Silva, Juan<sup>1</sup>., Bórquez, Cecilia<sup>2</sup>., González-Cortez, Lux<sup>3</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica Del Norte. <sup>3</sup>Escuela de Medicina Veterinaria Universidad Pedro De Valdivia. <sup>4</sup>INDAP, PRODESAL, Ilustre Municipalidad de Coquimbo. (Patrocinado por Juan Guillermo Silva Ávalos)

Los probióticos son microorganismos vivos que ejercen una acción beneficiosa sobre el hospedador al administrarse en cantidades adecuadas. Para garantizar la seguridad de la salud de quien los ingiere se recomiendan pruebas de resistencia a antibióticos, producción de factores de virulencia, acción frente a patógenos, resistencia a las condiciones gastrointestinales, entre otras. En este estudio se caracterizaron fenotípicamente cuatro aislados de *Lactobacillus spp.* con posible acción probiótica, derivados de queso de cabra artesanal de la región de Coquimbo. Se recolectaron 23 quesos de cabra artesanales de las localidades de Cruz de Caña, Tambillos y Quitallaco de la región de Coquimbo. Se sembraron en Agar MRS y TSA-G por 48 hrs y 44 aislados fueron sugeridos como *Lactobacillus spp.* ya que presentaron las pruebas de catalasa y oxidasa negativos. De éstos se seleccionaron al azar 4 aislados, para luego realizar las siguientes pruebas: curvas de crecimiento, evaluación de factores de virulencia, resistencia a antibióticos, actividad antimicrobiana, propiedades tecnológicas y tolerancia al tracto gastrointestinal. Los 4 aislados de bacilos Gram-positivos seleccionados no presentaron actividad hemolítica, hialuronidásica y gelatinásica, tres poseen una cinética de crecimiento similar y todos presentaron resistencia a los antibióticos ciprofloxacino y vancomicina. Todas los aislados seleccionadas presentaron actividad antimicrobiana a 5 de los 9 patógenos testeados. Se observó capacidad acidificante aceptable, solo uno tiene la capacidad de formar coágulo de manera parcial. Los cuatro aislados carecen de actividad proteolítica, además presentaron niveles de tolerancia variable al tracto gástrico e intestinal mostrando bajas pérdidas de viabilidad. Por lo tanto, todos estos aislados se pueden considerar inocuas para el consumo humano, con potencial uso en industria alimentaria, especialmente en la producción de lácteos fermentados, posibilitando su selección como microorganismos probióticos, para lo cual se realizarán análisis complementarios, fenotípicos y genético-moleculares. Palabras Claves: Probióticos, bacterias ácido lácticas, queso de cabra artesanal.

## Caracterización de la microbiota intestinal de lenguado *Paralichthys adspersus* silvestre y de acuicultura.

### Characterization of Intestinal Microbiota in Wild and Aquacultured *Paralichthys adspersus*.

**Salas-Leiva, Joan**<sup>3</sup>, Opazo, Rafael<sup>3</sup>, Velez, Antonio<sup>1</sup>, Uribe, Eduardo<sup>2</sup>, ROMERO, J<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Centro de Cultivos Tongoy Fundación Chile.<sup>2</sup>Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica Del Norte.<sup>3</sup>LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA, INTA, Universidad De Chile.

El lenguado (*Paralichthys adspersus*) es un pez plano con un gran potencial en la acuicultura chilena por su alto valor comercial. La microbiota intestinal de los peces cumple un rol en los procesos nutricionales y de protección frente a patógenos, su modulación ha permitido aumentar el crecimiento y disminuir la mortalidad en diferentes especies de acuicultura. Este trabajo se enfocó en caracterizar y comparar la microbiota entre lenguados de acuicultura (LA) y lenguados silvestres (LS), incluyendo la identificación de bacterias lácticas por su posible rol como probióticos. Se realizó un análisis comparativo de la microbiota del tracto intestinal de LA y de LS, empleando el gen 16S rDNA (PCR-RFLP y secuenciación) para la identificación taxonómica y el gen espaciador ribosomal ITS, para la diferenciación de cepas cercanas. Además, se determinó la carga bacteriana total mediante epifluorescencia. El recuento bacteriano total promedio, por gramo de contenido intestinal, fue de  $3 \times 10^7$  en LA y  $5 \times 10^7$  en LS. El análisis de composición a nivel de género reveló la dominancia de *Vibrio* y *Bacillus* (>60% en conjunto) en LA. En tanto, *Acinetobacter* y *Psychrobacter*, (>50% en conjunto) fueron los géneros dominantes en LS, acompañados de una importante diversidad de géneros como *Arthrobacter*, *Raoultella*, *Kluverera*, *Myroides* entre otros. Las bacterias lácticas fueron recuperadas solo en el caso de LS, y correspondieron a los géneros *Lactobacillus*, *Weissella* y *Lactococcus*. En esta investigación se determinó que en peces silvestres la microbiota es más diversa que en peces de acuicultura. Además, en los peces silvestres se detectaron grupos bacterianos ausentes en sus contrapartes de cautiverio, los cuales podrían ser estudiados como potenciales agentes benéficos para peces de acuicultura. La mayor diversidad de la microbiota en peces silvestres, puede atribuirse a diversos factores incluyendo la alimentación natural.

Fondecyt 1140734

## Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en plantas de *Euphorbia pulcherrima* Will ex Klotzsch.

### Inoculation of plant growth promoting rhizobacteria in *Euphorbia pulcherrima* Will ex Klotzsch.

González Solís, Rosalba<sup>1</sup>, **Sánchez-Viveros, Gabriela**<sup>2</sup>, Chiquito Contreras, Roberto Gregorio<sup>1</sup>, Alarcón, Alejandro<sup>3</sup>, Martínez Rodríguez, José Luis<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrícolas Universidad Veracruzana. <sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana. <sup>3</sup>Edafología, Microbiología del Suelo, Colegio de Postgraduados. (Patrocinado por Dr. Nicholas Giuliani).

México cuenta con aproximadamente 14,400 hectáreas cultivadas con flores. La flor de Nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) es originaria de México, y es uno de los principales cultivos en maceta que se producen en Veracruz y otros estados productores. El uso de microorganismos benéficos del suelo como biofertilizantes en la horticultura ornamental se ha incrementado, principalmente porque favorece la fijación biológica de nitrógeno y la absorción de elementos esenciales, lo que disminuye los costos de producción. Además, influyen de manera directa e indirecta en el crecimiento y desarrollo óptimo de la planta. El objetivo de este trabajo, fue evaluar la repuesta de plantas de flor de Nochebuena a la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal, en vivero. El experimento fue establecido en masetas de plástico de 6", y mantenido en vivero durante cuatro meses. Esquejes de Nochebuena (8-10 cm) de la variedad Prestigie fueron inoculados en la parte radical y tallo, con *Pseudomonas putida* FCA-56 (UFC  $3 \times 10^5$  Células mL<sup>-1</sup>). Se realizaron 50 aplicaciones con fertilización química al 100% (15-20-25 y 15-5-25) y 50%. Se estableció un diseño experimental completamente al azar, con 20 repeticiones. Los resultados muestran que la inoculación de las bacterias, promueve un mayor crecimiento y desarrollo de la Nochebuena en todas las variables evaluadas en comparación al testigo, con base en la prueba de Tukey con un margen de error del 0.05. La inoculación promovió la mejor repuesta en las variables; altura (24 cm), área foliar (2285 cm<sup>2</sup>), número de hojas (127), número de flores (7) que el testigo. Finalmente se concluye que la aplicación de bacterias promotoras de crecimiento como biofertilizantes para la producción de flor de Nochebuena disminuye el uso de productos de síntesis química.

El desarrollo del proyecto se realizó por financiamiento de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana y el Colegio de Postgraduados campus Montecillo.

## EVALUACION DE LA RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN CEPAS DE *Escherichia coli* AISLADAS EN LAS PLAYAS DE ANTOFAGASTA.

### Evaluation of antibiotic resistant *Escherichia coli* strains isolated in the beaches of Antofagasta.

**Silva, J<sup>1</sup>.**, Alday, A<sup>1</sup>., Escobedo, N<sup>1</sup>., Morales, J<sup>1</sup>., Valenzuela, N<sup>1</sup>., Herrera, N<sup>1</sup>., Gahona, J<sup>1</sup>., Báez, J<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Tecnología Médica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Las playas son zonas de esparcimiento muy concurridas en el verano, brindando importantes beneficios para la recreación, salud y bienestar de las personas. Sin embargo, éstas pueden constituir un riesgo de contraer enfermedades por la contaminación microbiológica de sus aguas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de *Escherichia coli* resistentes a antibióticos aisladas en las playas de Antofagasta. Muestras mensuales de aguas y arenas fueron recolectadas de 3 principales balnearios de Antofagasta; "Balneario Municipal", "Playa Paraíso" y "Playa Trocadero", durante junio de 2012 a enero de 2013. Se realizaron recuentos totales de bacterias heterotróficas viables (RH), recuentos de coliformes totales (CT) y recuentos de coliformes fecales (CF), por técnica de los tubos múltiples. Bacterias coliformes se aislaron en agar McConkey. La identificación y susceptibilidad a antibióticos se realizó por pruebas bioquímicas y difusión por discos. En las cepas de *E. coli* resistentes se estudiaron los genes de resistencia por PCR. Los recuentos fueron mayores en los meses de diciembre y enero. Los RH fluctuaron entre 10 y 125 UFC/ml en aguas y 43 y 1643 UFC/ml en arenas. Los RT entre 0 y 72 NMP/ 100ml en aguas y el máximo fue 22 NMP/ 100ml en arenas. Los CF entre 0 y 47 NMP/100ml, y en arena el máximo fue 8 NMP/100 ml. Los recuentos de CT y CF fueron más elevados en la playa Balneario. Se identificaron 74 cepas de *E. coli*, las que exhibieron una elevada susceptibilidad a los antibióticos. Sin embargo, se observó resistencia moderada a ciprofloxacino, tetraciclina y ampicilina. En las cepas resistentes se identificaron los genes *qnrA1-qnrA6*, *qnrB1-qnrB6*, *qnrS1-qnrS6* que codifican resistencia a ciprofloxacino; *Tet-A* y *Tet-B* para tetraciclina; *bla-TEM*. Se concluye que las playas de Antofagasta se encuentran contaminadas por bacterias resistentes a antibióticos, constituyendo un riesgo para la salud pública.

## Evaluación del crecimiento de cepas *Brettanomyces bruxellensis* en presencia de ácido *p*-cumárico

### Growth assessment of *Brettanomyces bruxellensis* strains in the presence of *p*-coumaric acid

**Godoy, Liliana**<sup>1</sup>., Martínez, Claudio<sup>1,2</sup>.,Ganga, Maria Angelica<sup>1</sup>.,<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada. Depto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad De Santiago De Chile.<sup>2</sup>Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por MARIA ANGELICA GANGA).

*Brettanomyces bruxellensis* ha sido descrita como la principal levadura contaminante en vino, debido a que es capaz de convertir los ácidos hidroxicinámicos (AHC) presentes naturalmente en el mosto de uva en derivados fenólicos. Estos compuestos son ácidos débiles con carácter lipofílico y se ha descrito que presentan actividad antimicrobiana inhibiendo el crecimiento de muchos microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae* y *B. bruxellensis*. Para evaluar el efecto de estos ácidos sobre el crecimiento, las cepas de *B.bruxellensis* L1359 y L2480 fueron cultivadas en medio YNB en ausencia y presencia de distintas concentraciones de ácido *p*-cumárico (ApC), ácido ferúlico y ácido cafeico, observándose que cuando éstas son crecidas en concentraciones superiores a 75 ppm de cualquiera de estos ácidos, la duración de la fase *lag* es mayor en la cepa L1359. Por otro lado, se observó que la presencia de ApC provocó una reducción en la velocidad específica de crecimiento en ambas cepas, siendo la cepa L1359 más afectada. Además, durante la fase *lag* en ambas cepas crecidas en presencia de ApC se observó una fuerte disminución del pH extracelular cuando se compara con las mismas cepas crecidas en ausencia de este ácido. Esto último puede ser atribuido a la actividad de la proteína Pma1, la cual expulsa protones al medio de crecimiento lo que permite mantener estable el pH interno de la célula, lo cual se comprobó cuantificando la actividad enzimática Pma1p, donde la cepa L1359 presentó mayor actividad Pma1p en comparación a la cepa L2480. Frente a estos antecedentes se sugiere que el mecanismo de resistencia a AHC por parte de *B. bruxellensis*, particularmente a ApC, es cepa-dependiente, fenómeno que ocurre durante la fase *lag* de la curva de crecimiento.

CONICYT Postdoctorado/FONDECYT 3140083

## Caracterización de las zonas transmembrana de FtsW.

### Characterization of transmembrane zones from FtsW.

**Villanelo, F<sup>1</sup>**, García, Francisco<sup>1</sup>, Andrea, Poch<sup>1</sup>, Rosalba, Lagos<sup>1</sup>, Octavio, Monasterio<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile.

La proteína FtsW es esencial para *E. coli* y es parte de la maquinaria de división bacteriana. FtsW se une al divisoma en la fase tardía de la división, formando un complejo con la proteína FtsI (PBP3). El complejo FtsW/FtsI participa específicamente de la síntesis de peptidoglicano en los nuevos polos de las bacterias hijas, ya que FtsI es una transpeptidasa. Ambas son proteínas de membrana, FtsW posee 10 zonas transmembranas sin estructura conocida y FtsI una zona transmembrana. Solo se han identificado algunos residuos como importantes en FtsW, mediante mutaciones sitio dirigidas, así como algunas probables zonas de interacción con FtsI. A pesar de que FtsW se describió hace más de 10 años, su función específica aun es una controversia. Inicialmente se postuló que podía ser una flipasa que trasloca al precursor de peptidoglicano y sustrato de FtsI – Lípido II – hasta la cara periplasmática, sin embargo solo en 2011 hubo evidencia experimental de esta función. Sin embargo otros grupos han postulado que la función de FtsW es sólo estructural. En este trabajo construimos varias FtsW mutantes cisteína-única con un *tag* de poli-histidina y utilizamos la técnica de accesibilidad de cisteínas (SCAM) para identificar cuales zonas transmembranas están expuestas al solvente y cuales protegidas, pudiendo con esto construir un sencillo modelo, complementado con datos de análisis bioinformático de momentos hidrofóbicos y de packing.

FONDECYT 1130711



# Comunicaciones Libres Paneles 3

## Comunicaciones Libres Paneles 3

**Island Probing 2.0: Optimización de un método genético para el estudio de islas genómicas de *Brucella* spp.****Island Probing 2.0: Optimization of a genetic method for the study of genomic islands in *Brucella* spp.**

**Mancilla, M<sup>1</sup>.**, <sup>1</sup>Investigación & Desarrollo ADL Diagnostic Chile Ltda.. (Patrocinado por ADL Diagnostic Chile Ltda)

El estudio de la virulencia de microorganismos patógenos es crítico para determinar su naturaleza patogénica y establecer medidas de control y profilaxis. Los patógenos poseen genes de virulencia que al expresarse permiten resistir mecanismos defensivos, a la vez alterando procesos y estructuras en sus hospederos, lo que se traduce en enfermedad. Estos genes se encuentran en el genoma usualmente agrupados en islas de patogenicidad, también conocidas genéricamente como islas genómicas (GIs). El genoma de *Brucella*, agente zoonótico causante de brucelosis en mamíferos domésticos, al igual que otros patógenos contiene GIs. Sin embargo, poco se sabe acerca del papel que juegan en la virulencia de estos microorganismos. El objetivo de este trabajo fue optimizar un protocolo de marcaje de GIs para obtención de mutantes  $\Delta$ GI usando un plásmido suicida (pJQK, 6 kb) el cual contenía un fragmento de PCR de 0,3 kb de GI-2 de *Brucella abortus*. Esta región de 15 kb ha sido reportada como inestable, con una frecuencia de escisión de  $\sim 1 \times 10^{-5}$  (*J Bacteriol* 192:6346–6351). El plásmido, que contiene un gen de resistencia a kanamicina y el marcador de contraselección *sacB*, se introdujo por conjugación en la cepa 2308 insertándose específicamente dentro de GI-2. Se cultivaron los clones seleccionados en agar tripticasa de soya conteniendo sacarosa. La contraselección arrojó crecimiento tanto de colonias mutantes  $\Delta$ GI-2, como silvestres en una proporción de  $\sim 1 \times 10^{-2}$ . Los resultados indican que esta aproximación permite obtener rápidamente mutantes  $\Delta$ GI de regiones inestables de *Brucella* spp. útiles para estudios de virulencia y otras aplicaciones.

Fondecyt 11130347

## Avances para mejorar el crecimiento de trigo mediante la aplicación de consorcios rizobacterianos

### Advances to improve growth of wheat through application of rhizobacterial consortia

**Jorquera, M<sup>1</sup>**, Inostroza, Nitza <sup>1</sup>, Campos, Daniela <sup>1</sup>, Barra, Patricio <sup>1</sup>, Rilling, Joaquín<sup>1</sup>, De La Luz Mora, María <sup>1</sup>, <sup>1</sup>Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN) Universidad De La Frontera. (Patrocinado por FONDECYT 1120505 Y 1141247).

Potenciales rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) han sido aisladas desde agro-ecosistemas (praderas y cereales) y ecosistemas (desierto, cordillera y Patagonia) a lo largo de Chile. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de consorcios de potenciales PGPR sobre el crecimiento de trigo. Dos consorcios fueron desarrollados en base a aislados rizobacterianos provenientes de agro-ecosistemas (Agro-eco) y ecosistemas (Eco). Ensayos en macetas fueron implementados en suelos estériles y las semillas de trigo fueron esterilizadas y peletizadas con los consorcios rizobacterianos. Posteriormente las macetas fueron dispuestas en cámara de crecimiento y en invernadero. Después de 45 días, las plantas fueron cosechadas y el peso seco fue determinado. En adición, macetas con un 50% menos de riego en cada tratamiento fueron también evaluadas. En comparación a las plantas sin inocular, los resultados en cámara de crecimiento revelaron un incremento (548-664%) en el peso seco de las raíces de las plantas inoculadas con ambos consorcios (Agro-eco y Eco). Este incremento en el peso seco (132-188%) también fue observado en plantas con 50% menos de riego. En invernadero, no se observaron mayores crecimientos en las plantas inoculadas, sin embargo, se observó en plantas sin inocular que con 50% menos de riego disminuyó (41-89% menos) el crecimiento de la raíz. Este efecto negativo fue mitigado en plantas inoculadas (27-45%) con los consorcios, incluyendo un caso de plantas inoculadas (Eco) donde se incrementó (15%) el crecimiento de la raíz. En general, los consorcios rizobacterianos presentaron promisorios resultados, sin embargo, mayores ensayos deben ser realizados para confirmar los beneficios de los consorcios rizobacterianos a diferentes condiciones y con otras especies de cereales.

FONDECYT no.1120505 y no. 1141247

## Efecto del gen *RDL1* de *Saccharomyces cerevisiae* en el consumo de nitrógeno durante la fermentación vínica

### Effect of the *Saccharomyces cerevisiae* *RDL1* gene in nitrogen uptake during wine fermentation

Rosales, Carlos<sup>1</sup>, Ganga, María Angélica<sup>1</sup>, **Martinez, Claudio**<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA) Universidad de Santiago de Chile.

El gen *RDL1* codifica una proteína mitocondrial y en este organelo se realizan varias actividades metabólicas, como la respiración y el ciclo del ácido cítrico, sin embargo, durante la fermentación alcohólica no ocurre respiración y el ciclo del ácido cítrico se divide en dos vías que sintetizan ácido succínico y alfa-cetoglutarato, el cual es utilizado en la vía central del metabolismo del nitrógeno para la asimilación de amonio y la producción de aminoácidos. Con el objeto de determinar la relación del gen *RDL1* con la función mitocondrial y el consumo de amonio durante la fermentación vínica, se construyeron mutantes en *RDL1* en una cepa de origen vínico. Luego se realizaron fermentaciones de la cepa mutante y su par silvestre en mosto sintético y mediante HPLC se cuantificaron varios metabolitos de importancia enológica. La cepa mutante para *RDL1* presentó un menor consumo de amonio, menor producción de ácido succínico y mayor azúcar residual en el mosto, pero los parámetros fermentativos como producción de etanol, glicerol y pérdida de CO<sub>2</sub> no variaron en comparación con su par silvestre. Posteriormente, se analizó la respiración mitocondrial mediante el crecimiento de las cepas en fuentes de carbono no fermentables, donde la cepa mutante fue incapaz de crecer en glicerol y etanol como únicas fuentes de carbono respecto a su par silvestre. Finalmente, se crecieron ambas cepas en diferentes concentraciones de amonio, donde la mutante para *RDL1* presentó diferencias de crecimiento cuando la concentración de amonio fue baja. Este estudio permite sugerir que el gen *RDL1* es necesario para el metabolismo mitocondrial y el consumo de amonio durante la fermentación vínica.

Financiado por Dicyt-Usach 081471

## Citoquinas en muestras respiratorias y plasmáticas de adultos con neumonía adquirida en la comunidad de etiología viral y/o por *S. pneumoniae*

### Detection of cytokines in respiratory and plasma samples from adults with community-acquired pneumonia by viruses and / or *S. pneumoniae*

**Luchsinger, Vivian**<sup>1</sup>, Gatica, Carolina<sup>1</sup>, Prades, Yara<sup>1</sup>, Ruiz, Mauricio<sup>2</sup>, Pizarro, Rolando<sup>3</sup>, Rossi, Patricio<sup>4</sup>, Lizama, Luis<sup>1</sup>, Larrañaga, Carmen<sup>1</sup>, Avendaño, Luis<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Virología, de Medicina, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Medicina Hospital Clínico U Chile. <sup>3</sup>Infeccioso Hospital L Cordova. <sup>4</sup>Medicina Hospital San Jose. (Patrocinado por Vivian Luchsinger).

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es frecuente y causada por virus y bacterias. Su gravedad sería independiente de la etiología y estaría determinada por la respuesta inflamatoria del hospedero. El rol de las citoquinas no está definido. Los resultados discordantes podrían deberse al uso de muestras distintas y de técnicas poco sensibles. La mayor sensibilidad de Luminex® permitiría analizar muestras respiratorias. Para comparar perfiles de citoquinas periférico y local en adultos con NAC viral y/o *S.pneumoniae*, se midieron concentraciones de 20 citoquinas (IL-1 $\alpha$ ; 1 $\beta$ ; 2; 4; 6; 8; 10; 12p70; 13; 15; 17; eotaxina; GM-CSF; fractalquina; IFN- $\gamma$ ; IP-10; MIP- $\beta$ ; MIP-1 $\alpha$ ; RANTES; TNF- $\alpha$ ), mediante Luminex®, en muestras respiratorias y plasmáticas de 101 hospitalizados por NAC y 22 adultos asintomáticos. En los enfermos, las concentraciones de IL-4; 6; 8; 10; 13; 1 $\alpha$ ; 1 $\beta$ ; IP-10; MIP-1 $\alpha$  fueron mayores y de IL-2; 12p70; 15; 17; eotaxina; GM-CSF; fractalquina; IFN- $\gamma$ ; RANTES; TNF- $\alpha$  menores en muestras respiratorias que sanguíneas, con correlación entre las 2 muestras sólo en IL-10; IP-10; TNF- $\alpha$  ( $r > 0,2$ ;  $p < 0,03$ ). Los asintomáticos tuvieron menor concentración plasmática de IL-4; IL-8 ( $p < 0,02$ ) y mayor de IL-2; 6; 10; 12p70; 15; 17; eotaxina; GM-CSF; fractalquina; IFN- $\gamma$ ; MIP- $\beta$ ; MIP-1 $\alpha$ ; RANTES; TNF- $\alpha$ . Respecto a los asintomáticos, los pacientes tuvieron niveles plasmáticos mayores de IL-6; 8; 15; IP-10 y menores de IL-13; 17; GM-CSF; IFN- $\gamma$ ; MIP- $\beta$ ; MIP-1 $\alpha$ ; en muestra respiratoria fueron mayores las concentraciones de todas las citoquinas, excepto GM-CSF. Los 37 pacientes con NAC leve tuvieron en plasma mayores concentraciones de IL-12p70; IL-1 $\beta$  y menores de IL-8 ( $p < 0,02$ ) que los 55 graves; en muestras respiratorias no hubo diferencias. Por agente, los 21 casos con virus/*S.pneumoniae* tuvieron mayores concentraciones plasmáticas de IL-15; 6; 8; MIP-1 $\alpha$  que los 64 virales y un aumento de MIP-1 $\alpha$  respecto a los 12 pacientes neumocócicos ( $p < 0,04$ ). Las concentraciones respiratorias de eotaxina; fractalquina; IFN- $\gamma$ ; IL-10; IP-10; RANTES fueron mayores en pacientes con virus ( $p < 0,03$ ) que en adultos con sólo *S.pneumoniae*. En adultos con NAC, los perfiles de citoquinas en muestras respiratorias y plasmáticas son diferentes, lo que explicaría las discrepancias en los resultados publicados. Luminex® permite detectar citoquinas en muestras respiratorias.

Proyecto FONDECYT N° 1121025

## **Activadores del eje AMPK/Sirt1 inhiben la replicación del virus herpes simplex tipo 1 y protegen las neuronas de los efectos neurodegenerativos inducidos durante infección.**

### **AMPK/Sirtuin1 activators inhibit herpes simplex virus type 1 replication and protect neurons from neurodegenerative effects triggered during infection**

LEYTON, LUIS<sup>2</sup>, NUÑEZ, MAGDALENA<sup>2</sup>, MARTIN, CAROLINA<sup>2</sup>, HOTT, MELISSA<sup>2</sup>, CONCHA, MARGARITA I.<sup>1</sup>, OTTH, C<sup>2</sup>,  
<sup>1</sup>INSTITUTO DE BIOQUIMICA Y MICROBIOLOGIA, FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. <sup>2</sup>INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA CLINICA, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE.

Estudios sugieren que el virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) es capaz de establecer una infección persistente latente a nivel cerebral, pudiendo alterar el normal funcionamiento neuronal. Asimismo, se ha estimado que el virus se encontraría presente en cerebro en aproximadamente el 70% de la población mayor de 50 años, sugiriendo la existencia de reactivaciones recurrentes en dichos individuos. Al respecto, se desconoce si una neurona, que experimenta reactivación y produce partículas infecciosas, sobrevive y reanuda latencia, o sufre disfunción y/o muere. Dado que los sensores de estrés AMPK/SIRT1 están implicados en la supervivencia neuronal y neuroprotección frente a diversas noxas; recientemente demostramos que HSV-1 modula diferencialmente el eje AMPK/Sirt1 durante la infección viral, regulando biogénesis mitocondrial y apoptosis. En el presente trabajo evaluamos el efecto de activadores del eje como resveratrol y AICAR sobre la eficiencia de replicación viral, viabilidad neuronal y eventos neurodegenerativos inducidos durante infección viral, mediante titulación viral, expresión de mRNA virales, *Western blot* de marcadores neurodegenerativos (p-Tau y TauC3) y viabilidad celular por MTT. Encontramos que AICAR (activador específico de AMPK) y resveratrol (activador de Sirt1) incrementan la viabilidad de neuronas infectadas, inhiben la expresión de genes virales (ICP27 e ICP8) e inhiben el título viral. Además resveratrol reduce los efectos neurodegenerativos inducidos por infección neuronal con HSV-1. Estos resultados resaltan la importancia terapéutica de activadores farmacológicos de los ejes AMPK/SIRT1, en controlar la infección productiva por HSV-1 y el daño celular asociado a los episodios de reactivación viral. FONDECYT 1120464 y DID-UACH.

## Estudio transcriptómico de factores genéticos asociados al consumo de aminoácidos en cepas vínicas de *Saccharomyces cerevisiae*.

### Transcriptional study of genetics factors associated to amino acid consumption in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains.

González, D<sup>1</sup>, García, V<sup>1</sup>, Loyola, D<sup>2</sup>, Ganga, M. A<sup>1</sup>, Martínez, C<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile. <sup>2</sup>OMICS National Center for Genomics and Bioinformatics. <sup>3</sup>Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CECTA) Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Garcia, V.)

Concentraciones insuficientes de nitrógeno asimilable (YAN) son la principal causa de fermentaciones lentas o detenidas. Las fuentes de YAN encontradas en el mosto son amonio y aminoácidos, siendo estos últimos la fuente mayoritaria (~ 60%). Su asimilación ocurre en las etapas tempranas de la fermentación (< 24h). Su asimilación ocurre en las etapas tempranas de la fermentación (<24 h) y su metabolismo puede influir favorablemente en el perfil aromático del vino, contribuyendo a la formación de compuestos secundarios volátiles. Desde un punto de vista genético, el consumo de aminoácidos, corresponde a un rasgo heredable y de naturaleza poligénica. Con el objetivo de entender la compleja regulación genética asociado a este rasgo en este estudio se analizaron fermentaciones en mosto sintético (MS300) de un set de 96 descendientes monospóricos generados a partir de un híbrido de 2 cepas de *S. cerevisiae* con distinto origen geográfico y se seleccionaron dos descendientes que presentaron las mayores diferencias en el consumo de aminoácidos. Posteriormente, se comparó el perfil transcripcional de estas dos cepas durante la etapa temprana de la fermentación (6h) mediante mRNA-seq (Illumina HiSeq 2000) obteniéndose un total de 42 genes expresados diferencialmente entre los cuales se identificaron transcritos correspondientes a 6 snoRNA, un factor transcripcional hipotético (*COM2*), 3 proteínas de choque térmico y algunos mensajeros de genes asociados a las vías de asimilación YAN (*LST8*, *GAP1* y *BTN2*). La sobreexpresión de estos genes fue validada mediante qPCR y se realizó un ensayo de reciprocidad hemigota en las cepas parentales para los genes *BTN2* y *COM2* debido a que cada uno de los dos descendientes expresaba un alelo parental distinto. Los análisis fenotípicos de estas fermentaciones muestran que la ausencia de *COM2* afecta negativamente los parámetros cinéticos fermentativos ( $v_{max}$ , duración fase lag) sugiriendo que *COM2* estaría relacionado con procesos de adaptación a las condiciones estresantes del mosto sintético.

Fondecyt 1100509, Mecsup UCH0604, Conicyt AT24110137, Dicyt-USACH 08471MF

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) TIPO CTX-M EN CEPAS DE *Escherichia coli* CAUSANTES DE INFECCIÓN URINARIA EN PACIENTES INMUNOCOMPROMETIDOS DE LA CLÍNICA PRO-SALUD DE LA PAZ, BOLIVIA.

## MOLECULAR CHARACTERIZATION OF EXTENDED-ESPECTRUM BETA-LACTAMASES (ESBL) CTX-M TYPE IN *Escherichia coli* STRAINS CAUSING URINARY TRACT INFECTION IN IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS FROM PRO-HEALTH CLINIC IN LA PAZ, BOLIVIA.

**Silva, J<sup>1</sup>.**, Pereyra, M<sup>1</sup>., Ruíz, R<sup>2</sup>., Báez, J<sup>1</sup>., Valenzuela, N<sup>1</sup>., Guerrero, K<sup>1</sup>., Gahona, J<sup>1</sup>., Araya, J<sup>1</sup>., Dorador, C<sup>3</sup>., Del Campo, R<sup>4</sup>.,  
<sup>1</sup>Departamento de Tecnología Médica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>Hospital Obrero N°1 CNS, La Paz, Bolivia. <sup>3</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>4</sup>Servicio de Microbiología, IRYCIS, Hospital Ramón y Cajal de Madrid, España. (Patrocinado por Proyecto De Investigación N° 5393, DGI, Universidad De Antofagasta).

Infección del Tracto Urinario (ITU) es la más común de las infecciones nosocomiales y comunitarias a nivel mundial. En Bolivia, las ITUs son muy frecuentes en áreas rurales y urbanas, con tasas de mortalidad de 30 por 100.000 habitantes. Últimamente, se han descrito ITUs por *E. coli* productoras de BLEE, con elevada resistencia a los antibióticos. Se investigaron las características moleculares de cepas de *E. coli* uropatogénicas productoras de BLEE aisladas en pacientes de la Clínica Pro-Salud de La Paz, Bolivia. Un total de 38 cepas de *E. coli* uropatogénicas fueron obtenidas de pacientes inmunocomprometidos de la Clínica Pro-Salud de La Paz, Bolivia. La identificación y susceptibilidad a antibióticos fueron realizadas por MALDI-TOF y Vitek. La producción de BLEE fue determinada por técnica de doble disco, y el gen *bla*<sub>BLEE</sub> por PCR y secuenciación. La diversidad genética fue analizada por Phene-Plate, Campo Pulsado y MLST. Un total de 35 cepas de *E. coli* uropatogénicas productoras de BLEE fueron detectadas, mostrando una elevada resistencia a antibióticos betalactámicos (71-97%), quinolonas (91-94%), tetraciclina (94%), cotrimoxazol (94%) y kanamicina (51%). En cambio, elevada susceptibilidad se observó a imipenem (100%), gentamicina (100%), amikacina (94%) y nitrofurantoína (80%). Los ensayos por PCR y secuenciación permitieron identificar los genes; *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (74,3%), *bla*<sub>CTX-M-79</sub> (11,4%), *bla*<sub>CTX-M-55</sub> (2,8%) y *bla*<sub>TEM-1</sub> (17%). La técnica de Phene-Plate identificó 12 fenotipos bioquímicos, siendo PhP-2 el más prevalente (31%). Los análisis de Campo Pulsado caracterizaron 15 pulsotipos; mientras MLST agrupó a los aislamientos en ST617 (27%, 8/30), ST131 (30%, 9/30), ST205 (13%, 4/30), ST405 (10%, 3/30), ST44 (10%, 3/30), ST127 (3%, 1/30) y un nuevo ST no descrito previamente (7%, 2/30). Esta es la primera caracterización molecular de BLEE en cepas de *E. coli* uropatogénicas en nuestra institución. Como ha sido descrito a nivel mundial ST131-CXT-M-15 fue el linaje más prevalente, aunque algunos clones locales también fueron detectados.

Proyecto de Investigación N° 5393, DGI, Universidad de Antofagasta



## Caracterización de perfiles de resistencia a SO<sub>2</sub> en aislados de distinto origen geográfico de *Brettanomyces bruxellensis* y su relación con la presencia de un gen ortólogo a *SSU1* de *Sacharomyces cerevisiae*

### Characterization of SO<sub>2</sub> resistance profiles in *Brettanomyces bruxellensis* isolates and its relationship to the presence of an orthologous gene *SSU1* from *Saccharomyces cerevisiae*

**Peña, Ruben**<sup>1</sup>, Ganga, Maria Angelica<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Maria Angelica Ganga) La levadura *Brettanomyces bruxellensis* es causante del deterioro aromático de vinos. Diversos estudios han demostrado que aislados de distinto origen geográfico de esta levadura presentan perfiles variables de resistencia a SO<sub>2</sub>, el cual es utilizado como preservante. Esta resistencia podría estar relacionada con la presencia de un ortólogo al gen *SSU1* de *S. cerevisiae*, que codifica una bomba de expulsión de SO<sub>2</sub> de la familia *SLAC1*. Sin embargo, no se ha demostrado la identidad molecular del ortólogo, ni su presencia en aislados de distinto origen geográfico de *B. bruxellensis*. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar los perfiles de resistencia a SO<sub>2</sub> en 31 aislados de distinto origen geográfico de esta levadura, además de identificar y caracterizar en ellos el posible gen ortólogo a *SSU1*. Para esto, se realizaron curvas de crecimiento de los aislados en presencia de concentraciones de SO<sub>2</sub> entre 0,3 y 1,2 mg/L, observando que las cepas chilenas (17), portuguesas (6) y un aislado australiano presentan resistencia a estas concentraciones. Sin embargo, en las cepas estadounidenses (4) y argentinas (3) el incremento en las concentraciones de SO<sub>2</sub> provocó una extensión en su fase de latencia, siendo los aislados argentinos sensibles a concentraciones superiores a 0,6 mg/L. La caracterización del gen ortólogo de *B. bruxellensis* se realizó mediante amplificación por PCR del marco de lectura y posterior secuenciación. Así, se determinó que la secuencia nucleotídica presenta un 43% de identidad con el gen *SSU1* de *S. cerevisiae*, mientras que la secuencia aminoacídica (traducida *in silico*) corresponde a un canal aniónico con 10 dominios transmembrana, perteneciente a la familia *SLAC1*. Finalmente, utilizando amplificación por PCR con partidores específicos, se identificó la presencia del gen ortólogo en los 31 aislados de *B. bruxellensis* estudiados.

Beca CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2013-21130439.

## Primer borrador del Genoma de *Lactobacillus kunkeei* proveniente del intestino de abeja melífera chilena.

### Improved Draft Genome Sequence of *Lactobacillus kunkeei* strain MP2 isolated from Chilean *Apis Mellifera* gut.

**Olmos, Alejandro**<sup>1</sup>, Henríquez-Piskulich, Patricia<sup>2</sup>, Sánchez, Carolina<sup>3</sup>, Rojas-Herrera, Marcelo<sup>3</sup>, Maracaja-Coutinho, Vinicius<sup>3</sup>, Aldea, Patricia<sup>2</sup>, Trombert, Annette Nicole<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Escuela de Biotecnología, Ciencias, Universidad Mayor. <sup>2</sup>CEAPI Mayor Universidad Mayor. <sup>3</sup>Centro de Genómica y Bioinformática, Ciencias, Universidad Mayor.

La abeja melífera corresponde al principal organismo polinizador y, por ende, su importancia en la agricultura es significativa. En los últimos años, el número de individuos ha disminuido dramáticamente lo que, en un futuro cercano, tendrá un gran impacto en lo que se refiere al suministro de alimentos en el planeta. Es por esto que se hace imprescindible el estudio de mecanismos que permitan prevenir y tratar este fenómeno.

Las bacterias de la microbiota de los animales juegan un rol crucial en la mantención de la respuesta inmunológica y en la estabilización de su fisiología permitiendo prevenir y corregir posibles estados patológicos. La abeja, en su vida libre, se ve enfrentada a numerosas condiciones y patógenos que pueden afectar su supervivencia. Es por esto que el estudio de su microbiota puede permitir, a futuro, el diseño de estrategias que permitan tratamientos profilácticos que faciliten y mejoren el estado de la abeja y de su comunidad.

En el presente trabajo se presentan los datos del primer borrador existente de *Lactobacillus kunkeei*, bacteria perteneciente a la microbiota normal de la abeja. Para esto se realizó la recolección de abejas desde diferentes colmenas en Chile, se extrajeron intestinos, se aislaron las cepas y se secuenciaron por medio de la plataforma Illumina MySeq. El resultado es un borrador compuesto de 1,58 Mb (44 contigs) con 1446 potenciales genes. Esta información ya fue depositada en GeneBank (GenBank: JPU100000000.1).

-Proyecto FIDUM10050, Universidad Mayor.

-Proyecto B4C (Bees for care) CORFO 13CTI-21546, Consorcio de Desarrollo Apícola- Instituto Fraunhofer- Universidad Austral- Universidad Mayor.

## Primer análisis de la secuencia genómica de la Actinobacteria resistente a arsénico *Rhodococcus erythropolis* cepa S43.

### First draft genome sequence analysis from the arsenic-resistant *Actinobacterium Rhodococcus erythropolis* strain S43.

Retamal, Gerardo<sup>1</sup>, Valdés, Natalia<sup>1</sup>, Rivera, Javier<sup>1</sup>, Tischler, Dirk<sup>2</sup>, Schlömann, Michael<sup>2</sup>, Levicán, Gloria<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Interdisciplinary Ecological Centre TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, Germany.

Arsenic is a toxic metalloid widespread around the world. In nature arsenic is present primarily in inorganic form as trivalent arsenite [As(III)] and pentavalent arsenate [As(V)]. The biogeochemical cycle of arsenic is determined by microbial activities that involve redox transformations often associated to energy metabolism. Additionally microorganisms are well equipped with arsenic efflux systems that confer resistance to this toxic element. In this work we report the genome analysis for *Rhodococcus erythropolis* strain S43, which was characterized as an arsenic-resistant bacterium isolated from the upper soil horizon close to a former arsenic smelter in Muldenhütten, Germany. The size of the genome is 6.8 Mbp, with a G+C content of 62.56 %. The genome possesses 9,118 protein encoding genes and 54 tRNA genes. We were able to detect 8 genes involved in arsenate reduction, 2 genes for arsenite extrusion, and genes responsible for regulation (ArsR and ArsD). Interestingly, we detected a plethora of genes in charge of oxidative stress defence that include catalase (4), superoxide dismutase (3), thioredoxin (4), and thioredoxin reductase (12) which was in agreement with the reported strong affinity of As(III) for sulfhydryl groups of proteins and arsenic-induced oxidative stress generation. In addition, genes coding for DNA repair systems Rec and Uvr, and for the DNA photolyase enzyme were found. The analysis showed that this strain also possesses genes responsible for heavy metal resistances (Co, Cd, Zn, and Hg) and siderophore biosynthesis. The presence of genes coding for alkane-related monooxygenases, and proteins that bind and transport alkane is indicative of the metabolic potential for alkane degradation. Finally, we were able to detect a cluster of *dsz* genes predicted to be involved in dibenzothiophene biodesulfurization. These results indicate that *Rhodococcus erythropolis* strain S43 possesses a wide spectrum of metabolic capabilities that allow this bacterium to deal with different toxic compounds and thrive under harsh environments rendering this microorganism appropriate for bioremediation and other biotechnological applications.

#### Acknowledgements

This work was supported by Fondecyt grant 1120746 and PhD studies grant from Conicyt (GR) from Government of Chile. The authors thank Omics Solutions for funding and technical assistance with sequencing the genome.

## Uso de dsRNA como estrategia de control de ISAv.

### Use of dsRNA bacterially administrated as antiviral strategy for control of the infectious salmon anemia virus

García, Katherine<sup>1</sup>, Díaz-Briceño, Álvaro<sup>1</sup>, Ramírez, Sebastián<sup>1</sup>, **ROMERO, J<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA, INTA, Universidad De Chile.

The emergence of one of the most severe diseases registered to date, the infectious salmon anemia (ISA), has caused great losses to the Chilean aquaculture industry. To date, the success of prevention and treatment strategies against the virus causing this disease is uncertain. The use of RNA interference (RNAi) is a promising approach, since during ISAV replication cycle, the viral genome of negative strands must be transcribed to mRNAs. Once exported to the cytoplasm, mRNAs are target of RNAi, thereby preventing the production of viral proteins. We hypothesized that use of antiviral RNAi directed against conserved regions of key genes in the viral cycle, nucleoprotein, fusion protein, hemagglutinin (HE) and matrix, would prevent the synthesis of these viral proteins by specific degradation of their mRNAs. To assess this proposal, we designed antivirals against conserved regions in each viral segment. These regions were cloned and expressed as a double stranded RNA (dsRNA) in the non-pathogenic *Escherichia coli* HT115. The ability of these dsRNAi antivirals was then evaluated to silence their target genes by qPCR, using *in vitro* assays of ISAV-infected ASK cells. Subsequently, effective dsRNAi were tested to determine if they were able to decrease the protein expression by western blot and attenuate the cytopathic effect in cell culture. dsRNAi targeting HE was successful allowing significant reduction in the messenger expression, and in the protein expression. Besides, the antiviral reduced the cytopathic effect of ISAV, since in treated ASK cultures, vacuolated and "stellate" cells were not observed. This decrease was concomitant with a reduction of viral load in the supernatant. Overall, these results are promising and expose the possibility of using RNAi strategy for ISAV control in aquaculture.

Fondecyt Postdoctorado N°3120081, Fondef D10I1056

## Evaluation *in vivo* de nuevos agentes antivirulencia dirigidos en contra de la síntesis de polifosfato inorgánico en *Pseudomonas aeruginosa* PAO.

### *In vivo* evaluation of novel antivirulence agents targeting inorganic polyphosphate synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1

Bravo-Toncio, Catalina<sup>2</sup>, Varas, Macarena<sup>2</sup>, Ortiz-Severín, Javiera<sup>2</sup>, Lagos, Carlos A.<sup>1</sup>, **Chávez, Francisco P.**<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Endocrinología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (Patrocinado por Francisco P. Chávez).

The interest of the pharmaceutical industry to develop new antibiotics is decreasing. Considering the spread of bacterial persistence and resistance to several antibiotics is important to develop novel antimicrobial strategies. The discovery of novel antivirulence agents that are less prone to resistance is a good strategy. However, the selection of the correct cellular or molecular target with non-vital functions but related with the production of virulence factors is very important. In addition, few high-throughput host-microbe models are available for the *in vivo* screening of novel antivirulence targets. Our approach considers molecules that 1) do not kill the bacterial pathogen, 2) avoid affecting the host or its beneficial bacteria and 3) disrupt the production of virulence factors that damage the host. For these purpose we developed an *in vivo* virulence assay in the social amoeba *D. discoideum* for searching antivirulence molecules targeting Polyphosphate Kinase 1 (PPK1) from *P. aeruginosa* PAO1 and have selected the top 5 molecules that meet all three requirements described above. We have developed a simple *in vivo* high-throughput assay using *D. discoideum* as a host model to evaluate the effect of putative novel anti-virulence molecules.

Proyecto Fondecyt 1120209

## Capacidad acidúrica de especies de *Lactobacillus* aisladas desde cavidad oral y su relación con caries dental.

### Aciduric capacity of *Lactobacillus* species isolated from oral cavity and its relation with dental caries.

Becker, Macarena., Olave, Alberto., Cortes, Andrea., Lozano, Carla., Morales, Irene., Urzua, Blanca., **Lefimil, C<sup>1</sup>**, <sup>1</sup>Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad De Chile.

*Lactobacillus* son microorganismos Gram positivos, fermentadores, considerados agentes etiológicos de caries dental. Junto con producir ácidos, resisten las disminuciones de pH producidas en sitios de caries, propiedad conocida como aciduria. Se ha descrito que *Lactobacillus* sp. obtenidos desde sitios de caries son más acidogénicos, por lo que proponemos que debieran ser más acidúricos. En este trabajo analizamos la aciduria de aislados de *Lactobacillus* de muestras de saliva de niños con y sin caries, y de caries cavitadas, y determinamos las especies predominantes en cada caso. Previo consentimiento de los padres, se tomaron muestras de saliva y de sitios de caries a niños de 7-11 años (con y sin caries). Se sembraron en medio MRS agar pH 6,2 (crecimiento normal) y pH 4,2 (selección de cepas con mayor resistencia a ácido) y cultivaron como se describe. Se cuantificaron las unidades formadoras de colonias, se extrajo DNA de algunas al azar y se amplificó por PCR un fragmento del gen 16S-rRNA. Este fragmento se secuenció (MacroGen), para determinar la especie correspondiente. El 100% de las muestras presentó crecimiento a pH 6,2, obteniendo recuentos menores en muestras de saliva de niños sin caries. A pH 4,2 se obtuvo crecimiento sólo desde muestras de niños con caries (saliva y caries). *L. rhamnosus* fue la especie más abundante en las muestras de saliva de niños sin caries, *L. casei* y *L. salivarius* desde niños con caries (saliva y sitios de caries), correspondiendo también a las especies mayoritariamente aisladas a pH 4.2. Nuestros resultados indican que existe variabilidad de especies de *Lactobacillus* en la cavidad oral de niños con y sin caries, y que aquellos aislados desde niños con caries (saliva y caries) poseen mayor capacidad acidúrica. Esta capacidad aumentada podría corresponder a un mecanismo adaptativo que les permitiría sobrevivir en los sitios de caries.

## Efecto de la fuente de carbono sobre la distribución de largos de cadena del antígeno O de *Salmonella* Enteritidis.

### Effect of the carbon source on O antigen chain-length distribution in *Salmonella* Enteritidis.

Aranda, Begoña<sup>1</sup>, Sanhueza, Fernanda<sup>1</sup>, Velásquez, Felipe<sup>1</sup>, Silva, Cecilia A.<sup>1</sup>, Santiviago, Carlos A.<sup>1</sup>, **Álvarez, Sergio A.<sup>1</sup>**,  
<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad De Chile.

El lipopolisacárido (LPS) es el principal componente de la superficie de las bacterias Gram negativo. Se trata de un glicolípido complejo, estructurado por tres dominios: el lípido A, la región del oligosacárido central o "core" y el antígeno O (AgO). Por estar expuesto al ambiente, el LPS interactúa directamente con el hospedero y es un reconocido factor de virulencia. *S. Enteritidis* produce un LPS caracterizado por un AgO que presenta una distribución bimodal de largos de cadena, controlado por los reguladores WzzB, que determina la moda larga (L-AgO) y Wzz<sub>FepE'</sub>, que determina la moda muy larga (VL-AgO). Nuestros antecedentes muestran que la modulación de esta molécula en respuesta al ambiente es importante para conferir un fenotipo adecuado a las diferentes condiciones que *Salmonella enterica* encuentra durante la infección. En este trabajo investigamos el efecto de distintas fuentes de carbono sobre la modulación del LPS de *S. Enteritidis*. Para esto, analizamos la distribución de largos de cadena del AgO del LPS obtenido desde bacterias crecidas en medio rico y medio mínimo, mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. Las bacterias crecidas en medio mínimo E suplementado con glucosa (E-Glucosa) o glicerol, mostraron una menor cantidad de VL-AgO y un aumento del L-AgO, en comparación al LPS de bacterias crecidas en medio rico (LB). Para dilucidar si estos cambios son el resultado de variaciones en la expresión de los reguladores del largo de cadena WzzB y/o Wzz<sub>FepE'</sub>, se analizó el nivel de transcrito mediante RT-qPCR y la cantidad de proteína producida mediante Western blot. Por su parte, cuando el medio E-Glucosa se suplementó con una mezcla de aminoácidos, se observó un perfil electroforético similar al observado en medio LB. Estos resultados sugieren que la presencia de distintas fuentes de carbono en el medio de cultivo modula la distribución modal de largos de cadena del AgO en *S. Enteritidis*.

**Financiamiento:** Proyecto Fondecyt 1130225

## Optimización de la producción de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae* empleada en la fermentación de vino Pajarete.

### Optimization in the production of native *Saccharomyces cerevisiae* yeast to obtain Pajarete wine.

**Ganga, Maria Angelica**<sup>1</sup>, Lorca, Gustavo<sup>1</sup>, Diaz, Georgina<sup>2</sup>, Martínez, Claudio<sup>1,3</sup>, González, Carolina<sup>1</sup>, Franco, Elias<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada. Dpto en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Dpto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad De Santiago De Chile. <sup>3</sup>Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Maria Angélica Ganga).

El vino Pajarete es producido en la Región de Atacama, caracterizado por sus 14 ° GL de alcohol y 45 g/L de azúcar. Con el fin de estandarizar su producción previamente se llevaron estudios que incorporaron el uso de levaduras comerciales en la fermentación, provocando la pérdida de sus propiedades organolépticas. Por ello, se aislaron levaduras nativas de la zona para recuperar las características sensoriales típicas de este vino. Luego de un proceso de selección se obtuvo una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* denominada *Flumen auri* que entregó cualidades sensoriales características para los productores. Para ensayar a nivel productivo el uso de esta levadura, fue necesario determinar las mejores condiciones de crecimiento de biomasa, inicialmente en un biorreactor de 2 L, utilizando melaza como fuente de carbono. Se alcanzó una producción de *S. cerevisiae Flumen auri* de 1 kg (peso seco) de biomasa y una tasa de crecimiento máxima de 0,15 h<sup>-1</sup>. Con esto se inoculó 5.000L de mosto Moscatel de Alejandria, siendo sometida a condiciones de fermentación industrial. Como control se utilizó una fermentación realizada con la levadura comercial *S. cerevisiae* EC1118. Los vinos resultantes se compararon a nivel de aromas mediante la técnica de GC-MS, evidenciando que el vino producido con la levadura nativa entregó altos valores de 2-feniletanol y ésteres etílicos, aromas florales y frutales, respectivamente. Además de acetato isoamílico proporcionando aroma "candi plátano". Esto además fue confirmado por un panel sensorial, que determinó un carácter más a florado y afrutado al vino fermentado con la levadura nativa. Estos resultados son la base para el escalamiento en producción de biomasa a mayor volumen, de tal manera de inocular 25.000L de mosto, logrando así producir un vino Pajarete 100% nativo durante la vendimia 2014.

Proyecto Gore Atacama 3303248



## **Estructura comunitaria y capacidad enzimática hidrolítica de hongos en el ecosistema de surgencia costero de Chile central.**

### **Community structure and hydrolytic enzymatic capability of fungi in the coastal upwelling ecosystem of Central Chile**

**Garcés, D<sup>1</sup>.**, Gutiérrez, M<sup>2,1</sup>., Quiñones, R<sup>2,3</sup>., Pantoja, S<sup>2,1</sup>., <sup>1</sup>Programa COPAS Sur-Austral Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Departamento de Oceanografía Universidad De Concepción. <sup>3</sup>Programa de Investigación Marina de Excelencia (PIMEX), Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad De Concepción.

El procesamiento de la materia orgánica en el océano es atribuido principalmente a bacterias y arqueas, sin embargo, recientes investigaciones indican que hongos estarían involucrados en la degradación de moléculas orgánicas en el ambiente marino. Con el objetivo de determinar la relación entre la estructura comunitaria y la capacidad degradativa de hongos en un gradiente costero frente a Chile central (~ 36 °S), se estudió su riqueza y actividad enzimática extracelular en agua y sedimentos del río Itata y la zona costera adyacente mediante cultivos, ensayos enzimáticos y herramientas moleculares.

Se aislaron 148 cepas de hongos filamentosos y 100 de levaduras desde la zona costera adyacente al río Itata. Las tasas de hidrólisis extracelular sobre sustratos glucosídicos fueron más altas para cepas aisladas desde la zona cercana a la desembocadura del río Itata durante invierno, lo que sugiere que los hongos podrían procesar macromoléculas orgánicas de origen terrestre en el área bajo la influencia directa de la descarga del río. El análisis de electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE) reveló variabilidad estacional y espacial de las comunidades de hongos en el gradiente río-océano tanto en sedimentos como en la columna de agua. El perfil de DGGE mostró una mayor riqueza de unidades taxonómicas operacionales (OTUs) en verano en la zona oceánica y en invierno en el estuario y la desembocadura. Nuestros resultados sugieren la presencia de hongos con mayor capacidad para degradar materia orgánica alóctona en la zona cercana a la desembocadura del río durante invierno. En cambio, durante verano, la comunidad fúngica estaría mejor representada en la zona más oceánica, donde podría estar procesando materia orgánica de origen marino.

Este trabajo fue financiado por el Programa de Investigación Marina de Excelencia PIMEX-Nueva Aldea (UDEC- Celulosa Arauco y Constitución), con apoyo del Centro de Investigación Oceanográfica COPAS-Sur Austral (PFB-31)

## Estructura comunitaria y capacidad enzimática hidrolítica de hongos en el ecosistema de surgencia costero de Chile central

### Community structure and hydrolytic enzymatic capability of fungi in the coastal upwelling ecosystem of Central Chile

**Garcés, D<sup>1</sup>**, Gutiérrez, M<sup>2,1</sup>, Quiñones, R<sup>2,3</sup>, Pantoja, S<sup>2,1</sup>, <sup>1</sup>Programa COPAS Sur-Austral Universidad de Concepción. <sup>2</sup>Departamento de Oceanografía Universidad De Concepción. <sup>3</sup>Programa de Investigación Marina de Excelencia (PIMEX), Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad De Concepción.

El procesamiento de la materia orgánica en el océano es atribuido principalmente a bacterias y arqueas, sin embargo, recientes investigaciones indican que hongos estarían involucrados en la degradación de moléculas orgánicas en el ambiente marino. Con el objetivo de determinar la relación entre la estructura comunitaria y la capacidad degradativa de hongos en un gradiente costero frente a Chile central (~ 36 °S), se estudió su riqueza y actividad enzimática extracelular en agua y sedimentos del río Itata y la zona costera adyacente mediante cultivos, ensayos enzimáticos y herramientas moleculares.

Se aislaron 148 cepas de hongos filamentosos y 100 de levaduras desde la zona costera adyacente al río Itata. Las tasas de hidrólisis extracelular sobre sustratos glucosídicos fueron más altas para cepas aisladas desde la zona cercana a la desembocadura del río Itata durante invierno, lo que sugiere que los hongos podrían procesar macromoléculas orgánicas de origen terrestre en el área bajo la influencia directa de la descarga del río. El análisis de electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE) reveló variabilidad estacional y espacial de las comunidades de hongos en el gradiente río-océano tanto en sedimentos como en la columna de agua. El perfil de DGGE mostró una mayor riqueza de unidades taxonómicas operacionales (OTUs) en verano en la zona oceánica y en invierno en el estuario y la desembocadura. Nuestros resultados sugieren la presencia de hongos con mayor capacidad para degradar materia orgánica alóctona en la zona cercana a la desembocadura del río durante invierno. En cambio, durante verano, la comunidad fúngica estaría mejor representada en la zona más oceánica, donde podría estar procesando materia orgánica de origen marino.

Este trabajo fue financiado por el Programa de Investigación Marina de Excelencia PIMEX-Nueva Aldea (UDEC- Celulosa Arauco y Constitución), con apoyo del Centro de Investigación Oceanográfica COPAS-Sur Austral (PFB-31)

## Obtención de cepas sobreproductoras de antioxidantes en aislados Antárticos de la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

### Obtention of antioxidant overproducing *Xanthophyllomyces dendrorhous* strains from Antarctic yeast isolates.

**Barahona, Salvador<sup>1</sup>**, Solis, Jaime<sup>1</sup>, Baeza, Marcelo<sup>1</sup>, Cifuentes, Víctor<sup>1</sup>, Alcaino, Jennifer<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Ecologicas, Ciencias, Universidad De Chile. (Patrocinado por Marcelo Baeza Cancino)

*Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura carotenogénica aislada de regiones frías como Alaska, Rusia, Japón, de las regiones VIII, IX y X de Chile, y ahora último, de la Antártica Chilena. Esta levadura produce astaxantina como pigmento principal que es de gran importancia biotecnológica por su uso como suplemento alimenticio y por sus propiedades antioxidantes. Sin embargo, la producción natural en cepas silvestres es baja desde un punto de vista comercial y de ahí la importancia en lograr cepas sobre-productoras, siendo la mutagénesis una alternativa para su obtención. El objetivo de este trabajo fue realizar mutagénesis con agentes químicos y físicos de cepas aisladas durante las Expediciones Científicas Antárticas en 2010 (Isla Rey Jorge, 13 aislados denominados ANCH01 a 13) y 2014 (Isla Shetland del Sur, 4 aislados denominados M11-1 y M13-1 a 3), que son rojos y amarillos. De los aislados obtenidos, se seleccionaron 8 de fenotipo rojo y 2 de fenotipo amarillo para someterlos a mutagénesis química con N-metil-N-nitro-nitroso-guanidina (NTG, 50 a 150 ug/ml) y física con rayos gamma (dosis de 0,5 a 9,0 kGy, servicio contratado en la Comisión Chilena de Energía Nuclear). A partir de todos los aislados estudiados, se encontró varios mutantes carotenogénicos, incluyendo algunos que visualmente presentan una mayor pigmentación que la cepa parental de la cual derivan. Entre ellos, se seleccionó un mutante de cada aislado Antártico para realizar analisis cuantitativo de carotenoides, confirmando en algunos casos que efectivamente producen más carotenoides que la cepa parental. Se concluye que ambos mutágenos utilizados son efectivos para obtener mutantes sobreproductores de carotenoides de *X. dendrorhous*, los que a su vez podrían ser sometidos a nuevos tratamientos mutagénicos u otras metodologías, como Ingeniería Metabolica, para su mejoramiento genético.

Proyecto INACH RG\_07-12

## Respuestas de crecimiento de plántulas de chile serrano var. HS-44 (*Capsicum annuum* L.) inoculadas con *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma virens*.

### Growth responses of Serrano pepper seedlings var. HS-44 (*Capsicum annuum* L.) inoculated with *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma virens*.

Herrera Jimenez, Erick<sup>1</sup>, Alarcón, Alejandro<sup>1</sup>, Sánchez-Viveros, Gabriela<sup>2</sup>, Castillo Rocha, Doris Guadalupe<sup>3</sup>,<sup>1</sup>Edafología, Microbiología del Suelo, Colegio de Postgraduados.<sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana.<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrícolas Universidad Veracruzana. (Patrocinado por Dr. Nicholas Giuliani).

Las especies del género *Trichoderma* que establecen interacción con el sistema radical promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas, en algunos casos la estimulación de la germinación de semillas. Además de poseer mecanismos de acción para el control de patógenos. El objetivo principal fue determinar el efecto de *Trichoderma harzianum* y *T. virens* (Cep Trich 038 y 046) para promover el crecimiento y desarrollo de plántulas de chile serrano var. HS-44. Se utilizaron plántulas de 20 días de crecimiento, germinadas en una cámara de ambiente controlado con un fotoperiodo 12:12 y una humedad relativa del 70 %. Se trasplantaron a cajas Petri con sustrato estéril (vermiculita-perlita) 2:1(v/v) e inoculado con las cepas de *Trichoderma* (UFC  $3 \times 10^5$ ), utilizando carbón vegetal como portador del inóculo con seis repeticiones y un testigo. El experimento se evaluó 30 días después de la inoculación. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, mediante la prueba LCD con un  $\alpha=5$  usando el paquete estadístico SAS 9.0. En función a las variables evaluadas (altura total de planta, longitud de raíz, peso seco de raíz, área foliar, peso seco de raíz, peso seco aéreo y peso seco total), las dos cepas promovieron un mayor crecimiento y desarrollo en las plántulas. Las plántulas inoculadas, mantuvieron un comportamiento homogéneo en todas las variables, sin embargo el incremento de biomasa seca (20-35%) y desarrollo de pelos absorbentes destacaron con comparación al testigo. Se concluye que, la utilización de estas cepas tienen una acción efectiva en la promoción del crecimiento vegetal en plántulas de chile y pueden ser una alternativa para disminuir el uso de compuestos de síntesis química en cultivos de importancia económica.

Este trabajo de investigación fue realizado gracias a CONACyT dentro del Proyecto SEP-CONACYT 130262 y Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

## Efecto de una mutanasa de *Trichoderma harzianum* sobre la morfología de biopelículas formadas por bacterias orales.

### Effect of a mutanase from *Trichoderma harzianum* on the morphology of biofilms produced by oral bacteria.

**Aguayo V., Daniel<sup>1</sup>.**, Sánchez, Manuel<sup>2</sup>, Huerta, Jaime<sup>2,1</sup>, Salazar, Javier<sup>1</sup>, Mendoza, Hegaly<sup>1</sup>, Bittner, Mauricio<sup>3</sup>, Polanco, Rubén<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Center for Bionformatics & Integrative Biology, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, <sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Oral, Facultad de Odontología y Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Dra. Claudia Saavedra (UNAB)).

La enfermedad periodontal es una patología cuya prevalencia supera el 95%. Está asociada a la formación de una biopelícula bacteriana en la que intervienen diferentes especies del género *Streptococcus*, como colonizadores primarios y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, un colonizador tardío, vinculado a la manifestación agresiva de esta patología. En este estudio caracterizamos el efecto de sobrenadantes de *T. harzianum*, enriquecidos en la actividad mutanasa y de la enzima recombinante purificada, sobre la morfología de biopelículas simples y mixtas formadas por *Streptococcus* y *A. actinomycetemcomitans*. La superficie de las biopelículas se analizó utilizando el microscopio LVEM5 en su modo de microscopía electrónica de barrido. Las imágenes fueron capturadas usando 5kV y en ausencia de recubrimiento con metales pesados u otro pre-tratamiento. La baja manipulación y/o alteración de la muestra permite la observación directa del exopolisacárido de la biopelícula, sin mayores perturbaciones como ocurre con otras técnicas de microscopía electrónica. Sólo células de *A. actinomycetemcomitans* se observaron en la superficie de las biopelículas mixtas, la cual aparece con más de una capa a las 2 horas de formación. Además, las biopelículas tratadas con el extracto o la enzima purificada muestran un patrón de agregación diferencial, con una importante disminución de la matriz de exopolisacáridos que soporta la formación de conexiones interbacterianas. Sin embargo, la enzima no mostró un efecto significativo sobre las biopelículas simples formadas por *Streptococcus*. Esta observación es consistente con la cuantificación *in vitro* de estas biopelículas tratadas con la enzima.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 11130576 (DA) y PROYECTO DI-130-12/R (UNAB, RP).

[daniel.aguayo@unab.cl](mailto:daniel.aguayo@unab.cl)

[rpolanco@unab.cl](mailto:rpolanco@unab.cl)

## Identificación y caracterización del hongo comestible *Morchella* spp. de la Patagonia Aysenina.

### Identification and Characterization of the edible fungi *Morchella* spp. from the Aysen region Patagonia.

**Gerding, M<sup>1</sup>.**, Machuca, Angela<sup>2</sup>., Oyarzúa, Pía<sup>1</sup>., Cid, Hertes<sup>2</sup>., Gómez, Claudia<sup>3</sup>., Córdova, Carolin<sup>4</sup>., Silva, Fernán<sup>5</sup>., <sup>1</sup>Producción Vegetal, Agronomía, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Escuela de Ciencias y Tecnología Universidad de Concepción. <sup>3</sup>Ingeniero Agrónomo, independiente Coyhaique. <sup>4</sup>Suelos y Recursos Naturales, Agronomía, Universidad de Concepción. <sup>5</sup>Servicio Agrícola y Ganadero Coyhaique.

Las morillas (*Morchella* spp.) son hongos silvestres comestibles recolectados en todo el mundo como un producto forestal no maderero. Producto de sus reconocidas propiedades culinarias son apreciados en Chile y en el extranjero, donde alcanzan elevados precios de mercado. En la región de Aysén, Chile, *Morchella* se encuentra asociadas a bosques de *Nothofagus* spp. desde donde son recolectados principalmente para su exportación. Se ha reportado la presencia de *M. conica* en la región de la Araucanía, y de *M. esculenta* en las regiones del Biobío y la Araucanía, sin embargo, en los ecosistemas de la Patagonia Chilena la información acerca de *Morchella* es escasa. El objetivo de este estudio fue caracterizar e identificar especímenes de *Morchella* recolectados en la Patagonia Aysenina. En noviembre de 2013 se recolectaron ascocarpos desde distintas parcelas en el sector de Ñirehuao, Aysén. Los ascocarpos fueron separados en dos grandes grupos de acuerdo al color de sus píleos y luego caracterizados morfológicamente. Sin embargo, la enorme variabilidad de formas y tamaños de píleos, estípites y esporas hizo imposible la identificación de especies a través de características macro- y microscópicas. Por ello, a partir de trece ascocarpos se extrajo ADN para amplificar y secuenciar el gen ITS. Los especímenes colectados desde parcelas en ladera y con mayor exposición solar fueron semejantes en 98% o más a *Morchella frustrata* y *Morchella vulgaris* y correspondieron a los de píleos color crema, y los especímenes colectados desde zonas boscosas fueron identificados como *Morchella elata* y correspondieron a los de píleos negros. La identificación molecular de las especies se está realizando también a partir de cultivos miceliales puros obtenidos a partir de los ascocarpos.

CONAF - Fondo de Investigación del bosque nativo. n° 77/2013. "Factores Microambientales relacionados con el desarrollo y la diversidad de *Morchella* spp. en bosques de *Nothofagus* de la Patagonia Aysenina.

## Caracterización de Actinobacterias aisladas desde diferentes ambientes de la Antártica

### Isolation and characterization of Actinobacteria from different Antarctic environments

**Barrientos, Leticia**<sup>1</sup>, Lamilla, Claudio<sup>1</sup>, Lagos, Lorena<sup>2</sup>, Cid, Fernanda<sup>2</sup>, Jorquera, Milko<sup>2</sup>, Salazar, Luis<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Ciencias Básicas, Facultad de Medicina. Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos, Universidad de La Frontera. <sup>2</sup>Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería y Ciencias. Núcleo Científico y Tecnológico en Biorecursos, Universidad de La Frontera. (Patrocinado por Milko Jorquera Tapia)

La Antártica ofrece una oportunidad única para investigar en uno de los entornos menos caracterizados y prístinos del planeta con condiciones climáticas adversas, que han condicionado la diversidad de los seres vivos que allí habitan. El phylum *Actinobacteria* es una de las principales poblaciones microbianas, ampliamente distribuidas en los ambientes acuáticos y terrestres, capaces de producir varios metabolitos secundarios y compuestos con diferentes actividades. Las actinobacterias antárticas podrían ser un recurso valioso para el descubrimiento de metabolitos activos, con posibles aplicaciones biotecnológicas. Es así que el objetivo de esta investigación fue aislar y caracterizar actinobacterias provenientes de suelos, sedimentos y agua obtenidos en la Antártica. Las muestras fueron recolectadas durante la Expedición Científica Antártica 2013 y 2014. Los aislamientos bacterianos se realizaron en placas conteniendo los medios de cultivo NM1, ISP2 e ISP 3, y se incubaron a 4 y 15 °C. Cada aislado fue caracterizado microscópicamente y con el kit APIZYM. También se evaluó la actividad proteolítica, lipolítica, amilolítica y celulolítica de cada uno de los aislados. La caracterización genética se realizó con el empleo de los partidores universales 27F y 1492R. Los productos de PCR, luego de su secuenciación, se compararon con la base de datos del GenBank. Se han identificado 14 cepas de diferentes Actinobacterias, entre las que destacan varias cepas de los géneros *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Thermoleophilum*, *Janibacter*, *Knoellia*, *Rhodococcus* y *Curtobacterium*. Tanto el test APIZYM como la producción de enzimas hidrolíticas extracelulares demostraron que estas bacterias poseen una interesante actividad enzimática. Los datos obtenidos nos entregan promisorios resultados, que permitieron aislar y caracterizar diferentes Actinobacterias antárticas, cuya actividad enzimática deberá ser mejor estudiada en la búsqueda de sus posibles aplicaciones biotecnológicas.

Proyecto INACH RT\_14-12

## **Aislamiento de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) y rizobios asociados a lenteja (*Lens culinaris*) en el secano interior de Chile.**

### **Isolation of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and rhizobia associated to lentil (*Lens culinaris* L.) in Chilean mediterranean dryland**

Gerding, M<sup>1</sup>., Sepúlveda, Maurine<sup>1</sup>., Gajardo, Matías<sup>1</sup>., Oyarzúa, Pía<sup>1</sup>., Vargas, Marisol<sup>1</sup>., Moya Elizondo, Ernesto<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Producción Vegetal, Agronomía, Universidad De Concepción.

La lenteja (*Lens culinaris*) normalmente se cultiva en la zona del secano interior de Chile. Sin embargo, los rendimientos alcanzados son bajos debido a su cultivo en suelos erosionados, de baja fertilidad y con escasez hídrica. Un factor clave en el establecimiento de leguminosas, es la inoculación con bacterias del género *Rhizobium* las que permiten asegurar la fijación y suministro de nitrógeno. Por otro lado, las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), han surgido como una alternativa para promover el crecimiento radicular a través de diversos mecanismos. El objetivo de este trabajo fue aislar y caracterizar rizobios y bacterias PGPR desde distintos suelos de la región del Bio-Bío. Para esto, se estableció un sistema "cultivo trampa" utilizando las muestras de suelo y lenteja Araucana INIA. Transcurridos dos meses, se removi6 las plantas completas y se aisl6 bacterias desde la riz6sfera, y desde los n6dulos radiculares. El potencial de promoci6n de crecimiento se evalu6 a trav6s de la habilidad de estas bacterias de solubilizar f6sforo (P) y de producir la fitohormona 6cido indol ac6tico (AIA). Las bacterias seleccionadas fueron evaluadas en cuanto a su habilidad para promover crecimiento radicular y mejorar la nodulaci6n por *Rhizobium* en un mini-rizotr6n con pl6ntulas de lenteja inoculadas con rizobios m6s las PGPR. Se obtuvo 38 aislamientos solubilizadores de P de los cuales 24 produjeron AIA. En el ensayo de promoci6n de nodulaci6n, se observ6 aumentos en la tasa de nodulaci6n y en la masa nodular con la inoculaci6n dual PGPR-Rizobio. La co-inoculaci6n PGPR-Rhizobium en terreno permitir6 aumentar la nodulaci6n y eficiencia de fijaci6n de nitr6geno y mejorar el enraizamiento, asegurando la supervivencia de la planta.

Fondecyt Iniciaci6n n° 11130479 "Rhizosphere bacteria and their impact in rhizobia performance and legume production"



## Genome-wide transcriptome profiling of the biofilm-related transcriptional regulator Saci1223 deletion mutant reveals a functional impact on energy production and carbohydrates metabolism genes during biofilm growth of *Sulfolobus acidocaldarius*

**Veliz, Fabián**<sup>1</sup>, Li, Lingling<sup>2</sup>, Mukherjee, Arpan<sup>3</sup>, Kelly, Robert M.<sup>3</sup>, Albers, Sonja-Verena<sup>2</sup>, Orell, Alvaro<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor. <sup>2</sup>Laboratorio de Biología Molecular de Arqueas Instituto Max-Planck de Microbiología Terrestre. <sup>3</sup>Departamento de Química e Ingeniería Molecular Universidad Estatal de Carolina del Norte. (Patrocinado por Alvaro Orell Ruiz).

La formación de biopelículas es considerado el estilo de vida microbiano más favorable para persistir en la naturaleza. Las células microbianas que forman parte de la biopelícula difieren de sus homologas plantónicas, en particular por su resistencia a las fluctuaciones ambientales. La formación de biopelículas se ha estudiado extensamente en bacterias, debido a su asociación con infecciones persistentes; sin embargo los mecanismos moleculares que rigen el desarrollo de biopelículas en microorganismos del dominio *Archaea* permanecen escasamente caracterizadas. Recientemente hemos identificado un regulador transcripcional (Saci1223) asociado a la formación de biopelículas en la arquea termoacidófila *Sulfolobus acidocaldarius*. Nuestra evidencia genética sugiere que Saci1223 actúa como un activador de la formación biopelículas en *S. acidocaldarius*, pues su ausencia afectó en un 50% el desarrollo de biopelículas. En este trabajo, mediante experimentos de microarreglos de cDNA, identificamos 592 genes expresados diferencialmente en la cepa *S. acidocaldarius*  $\Delta$ saci1223::pyrEF en ambas condiciones de crecimiento (plantónico y biopelículas), en comparación con la cepa de silvestre. Los transcritos regulados fueron clasificados de acuerdo al código de categorías funcionales arCOG. Este análisis mostró que un 34% del total de los transcritos correspondieron a genes vinculados con la producción/conversión de energía y con el metabolismo de carbohidratos. Los niveles de transcritos de varios genes que codifican para componentes de la cadena respiratoria tales como las oxidasas terminales del complejo DoxBCD disminuyeron en células de biopelículas de la cepa  $\Delta$ saci1223::pyrEF, mientras que genes que codifican para oxidoreductasas de NADH se encontraron sobreexpresados. Los cambios también afectaron negativamente la expresión de genes relacionados con el metabolismo central de carbono y con el transporte de carbohidratos. Así, nuestro análisis transcriptómico sugiere fuertemente que la ausencia del regulador transcripcional saci1223 gatilla un fenómeno de deficiencia energética celular, lo que podría explicar en parte la discapacidad de la cepa  $\Delta$ saci1223::pyrEF para desarrollar biopelículas.

Financiado por FONDECYT INICIACIÓN N° 11130229

## Estudio de la microbiota asociada a congrio colorado (*Genypterus chilensis*) cultivado en Chile.

### Microbiota associated with red conger eel (*Genypterus chilensis*) farmed in Chile.

**Levicán, Arturo**<sup>1,2</sup>, Avendaño-Herrera, Ruben<sup>1,2,3</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>2</sup>Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. <sup>3</sup>Centro de Investigación Marina de Quintay, CIMARQ, Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Ruben Avendaño-Herrera).

El congrio colorado (*Genypterus chilensis*) posee alta demanda gastronómica en Chile, la cual actualmente no es satisfecha por la pesca extractiva. De hecho, en los últimos años existe una sobreexplotación de este recurso. Por esta razón, se han desarrollado tecnologías para su cultivo, pero aún falta mejorar en el aspecto sanitario. Esto porque recientemente se han reportado mortalidades masivas en etapas tempranas del desarrollo asociadas a un aumento en la carga de ciertos grupos bacterianos, en especial aquellos pertenecientes al género *Vibrio*. El presente estudio pretende conocer la composición de la microbiota asociada al cultivo del congrio colorado en condiciones saludables. Se realizaron 2 muestreos incluyendo agua, peces y alimento vivo (rotíferos y microalgas) en los meses de Marzo y Junio de 2014. El recuento de bacterias totales se realizó utilizando DAPI, y el de bacterias cultivables, en los medios TSA suplementado con 1% NaCl y en TCBS. Las bacterias predominantes en cultivo fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas clásicas y secuenciación del gen 16S ARNr. Los recuentos de bacterias heterótrofas totales fluctuaron entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC ml<sup>-1</sup>, mientras que por DAPI se detectó un orden de magnitud mayor. Estos recuentos son inferiores a los observados durante los eventos de mortalidad masiva. En cuanto a la diversidad de géneros identificados, en condiciones saludables esta fue mayor y sólo un 10% de los aislados correspondió a especies del género *Vibrio*, todas ellas descritas a partir de la microbiota normal de organismos marinos y/o del agua. La composición de la microbiota asociada al congrio colorado en condiciones saludables es distinta en número y diversidad específica a la observada en larvas moribundas. En este sentido, aunque la mortalidad en sistemas de producción masiva puede deberse a diversos factores, el conocimiento de las especies bacterianas asociadas a congrio colorado es clave para prevenir y controlar enfermedades en las etapas tempranas de su desarrollo.

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto CONICYT/FONDECYT Postdoctorado N° 3140296 y por el Proyecto CONICYT/FONDAP N° 15110027.

## Caracterización filogenética de cepas de *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* aisladas de especímenes de *Juglans regia* en la región del Biobío, Chile.

### Phylogenetic characterization of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* strains isolated from *Juglans regia* specimens in the Región del Biobio, Chile

Yáñez, Romina<sup>4</sup>, Jaid, Saldías<sup>4</sup>, Pablo, Nuñez<sup>1</sup>, Alvarado, Romina<sup>2</sup>, Retamales, Julio<sup>2</sup>, Marshall, Sergio H.<sup>3</sup>, Gómez, Fernando A.<sup>4</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio Investigación Laboratorio de Investigación Agrícola Agroadvance Ltda. <sup>2</sup>Laboratorio de Investigación Laboratorio de Investigación Agrícola Agroadvance Ltda. <sup>3</sup>Instituto de Biología, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>4</sup>Instituto de Biología, Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por James Robeson Camus).

Actualmente existe un gran interés en la identificación y tipificación de patógenos microbianos que puedan estar afectando la productividad agrícola en el país, siendo una de las principales razones generar métodos de diagnósticos eficaces que más adelante permitan el desarrollo de nuevas medidas de control. La especie bacteriana *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* es un patógeno aislado de plantas, responsable de la peste negra que afecta al nogal (*Juglans regia*), enfermedad que ocasiona grandes pérdidas en la producción de este cultivo. En el presente estudio se aislaron bacterias desde frutos de nogal con sintomatología de peste negra en la Región del Biobío, las que fueron sembradas en medio de cultivo YPGA, seleccionando colonias amarillas con morfología y color típico de *X. arboricola*, a las que se les realizó PCR con los primers X1 y X2, específicos para organismos del género *Xanthomonas*, confirmando que los aislados pertenecen a este género. Posteriormente, se amplificó y secuenció los genes *gyrB*, *rpoD* y *fyuA*, para realizar un análisis filogenético. Los resultados de la secuenciación demuestran que los genes de las cepas chilenas tiene alta similitud con organismos de la especie *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, específicamente a las cepa de la colección europea LMG 746 de UK y a IZB 422 de Serbia. Estos resultados fueron confirmados por la construcción de árboles filogenéticos, pero se observó una incongruencia en los árboles con los distintos genes, hecho reportado anteriormente por otros autores, lo que sugiere que los aislados de *X. arboricola* pv. *juglandis* podrían ser linajes filogenéticos distintos surgidos por algún evento de recombinación como lo ha sido descrito anteriormente. El análisis de un número mayor de genes permitirá dilucidar de mejor manera las relaciones filogenéticas existentes dentro de las cepas chilenas, lo que producirá la correcta caracterización de los patovares de *X. arboricola* en Chile.

Investigación financiada por Laboratorio de Investigación Agrícola Agroadvance Ltda. y la Dirección de Investigación de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

## Detección y aislamiento del agente etiológico del Síndrome Anémico y Anasárquico de la Trucha (SAAT), mediante RT-PCR en tiempo real y cultivo celular.

### Detection and isolation of the etiologic agent of the Anemic Anasarctic Trout syndrome (AATS) by real-time RT-PCR and cell culture.

**González-Catrilebún, Sebastián**<sup>1,4,2</sup>, Tambley-Zamorano, Carolina<sup>4,2,1</sup>, Toro-Ascuy, Daniela<sup>1,2,4</sup>, Spencer, Eugenio<sup>3,4</sup>, Sandino, Ana María<sup>4,5,3</sup>, Cortez-San Martín, Marcelo<sup>4,2,1</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Virología Molecular, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Laboratorio de Virología Molecular ICTIO Biotecnologies. <sup>3</sup>Laboratorio de Virología ICTIO Biotecnologies. <sup>4</sup>Centro de Biotecnología Acuicola, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>5</sup>Laboratorio de Patología de Peces, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Eugenio Germán Spencer Ossa)

La producción de salmónidos en Chile es una de las industrias más importante a nivel nacional y mundial. Sin embargo, uno de los principales problemas a los que se ve enfrentado esta industria es la ocurrencia de nuevas enfermedades. Tal es el caso del Síndrome Anémico y Anasárquico de la Trucha Arcoíris (SAAT), patología de etiología desconocida. Estudios previos en el laboratorio han llevado a proponer que el origen de esta patología podría estar relacionado con un nuevo tipo de alfavirus de salmónidos (SAV). SAV es un virus de ARN de simple hebra de polaridad positiva que afecta tanto a trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* como al salmón del atlántico *Salmo salar*. Los alfavirus de salmónidos son actualmente el principal responsable de pérdidas económicas en Europa, constituyéndose como una amenaza creciente para la industria de producción de salmónidos en Chile. Para determinar si el agente causante de SAAT corresponde a un alfavirus de salmónidos, en este estudio se logró aislar en líneas celulares CHSE-214 y RTG-2 al agente patógeno, utilizando tejidos de peces diagnosticados con SAAT. Sin embargo este agente no ha podido ser detectado correctamente por los métodos comunes de diagnóstico molecular para SAV. Por lo cual, en el laboratorio se ha desarrollado un ensayo por RT-PCR en tiempo real, que permite detectar de manera específica y sensible este agente infeccioso. Los resultados mostraron que el agente etiológico de SAAT corresponde a un tipo de alfavirus de salmónidos Chileno (ChSAV). Por tanto, a partir de los datos obtenidos en este estudio, se puede concluir que alfavirus de salmónidos SAV, dentro del género Alfavirus, familia *Togaviridae*, se encuentra asociado a la nueva patología de trucha arcoíris SAAT.

PROYECTO CORFO 13CTI-21527

Centro de Biotecnología Acuicola

ICTIO biotechnologies

## Caracterización de rizobacterias capaces de aumentar la tolerancia frente salinidad para fortalecer la agricultura en zonas áridas y semiáridas.

### Characterisation of rhizobacterias able to increase salt tolerance to foster the agriculture in arid and semiarid zones

**Maldonado, Stefanie**<sup>1.</sup>, Bravo, Jaime<sup>2.</sup>, Stoll, Alexandra<sup>1,3.</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Aplicada Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas. <sup>2</sup>Biotecnología Universidad Politécnica de Pénjamo, Gto, México. <sup>3</sup>DIULS Universidad La Serena.

PGPR son un grupo de rizobacterias que influyen directa o indirectamente el crecimiento de plantas, e.g. movilizand o nutrientes o biocontrol. Además pueden inducir resistencia sistémica a patógenos y tolerancia a la salinidad. El mecanismo más conocido entre las rizobacterias es la capacidad de disminuir las concentraciones de etileno mediante la acción de la enzima ACC-desaminasa que degrada la molécula y les permite utilizarla como fuente de nitrógeno. Para evaluar el rol que puede conferir la presencia de la enzima ACC desaminasa de PGPR en la tolerancia a la sal de plantas de Arabidopsis, se realizó un screening de 250 rizobacterias aisladas de lechuga, choclo y maíz de zonas agrícola del Valle del Elquí en la Región de Coquimbo, de estas fueron seleccionada 4 cepas según su capacidad PGPR. A las 4 cepas seleccionadas se les midió la actividad de ACC desaminasa según Penrose & Glick (2003). Para el ensayo invitro, plántulas de Arabidopsis pre-germinadas fueron colocadas arriba en placas MS 0,4 % con 4 concentraciones NaCl (0 mM, 50 mM, 100 mM y 150 mM). Los 4 aislados fueron rayados abajo respectivamente. La incubación fue por 15 días en cámara de crecimiento (22 °C, fotoperiodo de 16/8 h, 70 % humedad). Al final del ensayo se determinaron el largo y diámetro de raíz, número de raíces secundarias, largo del tallo, área foliar y peso fresco. En todos los tratamientos de NaCl se observó un aumento en peso fresco, área foliar y N° de raíces secundarias en aquellas plántulas sometidas a inoculo bacteriano. Además incrementó la tasa de sobrevivencia a 100 mM y 150 mM. Los resultados indican que las rizobacterias estudiadas aumentan la tolerancia de Arabidopsis a la salinidad. A futuro, se evaluarán estas mismas cepas con plantas de importancia agrícola en condiciones de invernadero y campo.

FIC 2012 Desarrollo de Tecnologías Orgánicas a base de microorganismos nativos para potenciar el sector Hortícola en zonas áridas de Chile

## Ruta de colonización y respuesta inmunológica del ostión del norte *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) frente a infección por *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, 1953)

### Colonization pathway and immune response of *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) upon infection by pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, 1953)

**García-Bartolomei, E<sup>1,2</sup>**, Cáceres-Collao, M<sup>1</sup>, Guiñez, R<sup>2</sup>, Riquelme, C<sup>3</sup>, Hengst, M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Bioinnovación - Instituto Antofagasta, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Naturales Alexander Von Humboldt, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. (Patrocinado por Martha Brigitte Hengst López).

*Vibrio parahaemolyticus* es un patógeno humano oportunista que habita los sistemas costeros y es comúnmente aislado desde moluscos bivalvos, que por filtración pueden concentrar bacterias patógenas. Por ello, los bivalvos son considerados reservorios de *V. parahaemolyticus* y vectores de infección para la población humana. El ostión del norte *Argopecten purpuratus* es uno de los principales moluscos bivalvos de importancia comercial en Chile. El mayor banco natural de semillas de ostiones del país se encuentra en la bahía de Antofagasta, lugar donde ocurrió el primer brote patógeno de *V. parahaemolyticus* en humanos en Sudamérica. Bacterias del género *Vibrio* son habitantes frecuentes de diferentes tejidos del ostión del norte, por lo que es posible hipotetizar que *V. parahaemolyticus* podría colonizar a *A. purpuratus*. Los propósitos de este trabajo fueron establecer las posibles vías de colonización de *V. parahaemolyticus* sobre *A. purpuratus*, y evaluar la respuesta inmunológica del ostión a través del recuento de hemocitos. Los ostiones fueron expuestos por 12 horas a *V. parahaemolyticus* patógeno marcado con una Proteína Verde Fluorescente (GFP) y su concentración fue evaluada vía microscopía de epifluorescencia. Los resultados muestran que *V. parahaemolyticus* coloniza distintos órganos internos de *A. purpuratus*, tales como branquias, manto, digestivo y gónada. Se observó además una correlación positiva significativa entre el número de hemocitos versus la abundancia de *V. parahaemolyticus* en la hemolinfa. Por primera vez se registra asociaciones tejido específicas y conteos *in vivo* de la acumulación de *V. parahaemolyticus* en *A. purpuratus* y una respuesta inmunológica por parte del ostión frente a la colonización de *V. parahaemolyticus*. Estos resultados sugieren que *A. purpuratus* podría estar actuando como reservorio ambiental de *V. parahaemolyticus* siendo un posible vector de infección para la población humana.

FONDEF Marea Roja MR0711006, FICR 4608, CODEI 5388, CODEI-31-2010.

## Caracterización parcial del efecto ejercido por el ácido tetracloroáurico sobre *E coli*

**Castro, Miguel**<sup>1</sup>, Valenzuela, Daniela<sup>1</sup>, Vásquez, Claudio<sup>2</sup>, Arenas, Felipe<sup>2</sup>, Reinoso, Claudia<sup>1</sup>, Muñoz, Claudia<sup>2</sup>, Espinoza, Juan Pablo<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. (Patrocinado por Antonio Castillo Nara).

El compuesto ácido tetracloroáurico (HAuCl<sub>4</sub>) se utiliza normalmente como reactivo para la obtención de nanopartículas metálicas de oro, ya sea por métodos químicos o biológicos. Dentro de estos últimos el uso de bacterias como sistema de biosíntesis ha demostrado ser eficiente a nivel de laboratorio. Sin embargo, no están del todo claro los efectos que H AuCl<sub>4</sub> puede generar en el metabolismo celular. En el caso de otros metales, la formación de nanoestructuras lleva asociado el establecimiento de un estrés oxidativo en la célula, dado por el aumento de especies reactivas de oxígeno intracelular y un incremento en la actividad de enzimas asociadas a la defensa o respuesta al estrés como catalasas y superóxido dismutasa.

La comprensión de los efectos del H AuCl<sub>4</sub> en el metabolismo celular podrá contribuir a entender de mejor manera la formación de nanoestructuras intracelulares de este metal con miras a diseñar sistemas eficientes de biosíntesis de nanopartículas metálicas utilizando bacterias.

Resultados obtenidos utilizando como modelo cepas de *E. coli* revelaron que las células expuestas a H AuCl<sub>4</sub> experimentaron alteraciones en la tasa de proliferación celular visualizado por medio de curvas de crecimiento. Al mismo tiempo, las células mostraron un incremento en las especies reactivas de oxígeno intracelulares y la actividad catalasa, lo que sugiere que el H AuCl<sub>4</sub> podría generar daño oxidativo.

Departamento de Ciencias Básicas UST sede Santiago (Miguel Castro)  
FONDECYT Postdoctorado 3120049 (Felipe Arenas)

## Caracterización genética de cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con enfermedad de Crohn.

### Genetic characterization of *Escherichia coli* strains isolated from patients with Crohn's disease.

**Céspedes, Sandra**<sup>1</sup>, Saitz, Waleska <sup>1</sup>, Del Canto, Felipe<sup>1</sup>, Gutierrez, Daniela<sup>1</sup>, Chamorro, Nayaret<sup>1</sup>, Torres , Alexia<sup>1</sup>, Pardo, Mirka<sup>1</sup>, Montero, David<sup>1</sup>, Araya, Daniela<sup>1</sup>, Hermoso, Marcela<sup>2</sup>, Vidal, Roberto<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Microbiología y Micología, Medicina, Universidad De Chile.<sup>2</sup>Inmunología, Medicina, Universidad De Chile. (Patrocinado por Roberto Vidal Alvarez)

La enfermedad de Crohn (EC) es un proceso inflamatorio sistémico, que afecta principalmente el tracto gastrointestinal. La etiología de la EC es multifactorial, destacando factores inmunológicos, genéticos y ambientales. *Escherichia coli* adherente invasiva ha sido descrita en aislados microbiológicos de pacientes con EC y se caracteriza por adherirse e invadir células epiteliales, sobrevivir en macrófagos y poseer factores de virulencia distintos a los presentes en cepas diarreagénicas de *E. coli*. Sin embargo, la variabilidad genética y factores de virulencia presentes en *E. coli* adherente invasiva no han sido completamente descritos. El objetivo de este trabajo comprendió la caracterización molecular de aislados de *Escherichia coli* adherente invasiva obtenidos de biopsias de pacientes con EC. Cepas de pacientes con EC (n=16) y cepas aisladas de pacientes controles (n=4) fueron estudiadas. La clonalidad entre las cepas fue determinada mediante PFGE. Los grupos filogenéticos (A, B1, B2, y D) y la genotipificación de genes de virulencia, tales como *cnf1*, *hlyA*, *cdtB*, *iucD*, *neuC*, *ibeA*, *papC*, *sfa/focDE*, *afa/draBC*, *fimH*, *fimAvMT78*, *aufA*, *ratA*, *cvaC*, *irp2*, *phuD*, *chuA*, *gipA*, serin-proteasas autotransportadoras de enterobacterias (SPATEs) fueron determinados mediante PCR. El análisis de PFGE permitió distinguir dos grupos con un porcentaje de similitud por sobre el 60%. De los aislados clínicos de pacientes y controles, 10/16 y 2/4 pertenecen al filogrupo B2; 5/16 y 1/4 al grupo D respectivamente. Los factores de virulencia, *irp2* y *chuA* fueron detectados en 15/16 y 16/16 cepas de pacientes, distinto a lo observado en controles con 2/4 y 3/4, respectivamente. 13/16 cepas EC presentaron al menos un SPATE, a diferencia de los controles donde se observó en 2/4. Nuestros resultados nos permiten concluir que los aislados de *E. coli* obtenidos de pacientes EC, presentan una alta variabilidad genética, con genes de virulencia típicos de *E.coli* patógenas extraintestinales.

FONDECYT de Postdoctorado 3140468, FONDECYT 1120557



## Optimización del cultivo de Rotíferos (*Brachionus plicatilis*) alimentados con una cepa de levadura *Debaryomyces hansenii*.

### Rotifera (*Brachionus plicatilis*) culture optimization, feeded with a *Debaryomyces hansenii* strain.

Cifuentes, Ónix<sup>2</sup>, Valladares, Luis<sup>1</sup>, Romero, Jaime<sup>2</sup>, **Opazo, Rafael<sup>2</sup>**, <sup>1</sup>Lab de Hormonas y receptores, INTA, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Lab de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile. (Patrocinado por Comisión Nacional De Investigación Científica Y Tecnológica).

La utilización de rotíferos del genero *Brachionus* para la alimentación de etapas larvarias en peces y camarones es una práctica común utilizada en la acuicultura. Esto debido a que el tamaño de muchas larvas requiere alimentos vivos pequeños cercanos a los 150-300µm, siendo el *Brachionus plicatilis* el rotífero marino más ampliamente usado como suministro principal para el crecimiento de larvas. En general los rotíferos son alimentados con cultivos de microalgas, no obstante, también se pueden utilizar levaduras las cuales tienen la ventaja de presentar un cultivo de fácil manejo, axénico y de rápido crecimiento, otorgando atributos que las transforman en una interesante alternativa para la acuicultura. Este trabajo tuvo como objetivo optimizar el cultivo de *B. plicatilis* utilizando una cepa de levadura del género *Debaryomyces hansenii*. El estudio fue propuesto en un sistema de lote alimentado en matraces, analizado los factores de cultivo mediante un diseño factorial de Box Behnken con dos variables: i) contenido final de rotíferos y ii) concentración final de amonio. Los factores de optimización considerados fueron: a) inóculo que corresponde a la concentración inicial de *Brachionus plicatilis*, b) cantidad de *Debaryomyces* diarios - Feeding y c) porcentaje de salinidad del medio. Los resultados obtenidos al analizar el diseño factorial en relación al contenido total final de rotíferos, indican que el factor con la mayor significancia fue el inóculo. Además, se determinó que la salinidad presentó mayores niveles de eficiencia al 12,5%. En relación al análisis factorial en relación a la concentración de amonio, los factores más significativos fueron la salinidad y la cantidad de *Debaromyces* administrados diariamente. Los resultados muestran que esta levadura es una alternativa para la alimentación y crecimiento de rotíferos, otorgando una oportunidad de contar con un elemento inocuo y de rápida obtención para la alimentación de las fases larvarias de peces de interés acuicultura.

Proyecto Cód. 791100002 del Programa PAI Y Fondecyt Postdoctorado 3130518

## Microbiología de lagunas presentes en bofedales del Salar de Huasco.

### Microbiology of ponds presents in peatlands in Salar de Huasco.

**Acosta, Eduardo**<sup>1,2,3</sup>, Dorador, Cristina<sup>1,2,3</sup>, Sommaruga, Ruben<sup>4</sup>, Molina, Veronica<sup>5</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB) Universidad De Antofagasta. <sup>4</sup>Institute of Ecology University of Innsbruck, Austria. <sup>5</sup>Facultad de Ciencias Naturales Universidad de Playa Ancha, Valparaíso. (Patrocinado por Cristina Inés Dorador Ortiz).

El Salar de Huasco es un humedal atalosoalino ubicado en la región de Tarapacá, en el Altiplano chileno, en donde existen condiciones ambientales únicas y altamente fluctuantes tanto a nivel diario como a nivel estacional. En este sistema existen aguas con una concentración variable de sales y materia orgánica, en donde prolifera una rica diversidad de microorganismos que interactúa con diferentes organismos superiores. En el presente estudio se analizó la diversidad microbiana de 5 muestras de agua provenientes de lagunas altamente pigmentadas rojas y verdes presentes en bofedales asociados a la vertiente de agua dulce H3 del Salar de Huasco, utilizando técnicas de secuenciación masiva de ADN (pirosecuenciación), mediante la amplificación del gen ribosomal 16S de *Bacteria*. Se utilizó la herramienta MOTHUR para analizar las secuencias obteniendo un total de 51.490 secuencias, de las cuales 2.706 correspondieron a diferentes OTUs tomando como referencia la base de datos de SILVA. Los principales phyla detectados fueron *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Cyanobacteria*, entre otros. Encontrándose ciertos taxa que estarían estrechamente relacionados con la alta pigmentación de las lagunas. Este tipo de microambientes ha sido poco analizado en humedales altoandinos, los cuales entregarían mayor información sobre la dinámica de las zonas productivas de salares relacionadas a distintos microorganismos.

FONDECYT 1110953, 1140179, 1140356, 1110824; Centro CeBiB FB 0001, Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia

## Aislamiento de bacterias resistentes a cobre y arsenico desde suelos de La Greda-Puchuncaví.

### Isolation of copper and arsenic resistant bacteria isolated from soils of La Greda, Puchuncavi.

Zahr, M<sup>1</sup>., Yañez, C<sup>2</sup>., Donoso, P<sup>2</sup>., Morales, R<sup>3</sup>., Lobos, G<sup>4</sup>., <sup>1</sup>Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. <sup>2</sup>Instituto de Biología, Facultad Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>3</sup>Instituto de Biología, Facultad Ciencias, Universidad De Valparaíso. <sup>4</sup>Instituto de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad De Valparaíso.

La comuna de Puchuncaví desde 1964 ha sido expuesta a emisiones de material particulado, con una elevada presencia de metales y metaloides, como son  $PM_{10}$ ,  $PM_{2,5}$  y  $SO_2$ , debido a las actividades industriales que allí se realizan provocando un alto riesgo ambiental. En este trabajo se aislaron desde el suelo de La Greda, bacterias resistentes a altas concentraciones de cobre y arsenico para su posible utilización en descontaminación ambiental. Se tomaron muestras de suelo superficial de 0 a 20 cm aproximadamente, en cinco puntos representativos de la zona La Greda, cercanos a la población, la que se encuentra a 2 km al norte de la Fundición Ventanas. Se determinaron parámetros fisicoquímicos junto con la concentración de metales totales y disponibles por el método de ICP-OES. Del total de 50 bacterias aisladas (medio LB), se seleccionaron 14 cepas, a las que se les determinó la mínima concentración inhibitoria (CMI) y resistencia al Cu(II) y As(V). Su caracterización bioquímica y molecular se hicieron mediante API 20NE (Biomerieux), test Biolog® GN2/GP2 microplacas™ y amplificación del gen ARNr 16S respectivamente. Los resultados mostraron elevadas concentraciones de cobre, zinc, arsénico y plomo en todas las muestras de suelo, superando la norma EPA; aunque los valores de cobre disponible fueron bajos a lo esperado, debido a la presencia de materia orgánica, variación del pH y baja salinidad, a pesar de su textura franco-arenosa.. De las 14 cepas analizadas, 11 mostraron ser resistentes a concentraciones mayores 100 ppm de cobre, y tres cepas resistentes a cobre con un C.M.I de 200, 250 y 275 ppm; para el arsénico, 6 cepas presentaron tolerancia a concentraciones hasta 0.4 M. La identificación filogenética dio como resultado los géneros *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Pedobacter*, *Stenotrophomonas*, *Microbacterium*; todas conocidos por poseer especies resistentes a metales. Dadas sus características morfológicas y bioquímicas las cepas corresponden a diferentes especies. Estas cepas que se han adaptado al stress ambiental pueden ser potenciales herramientas para futuras investigaciones en bioremediación.

Financiamiento: CIGREN, UV/ Fondecyt 11080235

## Efecto antagonista de compuestos volátiles del hongo *Trichoderma harzianum* sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

### Effect of volatile compounds antagonistic fungus *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* phytopathogenic fungus.

**Castro, Jorge**<sup>1</sup>, Carrasco, Jorge<sup>1</sup>, France, Andrés<sup>1</sup>, Ceballos, Ricardo<sup>2</sup>, Fernández, Natalí<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos INIA. <sup>2</sup>Centro Tecnológico de Control Biológico INIA.

En la actualidad el control de *Botrytis cinerea* en postcosecha es todo un desafío, como efecto de una resistencia adquirida y crecientes restricciones a los fungicidas convencionales. Es por esto que el biocontrol surge como una posible alternativa para manejar este microorganismo, pero sin los problemas que causan los productos de síntesis química. Uno de los biocontroladores empleados en la actualidad y reportado en literatura como controlador de hongos fitopatógenos, es el hongo *Trichoderma* spp. Este hongo está representado por varias especies dentro de la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos (CChRGM), entre las que destaca la especie *Trichoderma harzianum*. Esta especie fue utilizada como modelo de estudio, evaluando su capacidad antagonista sobre *Botrytis cinerea*, en base a la producción de metabolitos secundarios volátiles y con efecto inhibitorio en el crecimiento de hongos. Para este estudio se emplearon 12 cepas de *T. harzianum*, a las cuales se les analizó su capacidad de inhibir el crecimiento de *B. cinerea* a través de ensayos de confrontación directa e indirecta. Finalmente se seleccionaron las dos cepas de *Trichoderma* que presentaron la mayor inhibición sobre *B. cinerea*, para la realización de un análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos volátiles con actividad antifúngica. Los compuestos seleccionados fueron 6-pentil-alfa-pirona, ácido isobutírico, 1,8-cineol y 2-metil-1-butanol, los cuales fueron medidos mediante la técnica de microextracción en fase sólida HS-SPME-GC-MS. En este estudio se estableció que estas cepas de *Trichoderma* son capaces de inhibir el desarrollo de *Botrytis cinerea* en más de un 40% como efecto de los compuestos volátiles producidos.

Cepas de *Trichodermas* chilenas pueden ser una importante fuente de compuestos que contribuyan al control de uno de los patógenos más ubicuos en nuestro territorio como es *Botrytis cinerea*.

Subsecretaría de Agricultura, Proyecto: "Centro de Recursos Biológicos Públicos de acuerdo a estándares internacionales"

## Efecto de la disponibilidad de oxígeno sobre la expresión de genes involucrados en la biosíntesis de lipopolisacárido en *Salmonella enterica* serovar Enteritidis.

### Oxygen-dependent expression of genes involved in the biosynthesis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis lipopolisaccharide.

Silva, CA<sup>1</sup>., Velásquez, F<sup>1</sup>., Contreras, I<sup>1</sup>., Santiviago, CA<sup>1</sup>., Álvarez, SA<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad De Chile.

*Salmonella* Enteritidis es un patógeno de aves, roedores y humanos, capaz de colonizar sistémicamente aves y ratones, mientras que en humanos provoca un cuadro de gastroenteritis autolimitante. Durante el proceso de infección, *Salmonella* es expuesta a diversas condiciones ambientales, entre ellas, baja disponibilidad de oxígeno. El lipopolisacárido (LPS), un componente estructural de la membrana externa en bacterias Gram negativo, es también un importante factor de virulencia de esta bacteria. Esta molécula está constituida por el lípido A, el oligosacárido core y el antígeno O (AgO). Estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado una regulación oxígeno dependiente de la distribución bimodal de largos de cadena del OAg, modulado por los reguladores de largo de cadena Wzz y Wzz<sub>fepe'</sub> en la cual participarían los reguladores globales ArcA y Fnr. En este trabajo se determinó a nivel transcriptómico, mediante hibridaciones en microarrays y RT-qPCR, los cambios en los niveles de mRNA de los genes involucrados en la biosíntesis de LPS de este patógeno en respuesta a la disponibilidad de oxígeno. Se identificaron variaciones en la abundancia relativa de los niveles de transcrito de diversos genes involucrados tanto en la biosíntesis del antígeno O (*rfaL*), como en las modificaciones del lípido A (*eptA*, *lpxR*, *eptB*, *arnT*, *ddg*). En paralelo, también se estudió la participación de ArcA y Fnr en esta regulación. Los cambios observados en la expresión de genes relacionados con la biosíntesis del antígeno-O y la regulación del largo de cadena de éste, *wzz* y *wzz<sub>fepe'</sub>*, tuvieron una directa correlación con la modulación de la distribución de largos de cadena de este polímero en respuesta al oxígeno.

Financiamiento FONDECYT 1130225.

## The identification of novel *Neisseria* antigens for next generation vaccines.

Christodoulides, M<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Molecular Microbiology, Medicine, University of Southampton.

**Introduction** *Neisseria meningitidis* (meningococcus) is a major causative organism of meningitis and sepsis and *Neisseria gonorrhoeae* (gonococcus) is the causative organism of the sexually transmitted disease gonorrhoea. Infections caused by meningococci are vaccine-preventable, whereas gonococcal vaccine research has languished for decades and the correlates of protection are largely unknown. Complementary 'omic' platforms have been developed to interrogate *Neisseria* genomes and gene products and herein, we present an overview of *Neisseria* proteomics and the catalogue of potential vaccine antigens generated for functional and biological studies. **Experimental procedures** Proteome maps were produced for outer membrane (OM) and detergent-extracted OM vesicles (OMV) from wild-type *N.meningitidis* strain MC58 and an OM from a LOS-deficient MC58 variant. Samples were separated by 1D SDS-PAGE, excised bands were trypsin-digested and peptide/protein spectra collected with GeLC-MS/MS. For immuno-proteomics, OM were separated on 2D gels and probed with human sera collected from individuals i) with meningococcal infection, ii) colonised by meningococci and iii) vaccinated with experimental LOS-detoxified OMV vaccines. Proteins spots correlating with immuno-reactivity spots were identified and excised and peptide spectra collected by MS/MS. Proteins were identified by searching against the protein translation of the MC58 genome and the NCBI non-redundant database. Immuno-reactivity was correlated with generation of serum bactericidal activity (SBA), the accepted correlate of human protection. **Results** 1. In MC58 wild-type OM proteomes, a total of 236 non-redundant proteins were identified, but only 15 were predicted by PSORT-B to be OM-located. For the OMV preparation, 233 non-redundant proteins were identified, but an additional 8 OM proteins were present in the OMV that were absent in the OM. LOS-deficient OM contained 292 non-redundant proteins and the majority of the additional proteins were cytoplasmic in origin, with 26 proteins identified as OM-located, with known and untested vaccine candidates in abundance. 2. Immuno-proteomics with sera from colonised and infected individuals identified 43 proteins potentially associated with SBA development, whereas 24 proteins were identified with vaccinee sera. Several novel proteins with putative locations other than the OM were revealed as surface-exposed antigens. **Conclusions** Proteomics techniques have dissected the meningococcal OM and identified a panel of novel proteins whose expression is correlated with the development of human natural immunity to *Neisseria* colonisation, infection and vaccination. These include OM porins, surface-exposed adhesins, iron-regulated proteins, ABC transporter proteins, chaperonins, exported enzymes and virulence factors. In pre-clinical studies, several of these antigens are capable of inducing SBA and represent candidate antigens for next-generation *Neisseria* vaccines.

This work was supported by Meningitis UK and the University of Southampton Development Fund.

## Inducción de la expresión de IgT en intestino de trucha arco iris (*Onchoryncus mykiss*) desafiadas con *Piscirickettsia salmonis*.

### Induction of expression of IgT in rainbow trout intestine (*Onchoryncus mykiss*) challenged with *Piscirickettsia salmonis*.

**Nualart, Daniela**<sup>1,3</sup>, Pontigo, Juan Pablo<sup>1,3</sup>, Calquin, Paulina<sup>1,3</sup>, Troncoso, Jose Miguel<sup>2</sup>, Gonzalez, Javier<sup>2</sup>, Yañez, Alejandro<sup>1,3</sup>,- Figueroa, Jaime<sup>1,3</sup>, <sup>1</sup>Bioquímica y microbiología, Laboratorio de Metabolismo y Biotecnología Acuática Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral De Chile. <sup>2</sup>Ewos innovation Ewos innovation. <sup>3</sup>Interdisciplinary Center for Aquaculture Research- INCAR FONDAP-INCAR . (Patrocinado por Jaime Eugenio Figueroa Valverde)

La piscirickettsiosis (SPS), causada por el agente *Piscirickettsia salmonis*, es una de las enfermedades bacterianas que mayor impacto genera en el sistema productivo de salmónidos en Chile. Recientemente, se ha descrito un nuevo tipo de inmunoglobulina Tau (IgT) en los peces teleósteos, principalmente en la trucha arco iris, que se expresa en las branquias, riñón anterior, bazo y mucosa intestinal en los peces que han sido inoculados con parásitos y bacterias intestinales. Esta inmunoglobulina T tiene una función similar a la descrita en los mamíferos IgA, cuya función es defender al organismo contra varios patógenos que atraviesan las defensas de barrera de los peces e impiden el establecimiento de las membranas mucosas e intestinales. Sin embargo, no hay estudios sobre el efecto que tiene el patógeno intracelular facultativo de *Piscirickettsia salmonis* sobre la expresión de IgT en tejidos de trucha arco iris. El uso de PCR convencional y tiempo real mediante el diseño de primers específicos nos ha permitido demostrar la expresión diferencial de esta inmunoglobulina en diversos tejidos y tiempos de desafíos. Se observó un aumento significativo de la expresión de esta inmunoglobulina en bazo y riñón en pez desafiado en tiempos cortos (14-21 días) y en el caso de intestino la inducción de esta fue más tardía (35 días). Por otro lado, se determinó la expresión de IgM detectándose un patrón de expresión diferencial similar al observado para IgT. La presencia IgT en el intestino de peces desafiados en contra de esta bacteria, sugiere que este órgano tiene un importante función en la respuesta inmune adaptativa de salmónidos que le permite defenderse de la infección con *P. salmonis*.

Innova 11IDL2-10523, EWOS *innovation*.FONDAP-INCAR 15110027.

## La auxotrofia a cisteína define el serovar Typhi de *Salmonella enterica*.

### Cysteine auxotrophy defines *Salmonella enterica* serovar Typhi.

Hidalgo, Alejandro. A<sup>2</sup>, Valenzuela, L. Matias<sup>1</sup>, **Villagra, Nicolas. A<sup>2</sup>**, Mora, Guido. C<sup>2</sup>,<sup>1</sup>Microbiología, Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello.<sup>2</sup>Microbiología, Medicina, Universidad Andrés Bello. (Patrocinado por Guido C Mora).

La obtención de nutrientes es un paso clave para la supervivencia de las bacterias dentro de su hospedero, situación que impacta tanto la proliferación como su virulencia. El microambiente citoplasmático es considerado un medio pobre en nutrientes, además el hospedero ha generado mecanismos de defensa para restringir el acceso de la bacteria a los nutrientes. A pesar de todo esto, los patógenos intracelulares han generado mecanismos para acumular nutrientes en la célula eucarionte. Llama la atención el caso de la cisteína, un aminoácido para el cual varias bacterias que tienen en común ser parásito intracelular, también son auxótrofas para cisteína. Más interesante aun, la cisteína es el aminoácido más limitante en eucariontes. La auxotrofia a cisteína es una característica de las cepas estándar de *S. Typhi* que usamos en nuestro laboratorio (Ty2 y STH2370). En este estudio examinamos la auxotrofia a cisteína en distintos serovares de *Salmonella* ya que esta es una característica que ha sido ignorada hasta el día de hoy. Para averiguar el requerimiento de cisteína dentro de *Salmonella entérica*, 48 cepas contenidas en la colección de referencia para *Salmonella* SARB fueron probadas por su capacidad para crecer en medio mínimo M9 en la presencia o ausencia de cisteína. De todas las cepas probadas que incluyen tanto serovares generalistas, de hospedero restringido, serovares típicos y no típicos todas fueron protótrofas para cisteína. En paralelo, se estudio la capacidad de *S. Typhi* para crecer en medio mínimo M9 en la presencia o ausencia de cisteína. Se encontró que todas las cepas de *S. Typhi* incluyendo cepas estándar y las cepas incluidas en una colección de aislados clínicos que corresponde a distintos brotes de fiebre tifoidea son auxótrofas para cisteína. Concluimos que la auxotrofia a cisteína es una característica única y que distingue al serovar Typhi.

Proyecto FONDECYT 3130523

Proyecto FONDECYT 1110120



## Identificación del clúster de biosíntesis del ácido micofenólico en el hongo *Penicillium roqueforti* y caracterización funcional de uno de sus genes.

### Identification of the putative cluster for the biosynthesis of mycophenolic acid in the fungus *Penicillium roqueforti* and functional characterization of one of their genes.

**Del-Cid, A<sup>1</sup>.**, Castillo, E<sup>1</sup>., Vaca, I<sup>2</sup>., Gil-Durán, C<sup>1</sup>., Chávez, R<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.<sup>2</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

*Penicillium roqueforti* es un hongo importante utilizado en la producción de quesos azules. Estudios previos han demostrado que este organismo es productor de varios metabolitos secundarios, entre ellos el ácido micofenólico, un meroterpenoide con actividad inmunosupresora de gran interés farmacéutico. Sin embargo, hasta ahora no se han descrito ni caracterizado los genes involucrados en la síntesis de este metabolito en *P. roqueforti*. En otros organismos como *P. brevicompactum*, se ha descrito que la biosíntesis de ácido micofenólico se produce por un grupo de actividades enzimáticas codificadas en un cluster que consta de siete genes (denominados *mpaA-mpaH*) de los cuales se han caracterizado *mpaC* (una poliketido sintasa), *mpaF* (inosina monofosfato deshidrogenasa) y *mpaDE* (una enzima de fusión natural entre citocromo P450 y una hidrolasa). En este trabajo, y utilizando herramientas bioinformáticas, hemos analizado el genoma de *P. roqueforti* y hemos logrado anotar una región genómica que correspondería al cluster hipotético de biosíntesis de ácido micofenólico en este hongo. Para demostrar la funcionalidad de este clúster, se seleccionó el gen *mpaDE*, cuya expresión fue atenuada mediante el uso de RNA de interferencia. Para ello, *P. roqueforti* fue transformado con una construcción genética apropiada, y se seleccionaron varios hongos transformantes que, mediante la técnica de análisis por RT-PCR, mostraron casi total ausencia del transcrito de *mpaDE*. Finalmente, extractos de estos transformantes fueron analizados por HPLC. A diferencia de la cepa nativa que produce altos niveles de ácido micofenólico, los transformantes de expresión atenuada mostraron niveles apenas detectables de este metabolito. Estos resultados indican que la región anotada correspondería al clúster de biosíntesis para el ácido micofenólico en *P. roqueforti*.

Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT 1120833 y DICYT-USACH

## Identificación *in silico* de RNAs no codificantes en el genoma del crenarqueón *Sulfolobus acidocaldarius*: búsqueda basada en estructura secundaria de RNAs

### *In silico* identification of non-coding RNAs in the crenarchaea *Sulfolobus acidocaldarius* genome: an RNA secondary structure-based approach

**Aliaga-Tobar, Victor<sup>1</sup>**, Arias, Raúl<sup>1</sup>, Maracaja-Coutinho, Vinicius<sup>1</sup>, Orell, Alvaro<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor. (Patrocinado por Alvaro Orell Ruiz).

Non-coding RNA (ncRNA) refers to RNA molecules that do not encode proteins. The functions of ncRNAs are diverse and associated to important biological tasks. For instance, in eukaryotes small nuclear RNAs (snRNAs) are required for splicing, while microRNAs (miRNAs) are involved in gene expression regulation. In bacteria small regulatory ncRNAs range in size from about 50 to 500 nucleotides and are often required in stress response. In contrast, ncRNAs identification is rather scarce for members from *Archaea*. In this regard, most studies have focused on determining a large number of small RNAs (sRNAs), though other types of ncRNAs, as long non-coding RNAs (lncRNAs) have not been considered. Here, we have performed an exhaustive *in silico* prediction of ncRNAs molecules in the genome sequence of the crenarchaea *Sulfolobus acidocaldarius*. By using our in-house "structRNAfinder" bioinformatic tool, which is based in covariance models to analyze ncRNAs secondary structure conservation, we were able to identify 137 ncRNAs present in *Sulfolobus acidocaldarius* genome, thereof excluding stable ncRNAs (tRNA and rRNA). Consequently, out of the 99 previously annotated ncRNAs we extended to 38 newly predicted molecules. In general, 71 RNA molecules correspond to sRNAs, 27 to CRISPR system associated-RNAs, 18 to transfer-messenger RNAs (tmRNAs), 4 to miRNAs, 4 to lncRNAs and 10 unclassified ncRNAs. Moreover, we found 26 ncRNAs with an antisense orientation that matched annotated protein-coding ORFs, 20 of them were not hitherto predicted as ncRNAs. Because antisense-ncRNAs might act regulating gene expression we are currently i) extending our ncRNAs identification within RNA-seq transcriptomic dataset, as well as ii) performing *in vivo* functional studies so as to evaluate their contribution in *S. acidocaldarius* physiology.

Financiado por FONDECYT INICIACIÓN N° 11130229

Beca Doctorado Universidad Mayor

## **Análisis estructural y funcional de un gen que codifica para una hipotética proteína híbrida PKS-NRPS de *Penicillium roqueforti*.**

### **Structural and functional analysis of a gene encoding for a hypothetical hybrid PKS-NRPS protein from *Penicillium roqueforti*.**

**Henriquez, M<sup>1</sup>.**, Chávez, R<sup>2</sup>., Gil-Durán, C<sup>2</sup>., Vaca, I<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

A pesar de su importancia biotecnológica, el hongo *Penicillium roqueforti* ha sido muy poco estudiado. En nuestro laboratorio contamos con una cepa de este hongo que contiene una GTPasa mutada que altera la producción de metabolitos secundarios en el hongo. Estudios previos indican que esta cepa expresa diferencialmente un cDNA que codifica para una enzima híbrido policétido sintasa - sintetasa de péptido no ribosomal (PKS-NRPS) que no ha sido previamente caracterizada. En este trabajo, mostramos los avances en la caracterización de este gen. El análisis del genoma de *P. roqueforti* permitió asociar este cDNA a un ORF de 11,8 kb que codifica para una enzima de 3.937 aminoácidos. Mediante análisis bioinformáticos se estableció que la proteína deducida presenta una estructura típica de las enzimas PKS-NRPS, con dominios  $\beta$ -cetosintasa, aciltransferasa, deshidrogenasa, metiltransferasa, cetoreductasa, de condensación, adenilación, y tiolación. Por otro lado, el análisis del entorno genético del gen de esta PKS-NRPS muestra la presencia de otros 5 genes flanqueantes que podrían formar un hipotético cluster génico. Finalmente, para iniciar la caracterización funcional de este gen, se utilizó la tecnología de RNA de interferencia. Para ello, se transformó *P. roqueforti* con una construcción apropiada y la atenuación del gen se evaluó mediante RT-PCR, obteniéndose 4 transformantes atenuados. Al analizar los perfiles de metabolitos secundarios mediante HPLC, se observaron tres picos cromatográficos que están presentes en la cepa nativa pero ausentes en los perfiles de los transformantes. El análisis de los espectros de absorción UV de estos picos mostró que son similares, con un máximo a 258 nm, lo que sugiere que corresponderían a posibles intermediarios de la ruta biosintética. Adicionalmente, y de forma sorprendente, se observó una disminución en la producción de otros metabolitos conocidos de *P. roqueforti*. Este último resultado confirma la hipótesis de "cross-talk" entre vías de metabolitos secundarios en este hongo

Este trabajo fue financiado por el proyecto FONDECYT 1120833 y DICYT-USACH

El estudio de postgrado es financiado por Conicyt: CONICYT-PCHA/Magíster Nacional/2013-N° 22131659

## Bioaugmentation of hydrocarbon-polluted soils and its effect on microbial communities

**Fuentes, Sebastián**<sup>1</sup>, Caporaso, Gregory J.<sup>2</sup>, Seeger, Michael<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Química Universidad Técnica Federico Santa María. <sup>2</sup>Department of Biological Science Northern Arizona University, Flagstaff AZ, USA.

Petroleum hydrocarbon pollution of soils is a worldwide problem. In this study, more than eighty bacterial strains isolated from historically hydrocarbon-polluted soils located at Valparaíso region were tested for bioaugmentation assays. Four strains were selected due to their ability to use different alkanes (*n*-octane, *n*-hexadecane, cyclohexane) and PAH (naphthalene, fluorene, phenanthrene, anthracene) as carbon sources: *Pseudomonas* sp. strains DN34 and DN36, and *Acinetobacter* sp. strains AF53 and AA64. Bacterial enrichments were obtained by successive subcultures in diesel. The four isolates (as a consortium) and the enrichments were inoculated in diesel-polluted soils. Soil microcosms spiked with 30,000 mg kg<sup>-1</sup> diesel were monitored during 12 weeks. After eight weeks, soils were spiked again with diesel to assess the response of communities to a second pollution event. Degradation of diesel was quantified by GC-FID. Community dynamics was followed by Illumina sequencing of the 16S rRNA gene. Degradation of diesel components in microcosms inoculated with bacterial isolates or enrichments was higher (37%) than in non-bioaugmented control (18%) after eight weeks. Major effects on community were due to diesel pollution, with minimal effects due to bioaugmentation. A bloom of  $\gamma$ -*Proteobacteria*, specifically *Moraxellaceae* family, was observed. The bloom was the response of a unique OTU related with the *Alkanindiges* genus. This OTU was present in <1% in the original community and reached to >60% of the total community after six weeks. Inoculated strains were maintained in soil at 5-10% of the community until the 12th week. This indicates that despite the *Alkanindiges*-related bloom, maintenance of inoculated strains could explain the differences in degradation rates. The isolates and enrichments enhanced degradation in diesel-polluted soil without significant effect on native microbial community. Further experiments will be performed to scale-up the application of these strains for bioaugmentation of hydrocarbon-polluted soils.

CONICYT PhD and Fulbright fellowships, CONICYT-AT24100177, USM (131109, 131342), FONDECYT 1110992, and CN&SB grants, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Universidad Técnica Federico Santa María.

## Inhibición de sustancias poliméricas extracelulares secretadas por *Nitzschia sp.*

### Inhibition of extracellular polymeric substances secreted by *Nitzschia sp.*

**Infante, C**<sup>1,5</sup>, Castillo, Francisca<sup>2</sup>, Pérez, Vilma<sup>4</sup>, Hengst, Martha<sup>3,4,1</sup>, Riquelme, Carlos E.<sup>5</sup>, <sup>1</sup>Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta. <sup>2</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana, Centro de Bioinnovación, Instituto Antofagasta, Universidad De Antofagasta. <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>4</sup>Laboratorio de Complejidad Bacteriana y Ecología Funcional, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>5</sup>Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. (Patrocinado por Martha Hengst)

Una biopelícula se forma como resultado del asentamiento irreversible de células plantónicas en una superficie adecuada para su crecimiento. Durante la adhesión primaria, las diatomeas secretan una sustancia adhesiva compuesta de un complejo de sustancias poliméricas extracelulares (o EPS, extracellular polymeric substances) que les permitirá re-orientarse en la superficie colonizada, constituyendo la señal para la secreción de otros EPS necesarios para el proceso de adhesión secundaria donde grandes cantidades de EPS conforman una matriz estable y definitiva. Esta disposición le proporciona a los microorganismos mayor protección frente a predadores, a toxinas y a cambios ambientales. Además, la matriz polimérica de EPS facilita la captura de los nutrientes, energía y carbono provista por el ambiente y por otros microorganismos que forman parte de la biopelícula. La formación de estas biopelículas corresponde a la etapa primaria de un fenómeno denominado "Biofouling".

*Nitzschia sp.* Es una diatomea bentónica formadora de biopelículas. Se ha descrito que la bacteria *Alteromonas sp.* Ni1-LEM secreta compuestos bioactivos capaces de inhibir la adherencia de diatomeas pertenecientes al género *Nitzschia*, lo que sugiere que es un candidato adecuado para el control del biofouling. Sin embargo, no se conoce el efecto de estos compuestos bioactivos sobre los EPS producidos por las diatomeas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del compuesto bioactivo bacteriano sobre la secreción de EPS. En este trabajo se determinó la concentración de EPS totales secretados por *Nitzschia sp.* La diatomea fue cultivada en medio f/2, a 20°C, con intensidad lumínica constante de 100 lux por 10 días. Se cuantificó la concentración de EPS secretados por la microalga a través del método de Dubois y se determinó el efecto del compuesto antifouling sobre la adherencia de la microalga y secreción de EPS a diferentes concentraciones (25, 50 y 100 µg ml<sup>-1</sup>) del compuesto bioactivo producido por *Alteromonas sp.* Hasta ahora los resultados indican que existe alteración en la secreción de EPS microalgales, afectando su adherencia sobre sustratos y la composición de la comunidad de bacterias epífitas de la microalga. Esto permitirá proponer posibles mecanismos para el control de la formación de la biopelícula microalgal sobre sustratos sumergidos en ambientes acuáticos, alternativos a los utilizados actualmente.

Proyecto PAI 7813110019-CONICYT

## Caracterización de las comunidades bacterianas del intestino de la mosca del mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.) bajo cría masiva

### Characterization of bacterial communities in the gut of mass-reared Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Wied.)

**Núñez, Mauricio**<sup>2</sup>, Rojas, Constanza <sup>2</sup>, Donoso, Hernán <sup>1</sup>, Yáñez, Carolina<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Centro de Producción de Insectos Estériles Servicio Agrícola y Ganadero, Región Arica y Parinacota. <sup>2</sup>Instituto de Biología, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. (Patrocinado por Carolina Yáñez Prieto)

La mosca del mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedmann) es una de las plagas que más daño económico ocasiona en las áreas frutícolas del mundo. Un programa de cría masiva del insecto junto con el uso de la técnica del insecto estéril fueron claves para el éxito en la erradicación de las poblaciones de la mosca del mediterráneo en Chile, declarándolo un país libre de esta mosca en 1995. Pese a ello, los insectos estériles posterior a la irradiación tienen baja tasa de sobrevivencia comparado con los individuos fértiles, lo que aumenta los costos de producción. Los objetivos de este estudio fueron identificar y caracterizar la microbiota intestinal de *C. capitata* en sus diferentes etapas de desarrollo y comparar las comunidades bacterianas de individuos fértiles y estériles en condiciones de cría masiva mantenidos en las instalaciones CPIE en Arica, Chile. Para ello se utilizaron técnicas independientes de cultivo (análisis del gen 16S rRNA de la comunidad bacteriana total de intestino por medio de DGGE) y dependientes de cultivo (aislamiento e identificación de bacterias). Los resultados muestran que la estructura de las comunidades bacterianas cambian durante el desarrollo de *C. capitata*. Miembros de la familia Enterobacteriaceae constituyen las poblaciones dominantes. Además, la radiación induce cambios en la composición de la microbiota intestinal, evidenciado por diferencias encontradas entre los individuos fértiles versus los estériles. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que las comunidades bacterianas en el intestino *C. capitata* son dinámicas entre sus etapas de desarrollo. Se observa la desaparición de algunos grupos bacterianos luego de la radiación, siendo esto una posible respuesta a la baja sobrevivencia de los adultos estériles.

FAO-IAEA Coordinated Research Project "Use of symbiotic bacteria to reduce mass-rearing costs and increase mating success in selected fruit pests in support of SIT application" Project N° 17158/R0; Proyecto DI Asociativo Iniciación 037.374/2014.

## **Análisis de la diversidad, riqueza y resistencia a cobre de la población bacteriana nativa de rizósfera y suelos contaminados con este metal**

### **Analysis of the diversity, richness and copper resistance in native bacterial populations from metal-contaminated rhizosphere and soils**

**Rojas, Constanza**<sup>1</sup>, Neaman, Alexander<sup>2</sup>, Yáñez, Carolina<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Biología, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>2</sup>Área de Medioambiente, Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso.

Las comunidades bacterianas del suelo y rizósfera son fundamentales para la mantención de la fertilidad y salud de las plantas. Cuando el ecosistema se ve afectado por contaminación, estas comunidades reaccionan cambiando su estructura, diversidad y resistencia a los compuestos tóxicos. Los suelos del valle de Puchuncaví presentan una elevada concentración de cobre, escasa cobertura vegetal y bajo pH, debido a las emisiones de la fundición de cobre Ventanas. Por ello, se realizaron enmiendas con cal y/o compost en estos suelos, favoreciendo la recuperación de los suelos y revegetación espontánea. Sin embargo, se desconoce el efecto de las enmiendas aplicadas sobre las comunidades bacterianas. El objetivo de este trabajo fue analizar la diversidad y riqueza de las comunidades bacterianas de suelo y rizósfera de *Eschscholzia californica* mediante el análisis del ADN metagenómico, un año después de realizadas estas enmiendas. Para ello se analizó del gen 16S rRNA por medio de DGGE y T-RFLP (análisis de comunidades totales) y el gen *copA* por medio de RFLP (análisis de comunidades resistentes). Los análisis por medio de DGGE y T-RFLP muestran que las comunidades bacterianas cambian su estructura, aumentando su riqueza y diversidad. Estos cambios difieren entre las comunidades bacterianas de suelo y de rizósfera, lo cual se explica por la intensa actividad biológica en la raíz. Los análisis por RFLP muestran que las enmiendas también generaron cambios a nivel de las comunidades resistentes a Cu. Finalmente, sólo en el caso de los análisis de comunidades bacterianas de rizósfera (totales y resistentes) se observó concordancia con los cambios en su estructura, lo cual tendría relación con el favorecimiento de la THG en la zona rizosférica. Lo anterior sugiere que el mejoramiento de estos suelos favorece el desarrollo de ciertas poblaciones, cambiando la estructura, diversidad y riqueza de las comunidades bacterianas en forma permanente.

Proyecto DI Asociativo Iniciación 037.374/2014; Proyecto DI Iniciación 037.311/2011; Proyectos Fondecyt 1130041 y 1085005.

## Determinación de la capacidad de consumo de los azúcares presentes en el medio de reacción de la síntesis de galactooligosacaridos mediante fermentación selectiva con *Kluyveromyces marxianus*.

### Determination of sugar consumption capacity in the reaction medium of galactooligosaccharides synthesis by *Kluyveromyces marxianus* selective fermentation.

**Guerrero, C<sup>1</sup>**, Vera, Carlos<sup>1</sup>, Novoa, Catalina<sup>1</sup>, Illanes, Andrés<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Escuela de ingeniería Bioquímica, Facultad de ingeniería, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. <sup>2</sup>Escuela de Ingeniería Bioquímica Pontificia Universidad Católica De Valparaíso. La síntesis de galactooligosacaridos (GOS) genera como producto de la reacción, GOS de distintos grados de polimerización, altos niveles de lactosa no reaccionada y monosacáridos (glucosa y galactosa). La purificación de la mezcla reaccionada de la síntesis (GOS crudo), es una etapa clave en su producción industrial, debido a que es la más costosa del proceso. Por ello, surge como alternativa, la purificación de GOS crudo mediante fermentación selectiva con *Kluyveromyces marxianus*, que debería metabolizar tanto lactosa como monosacáridos. Por ello, se propuso determinar la capacidad de consumo de los azúcares presentes en el GOS crudo a distintas temperaturas, determinándose el máximo nivel de remoción que puede ser obtenido para cada azúcar. Los resultados muestran que la levadura tiene la capacidad de crecer en galactosa, glucosa y lactosa como fuentes de carbono y energía a 30 °C, con velocidades específicas de crecimiento ( $\mu$ ) de 0.243, 0.273 y 0.276 h<sup>-1</sup> respectivamente, mientras que al utilizar una mezcla equimolar de glucosa y galactosa, se observa un crecimiento diáuxico con valores de  $\mu$  de 0.388 h<sup>-1</sup> y 0.193 h<sup>-1</sup>. De igual manera, al emplear una mezcla equimolar de galactosa, glucosa y lactosa, se observan dos zonas con  $\mu$  de 0.378 y 0.224 h<sup>-1</sup>. Por último, se evaluó el efecto de la temperatura (30, 40 y 50 °C) sobre el consumo de lactosa y de azúcares en un GOS crudo con 20 % de carbohidratos, obteniéndose incrementos en los valores de  $\mu$  en ambos sustratos evaluados, con respecto a los obtenidos a 30 °C; no obstante, a 50 °C y en lactosa el crecimiento se detuvo luego de cuatro horas de cultivo producto de la inactivación térmica que sufre la levadura, lo que no ocurrió cuando se empleó GOS crudo como sustrato, lo que indica que los componentes de la mezcla reaccionada de la síntesis de GOS ejercen un efecto protector sobre la estabilidad térmica de la levadura. Esto abre la opción de poder realizar simultáneamente la síntesis de GOS (cuya temperatura óptima es de 50 °C) y su purificación por fermentación selectiva.

Agradecimientos: Proyecto financiado por Fondecyt 1130059.



## Formación de amiloides intracelulares de microcina E492 en *Escherichia coli*: Un modelo simple para el estudio de los determinantes que controlan el proceso amiloidogénico.

### Microcin E492 amyloid formation in *Escherichia coli*: A simple model for studying the determinants that control the amyloidogenic process

**Aguilera, P<sup>1</sup>**, Marcoleta, Andrés<sup>1</sup>, Monasterio, Octavio<sup>1</sup>, Lagos, Rosalba<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile.

La formación de fibras amiloides ha sido un fenómeno ampliamente estudiado en el contexto de enfermedades neurodegenerativas en mamíferos. Durante la última década, se han descrito una serie de proteínas que en su forma amiloide cumplen un rol biológico, especialmente en bacterias, mostrando que la amiloidogénesis es un fenómeno transversal. La microcina E492 (MccE492) es un péptido antibacteriano que modula su actividad mediante la formación de fibras amiloides, fenómeno que ha sido estudiado principalmente *in vitro* y que recientemente, hemos descrito *in vivo* como agregados intracelulares. El objetivo del presente trabajo fue utilizar la formación de amiloides intracelulares en *E. coli* como un modelo simple para estudiar el proceso amiloidogénico. Particularmente, esta metodología se usó para identificar regiones en la estructura primaria de la MccE492 que controlan la agregación. Para ello, se diseñaron y sintetizaron mutantes de la proteína con alteraciones en regiones predichas bioinformáticamente como pro-amiloidogénicas. Células de *E. coli* que expresan las distintas mutantes, fueron teñidas con las sondas amiloidofílicas Th-S o BTA-1 y la formación de amiloides intracelulares se cuantificó mediante citometría de flujo. La morfología de las células y la distribución de los agregados se observó mediante microscopía confocal. Con esta metodología, se encontraron 2 mutantes puntuales de la MccE492 con una mayor propensión a formar amiloides *in vivo*. Dichas mutantes fueron purificadas para realizar ensayos de agregación *in vitro*, donde ambas mostraron una cinética de formación de fibras más rápida que la proteína silvestre. Estos resultados indican que existen 2 residuos en una región particular de la MccE492 que regulan la formación de amiloides, evitando así una agregación descontrolada. De este modo, la agregación intracelular en *E. coli* resultó ser un modelo simple que se puede utilizar para evaluar distintos aspectos del proceso amiloidogénico de diversas proteínas.

Financiado por: Proyecto VID UI 12/905-2 (A. Marcoleta), Proyecto FONDECYT 1140430 (R. Lagos) y Beca de Magíster Nacional 2013 CONICYT (P. Aguilera).

## Bacteriófagos como control biológico de patógenos en Acuicultura.

### Bacteriophages as biocontrol of pathogens in aquaculture.

**Echeverría, Alex.**, Morales, Pablo<sup>1</sup>, Saez, Camila<sup>1</sup>, Araya, Rubén<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología de Sedimentos, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta. <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Naturales Alexander Von Humboldt, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad De Antofagasta.

El abuso de los antibióticos en acuicultura ha provocado el aumento de resistencia en bacterias patógenas. Bacterias pertenecientes al género *Vibrio* se encuentran entre los patógenos que más daño causan a cultivos de moluscos, en especial de ostiones, en donde son responsables de una alta mortalidad de larvas. Estas bacterias se encuentran entre las más difíciles de controlar por su alta resistencia y ubicuidad. Por otro lado, el uso de bacteriófagos en el tratamiento de enfermedades causadas por estas bacterias, es una alternativa que ofrece interesantes ventajas, minimizando problemas por contaminación y generación de resistencia. Este trabajo se enfoca en la búsqueda, obtención y aislamiento de bacteriófagos capaces de lisar bacterias del tipo *Vibrio ordalii* y *Vibrio anguillarum* para ser utilizados como control biológico en acuicultura. Los bacteriófagos fueron aislados a partir de mitílidos obtenidos de la zona costera de Antofagasta. El procedimiento de obtención de partículas virales consistió en la homogenización de los tejidos blandos de los moluscos y eliminación de las bacterias nativas presentes. Luego se sembraron placas de doble agar inoculadas con las bacterias patógenas y el extracto para obtener placas de lisis, desde las cuales fueron aislados los bacteriófagos. Los bacteriófagos aislados, fueron observados mediante Microscopía Electrónica de Transmisión, y luego su material genético (DNA) fue extraído, identificado y seleccionados por RFLP para ser enviado a secuenciar. El genoma de los bacteriófagos se encuentra actualmente en vías de ser secuenciados para ser clasificados.

Beca de doctorado CONICYT FIC-R N° 21092008

Proyecto Corfo Línea 2 13IDL2-18530

## La deficiencia en la síntesis de los polifosfatos inorgánicos disminuye la virulencia de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en *Dictyostelium discoideum* y *Danio rerio*

### A deficiency in the synthesis of inorganic polyphosphates attenuates the virulence of *S. Typhimurium* in *Dictyostelium discoideum* and *Danio rerio*

**Varas, Macarena**<sup>1</sup>, Riquelme, Sebastián<sup>2</sup>, Bravo-Toncio, Catalina<sup>1</sup>, Valenzuela, Camila<sup>2</sup>, Allende, Miguel<sup>3</sup>, Santiviago, Carlos<sup>2</sup>, Chávez, Francisco<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Centro FONDAF de Regulación del Genoma, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La deficiencia en la síntesis de los polifosfatos inorgánicos (poliP) afecta procesos fisiológicos asociados con la virulencia bacteriana, como la movilidad, la formación de biopelículas y la respuesta al estrés, entre otros. Particularmente, en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) la delección del gen *ppk1*, que codifica la enzima polifosfato quinasa 1 encargada de la síntesis de los poliP, disminuye significativamente su virulencia en el modelo murino de infección. Sin embargo, la función de los poliP en la virulencia no ha sido claramente establecida. Durante los últimos años han surgido nuevos modelos biológicos simples para el estudio de la virulencia bacteriana. Particularmente, en la ameba *Dictyostelium discoideum* y el pez *Danio rerio* (pez cebra) se pueden utilizar técnicas celulares y moleculares que permiten el monitoreo *in vivo* del proceso infeccioso. En este estudio se generó una cepa mutante  $\Delta ppk1$  de *Salmonella Typhimurium* 14028s (*STm* $\Delta ppk1$ ) mediante el método de recombinación alélica con el fin de determinar si es capaz de infectar *D. discoideum* y *D. rerio*. En el modelo del pez cebra, se desarrollaron ensayos de infección por inmersión estática usando larvas de 6 días post-fecundación provenientes de las líneas TAB5 y *BACmpx::cherry*. Por su parte, en el modelo de la ameba se realizaron ensayos de virulencia y fagocitosis utilizando células axénicas de *D. discoideum* AX4. Nuestros resultados indican que, a diferencia de la cepa silvestre, *STm* $\Delta ppk1$  fue incapaz de sobrevivir intracelularmente en la ameba y permitió su desarrollo social. En *D. rerio*, la cepa silvestre fue capaz de colonizar la zona anterior del intestino; sin embargo, la cepa *STm* $\Delta ppk1$  colonizó pobremente la zona intestinal media o posterior. Podemos concluir que el uso de modelos biológicos simples como *D. discoideum* y *D. rerio* nos permitió desarrollar nuevos ensayos de infección y confirmar el fenotipo de atenuación que presenta la cepa *STm* $\Delta ppk1$  en el modelo murino de infección.

**Financiamiento:** Proyectos FONDECYT 1120209 y 1140754. Becas CONICYT 21120431 y 221320275.

## El mercurio confiere protección cruzada al daño oxidativo generado por telurito en aislados de *Pseudomonas* spp. de la Antártica.

### Mercury confers cross-protection to oxidative damage caused by tellurite in *Pseudomonas* strains isolated from Antártica.

**Rodríguez, Fernanda** <sup>1</sup>, Díaz-Vásquez, Waldo<sup>1,2</sup>, Muñoz, Pablo<sup>1</sup>, Vásquez, Claudio<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Química y Biología, Química y Biología, Universidad De Santiago De Chile. <sup>2</sup>Ciencias Biológicas, Ciencias, Universidad San Sebastián. (Patrocinado por Claudia Paz Saavedra Sánchez).

Los iones mercurio ( $Hg^{+2}$ ) y telurito ( $TeO_3^{-2}$ ) exhiben concentraciones mínimas inhibitorias muy bajas para *Escherichia coli*. Ambos producen daño celular por depleción de tioles, inactivación de enzimas y estrés oxidativo. La resistencia a mercurio está dada principalmente por el operón *mer*, donde se reduce mercurio (II) a mercurio elemental por actividad de la flavoenzima *MerA*. Por otro lado, los mecanismos de detoxificación de telurito serían inespecíficos y estarían principalmente relacionados con su reducción.

La Antártica se caracteriza por estar expuesta a diversos tipos de estrés, como por ejemplo bajas temperaturas y radiación UV, que causan estrés oxidativo. Últimamente se ha evidenciado un aumento drástico de contaminación por metales pesados en ese continente debido al fenómeno de destilación global. El estudio de los mecanismos moleculares de resistencia a mercurio y telurito podrían permitir el diseño de nuevas estrategias de biorremediación de sitios contaminados en ambientes con bajas temperaturas. En este contexto, hemos aislado bacterias psicotolerantes del género *Pseudomonas* desde la Antártica que son resistentes a mercurio y telurito. Interesantemente, estas bacterias sólo exhiben resistencia a telurito en presencia de mercurio y no viceversa. Para demostrar si este fenómeno está asociado a la protección contra estrés oxidativo se cuantificó especies reactivas de oxígeno (ROS), concentración de tioles celulares y se analizó la expresión de genes de respuesta a estrés oxidativo en distintas condiciones. Los resultados mostraron que la presencia de mercurio provoca una disminución de ROS. Además, se observó alteraciones en el nivel de tioles celulares en las distintas condiciones y cambios en la expresión de genes relacionados a la respuesta de estrés oxidativo.

Se concluye que el mercurio gatilla una respuesta relacionada con la tolerancia a estrés oxidativo que confiere resistencia tanto a mercurio como a telurito en los aislados antárticos.

Financiamiento: Fondecyt Regular 1130362 y beca doctoral CONICYT 21120114

**Cultivo de cepas de levaduras de suelo trumao (sometido a dos manejos agronómicos distintos) en melaza: peso seco, parámetros químicos orgánicos e inorgánicos.****Cultivation of yeast strains trumao soil (submitted two different agricultural management) in molasses: dry weight, organic and inorganic chemical parameters.**

**Díaz, P<sup>1</sup>.**, Aranda, Camila<sup>1</sup>., Martínez, Oscar<sup>1</sup>., Godoy, Roberto<sup>2</sup>., Valenzuela, Eduardo<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Bioquímica y Microbiología, Ciencias, Universidad Austral De Chile. <sup>2</sup>Ciencias Ambientales y Evolutivas, Ciencias, Austral de Chile. (Patrocinado por Carola Otth Lagunas).

La melaza es un residuo industrial, que contiene bajas cantidades de azúcares (8%), proteínas totales (2,6%) y fósforo (0.1%), podría ser utilizada como medio de cultivo para hongos y bacterias. La hipótesis planteada es que levaduras aisladas de un mismo suelo trumao sometido a dos manejos agrícolas distintos [pradera permanente (PP) y pradera en rotación (PR)], pueden crecer en melaza y una mayor biomasa, proteínas, fósforo y lípidos totales se determinarían en las levaduras aisladas de PR. Se utilizaron 30 cepas de levaduras aisladas de PP y 30 cepas de levaduras de PR, 100 µl (equivalente a 10<sup>2</sup> ufc de levaduras/mL) de la cepa de levadura a ensayar fueron sembradas por duplicado en matraces que contenían 50 mL de melaza, los matraces se incubaron en un agitador orbital a 20 ± 2 °C; 150 rpm por 5 días. Después de la incubación el contenido de cada matraz se centrifugó a 3500 rpm por 20 minutos, el pellet obtenido fue secado a 70 °C hasta por 48 h y luego pesado en una balanza analítica, obteniéndose el peso seco. A los pellet secos de levaduras se les determinaron el fósforo total por digestión ácida de acuerdo a la metodología revisada por la AOAC (1984), las proteínas totales por colorimetría Biuret y los lípidos totales mediante el método colorimétrico de la sulfo-fosfo vainillina a 520 nm. El mayor peso seco (5.58 g/L) se determinó en la cepa PP2, aislada desde PP. Por su parte, el mayor peso seco promedio (1,71 g/L), fósforo total promedio 0,206 ppm y lípidos totales con un promedio de 28% se determinaron en las levaduras aisladas de PR. Esto se debería a una mejor adaptación metabólica de las levaduras de PR, debido a las constantes rotaciones de cultivos y fertilizaciones que sufre el suelo.

FONDECYT. N° 1141066

## Evaluación de la expresión y organización de genes flagelares en el patógeno no motil *Piscirickettsia salmonis*.

### Evaluating the expression and organization of flagellar genes in the non-motil pathogen *Piscirickettsia salmonis*

**Carril, Gabriela<sup>1</sup>**, Gómez, Fernando<sup>1</sup>, Marshall, Sergio<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica De Valparaíso.

*Piscirickettsia salmonis* es el agente etiológico de la SRS afectando a los salmones cultivados en Chile, sin embargo poco se sabe sobre su biología. En este contexto, al evaluar su genoma en busca de factores de patogenicidad encontramos la presencia de todos los genes flagelares necesarios para desarrollar un flagelo a pesar de estar descrita como una bacteria no motil. El objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión y organización de los principales genes flagelares reguladores y de ensamblaje para la formación de un flagelo en *Piscirickettsia salmonis*. Para esto se realizó una cinética de infección *in vitro* en la línea celular de macrófagos SHK-1, extrayendo el ARN a las 3, 6, 12, 24 y 48 horas post infección, sintetizando luego el ADNc necesario para realizar un ensayo de qRT-PCR para todos los genes evaluados. Además por medio del servidor de anotación RAST y el software CLC se comprobaron los ORFs de cada gen y se organizaron en sus respectivos operones. Como resultado se obtuvo que los genes reguladores de la cascada jerárquica flagelar se expresaron favoreciendo los tiempos tempranos de la infección, y correspondientemente aquellos genes relacionados con el ensamblaje o estructura lo hicieron en los tiempos tardíos, lo que además concuerda con la localización encontrada en sus respectivos operones. Por lo tanto *Piscirickettsia salmonis* expresa todos los genes evaluados implicados en la regulación y formación de flagelo, además su expresión diferencial se ajusta con un consistente efecto polar entre ellos, concordando con otras bacterias Gram negativas cercanas filogenéticamente a pesar de que la estructura de un flagelo jamás ha sido observada. Se deberá continuar investigando para comprender el rol de estos genes en el comportamiento patogénico de la bacteria.

## Caracterización funcional de *GTR1* y *GTR2*, dos genes codificando posibles represores transcripcionales en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

### Functional characterization of *GTR1* and *GTR2* genes coding for two putative transcriptional repressors in the carotenogenic yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous*.

Córdova, P<sup>1</sup>., Bravo, N<sup>1</sup>., Baeza, M<sup>1</sup>., Alcaíno, J<sup>1</sup>., Cifuentes, V<sup>1</sup>., <sup>1</sup>Ciencias ecológicas, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Genética, Universidad de Chile.

*Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura productora de astaxantina, de interés comercial debido a su uso en la industria acuícola y farmacéutica. Actualmente, se conoce la ruta de biosíntesis de astaxantina y la expresión de sus genes. Sin embargo, se desconocen los mecanismos regulatorios del proceso. Diversos estudios demostraron que la presencia de glucosa reprime la carotenogénesis en *X. dendrorhous*. Adicionalmente, el análisis bioinformático de su genoma detectó la existencia de posibles genes involucrados en represión catabólica, entre ellos *MIG1* y otros dos que hemos denominado: *GTR1* y *GTR2*. Se sabe que en levaduras este mecanismo regulatorio es muy importante y se encuentra conservado. Por esto, resulta interesante estudiar el rol de este mecanismo en la carotenogénesis de *X. dendrorhous*. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los genes *GTR1* y *GTR2* de *X. dendrorhous*. Para ello, se obtuvieron cepas mutantes *gtr1* y *gtr2* mediante mutagénesis por reemplazo. El fenotipo de las mutantes fue evaluado midiendo crecimiento, producción de carotenoides y actividad invertasa extracelular (reprimida en glucosa). Adicionalmente, se realizaron ensayos de complementación en cepas de *S. cerevisiae gtr1* y *gtr2*. Así, se logró determinar que ambas mutantes de *X. dendrorhous* muestran una tasa de crecimiento menor que la cepa silvestre. Se observó mayor producción de pigmentos en la cepa *gtr1*, mientras que en la cepa *gtr2* la diferencia es leve. Por otra parte, en la cepa *gtr2* se detectó mayor actividad invertasa en presencia de glucosa que en la cepa silvestre. Los ensayos en *S. cerevisiae*, muestran que los genes homólogos de *X. dendrorhous* complementarían parcialmente dichas mutaciones. Lo anterior permite concluir que los genes *GTR1* y *GTR2* de *X. dendrorhous* son funcionales y estarían involucrados en represión catabólica. El gen *GTR1* estaría mayormente involucrado en la regulación de la carotenogénesis y el gen *GTR2* en procesos metabólicos generales.

Fondecyt 1140504; PC: beca de doctorado CONICYT.

## Vías de RNAi implicadas en la formación de diapausa como respuesta sistémica y transgeneracional de defensa ante patógenos bacterianos.

### RNAi pathways involved in the formation of diapause as systemic and transgenerational defense response to bacterial pathogens.

**Verdugo, Lidia**<sup>1</sup>, Palominos, M. Fernanda<sup>2</sup>, Chavéz, Francisco<sup>2</sup>, Calixto, Andrea<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica y Bioinformática, Biotecnología, Universidad Mayor. <sup>2</sup>Biología, Ciencias, Universidad De Chile.

*Caenorhabditis elegans* entra en diapausa formando la larva dauer como mecanismo de defensa ante los patógenos *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella entérica* serovar Typhimurium (Verdugo et al., en preparación). La entrada en diapausa ocurre en la segunda generación de animales expuestos al patógeno, y está correlacionada con la translocación de DAF-16/FOXO al núcleo, sugiriendo que un mecanismo transgeneracional y heredable media la formación de dauer. Previamente demostramos que algunos efectores de RNA de interferencia (RNAi) como RDE-1 y RDE-4 requeridos para el procesamiento de siRNA primarios, son necesarios para la formación de diapausa en respuesta a patógenos bacterianos. Para comprender mejor los mecanismos y efectores de RNAi involucrados en la formación de diapausa como defensa antibacteriana, analizamos mutantes defectivos de las vías exógena (*sid-2*), sistémica (*sid-1*, *sid-5*, *sid-3*), endógena (*ergo-1* y *alg-2*) endo-exogenas (*sago-1*, *sago-2*) y evaluamos su habilidad de formar dauer en presencia de patógenos. Adicionalmente examinamos mutantes defectivos de la respuesta inmune, que incluyen las lisozimas *lys-1*, *lys-7* y *lys-8* y animales hyper-inmunes *daf-2* que codifica para el receptor de insulina. De los mutantes analizados los defectivos en los transportadores *sid-2*, *sid-1* y *sid-5* forman dauer en patógenos pero los argonautas *ergo-1*, *alg-2*, *sago-1* y *sago-2*, son deficientes en la formación de dauer en presencia de patógenos, al igual que los mutantes inmuno-deficientes. Del mismo modo, los mutantes *daf-2* hiper-resistentes a patógenos, formaron menos dauers que los nemátodos silvestres. Los mutantes "*sid*", que están implicados en el ingreso y transporte de RNAs forman dauers, en cambio mutantes de la vía endógena no forma la larva dauer, lo que indica que la entrada en diapausa por patógenos es un proceso célula-autónomo, dependiente del estado inmunitario del hospedero y desencadenado por RNAs pequeños. Proponemos que la formación de dauer en presencia de patógenos es una respuesta celular y heredable de defensa bacteriana, mediada por RNAs pequeños a través del mecanismo de RNAi.

Financiamiento: Fondecyt 3100099 y 1131038 a AC y 1120209 a FCH



## **Bacterias con susceptibilidad disminuida a los antibióticos y perfiles de resistencia en cepas aisladas de muestras de suelo Antártico con y sin presencia permanente de animales.**

### **Proportion of bacteria with reduced susceptibility to antibiotics and resistance profiles in strains isolated from Antarctic soil samples with and without permanent influence of animals.**

**Cigarroa , Camila**<sup>1</sup>, Cid , Katherine <sup>1</sup>, Gonzalez, Gerardo<sup>1</sup>, Dominguez, Mariana<sup>1</sup>, Vergara, Luis<sup>2</sup>, Bello Toledo, Helia<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Lab. de Investigación en Agentes Antibacterianos, Facultad Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción. <sup>2</sup>Dpto. Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Ciencias, Universidad San Sebastián. (Patrocinado por Helia Bello Toledo).

En el territorio Antártico existe una abundante fauna, la que incluye mamíferos marinos y aves migratorias. Estos animales pueden actuar como vectores biológicos, facilitando la introducción y posterior interacción de bacterias foráneas, que pueden portar amplios perfiles de resistencia, con bacterias nativas presentes en zonas aledañas a sus asentamientos. Por esto, en zonas con influencia animal podría existir una modificación de la dinámica poblacional y de los perfiles de resistencia a antibióticos en las bacterias del suelo. El objetivo de este trabajo fue determinar la proporción de bacterias con susceptibilidad disminuida a los antibióticos en muestras de suelo de zonas con y sin influencia animal en Península Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica, como también los perfiles de susceptibilidad antibiótica de diferentes morfotipos bacterianos aislados en las muestras anteriores. Se realizó recuentos por diseminación en superficie en placas de agar R<sub>2</sub>A con y sin antibióticos que fueron incubadas a 4°C y 15°C. Posteriormente, se seleccionó distintos morfotipos a partir de las placas de recuento, los que fueron caracterizados macro y microscópicamente y se determinó su patrón de resistencia antibiótica por difusión en agar frente a 16 antibióticos. Los recuentos de bacterias totales y con susceptibilidad disminuida a ambas temperaturas fueron significativamente menores en las zonas sin influencia animal en relación a zonas con influencia animal. Por otro lado, los morfotipos aislados desde zonas remotas presentaron un mayor porcentaje de aislados resistentes a los antibióticos y patrones de resistencia más amplios en relación a los aislados provenientes de zonas con influencia animal remotas. Estos resultados sugieren que la presencia de vectores biológicos no promueve la presencia de fenotipos con perfiles de mayor resistencia si no que estos se encontraría de manera natural en suelo proveniente de zonas remotas del territorio Antártico, siendo así un potencial reservorio de mecanismos de resistencia a antibióticos.

Financiamiento entregado por Instituto Antártico Chileno (INACH) (proyectoCódigo: RT\_06-12), así como también, por la Dirección de Postgrado y a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Concepción.

## The Ferric uptake regulator (Fur) and iron levels control microcin E492 post-translational modification

**Marcoleta, Andrés<sup>1</sup>**, Gutiérrez-Cortés, Sergio<sup>1</sup>, Corsini, Gino<sup>2</sup>, Monasterio, Octavio<sup>2</sup>, Lagos, Rosalba<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad De Chile. <sup>2</sup>Biología, Ciencias, Universidad De Chile.

Microcin E492 (MccE492) is an 8-kDa pore-forming bacteriocin secreted by *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Among its outstanding features, it has toxic activity against *Enterobacteriaceae*, cytotoxic effect against some malignant human cell lines, and undergoes amyloid aggregation as a mechanism to regulate its activity. MccE492 is exported as a mixture of two forms: unmodified and post-translationally modified at the C-terminus with a glycosylated derivative of the siderophore enterochelin, a process carried out by the maturation gene products MceC, MceI and MceJ, encoded in the MccE492 gene cluster. This modification is essential for conferring antibacterial activity, since it allows the uptake of the toxin by the catechol receptors FepA, Fiu and Cir, located in the outer membrane of target cells. The siderophore enterochelin is produced as a response to low iron levels and its synthesis is mainly regulated transcriptionally by the global iron regulator Fur. Since the production of active MccE492 depends on enterochelin biosynthesis, both processes should be coordinately regulated. In this work, we investigated the relationship between Fur regulator and the expression of the MccE492 maturation genes *mceCJI*. We demonstrated that *mceJI* are transcribed as a single mRNA, and that Fur binds *in vivo* to an element located in the promoter region of the *mceJI* unit (Fur-box). Using LacZ fusions, we demonstrated that Fur overexpression and increasing amounts of iron lead to a decrease in *mceJI* expression. By contrast, *mceJI* expression was induced upon the addition of the iron chelator 2,2'-Bipyridyl, or in a *Dfur* background. Unexpectedly, despite a putative Fur-box was also identified in the promoter region of *mceC*, no *in vivo* Fur-binding was detected. Accordingly, *mceC* expression levels did not vary upon Fur under/overexpression or after varying iron concentration in the medium. Finally, Fur overexpression in a MccE492 producing background caused a significant reduction in the antibacterial activity.

FONDECYT 1140430

## Investigating the Biochemical Potential of the Iron Oxidizing Betaproteobacterium *Ferrovum* sp. JA12 at the Genomic and Transcriptomic level

Schlömann, M<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Interdisciplinary Ecological Center, TU Bergakademie Freiberg.

The acidophilic iron oxidizing strain *Ferrovum myxofaciens* P3G has recently been described as the first isolate of the novel genus *Ferrovum* among the betaproteobacteria. Close relatives of *F. myxofaciens* P3G have been obtained from a pilot plant for the bioremediation of acid mine drainage. Since we have so far been unable to isolate pure cultures of those strains we have chosen a (comparative) meta-genomics approach for the analysis of their physiological and biochemical characteristics.

*Ferrovum* sp. JA12 obtains the energy for all metabolic processes from the aerobic oxidation of ferrous iron. In contrast to the iron oxidizers *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *A. ferrivorans*, the *Ferrovum* sp. JA12 genome does not contain either the rusticyanin or the iron oxidase encoding genes that are involved respectively in ferrous iron oxidation in these gammaproteobacteria. Although an outer membrane, high molecular weight cytochrome that is proposed to oxidize ferrous iron in *A. ferrooxidans* was predicted in the *Ferrovum* sp. JA12 genome, the actual electron transfer pathways from it to the terminal electron acceptors NAD(P)<sup>+</sup> and to oxygen appear to be differently organized in *Ferrovum* sp. JA12.

The *Ferrovum* sp. JA12 genome contains genes predicted to encoding carboxysome shell proteins and the carbonic anhydrase which are part of the carbon concentrating mechanism involved in CO<sub>2</sub> fixation. In addition, its genome potentially encodes three distinct terminal oxidases including the cytochrome bd complex that is known for its high affinity to molecular oxygen. Besides ammonium, *Ferrovum* sp. JA12 is predicted to use nitrate or nitrite and urea as alternative nitrogen sources. The latter is of special interest, since no similar urease encoding gene cluster has so far been identified in other iron oxidizing bacteria among the beta- and gammaproteobacteria.

The genome sequence is also the basis for the analysis of transcriptome profiles in *Ferrovum* sp. JA12. Currently we are investigating the response of *Ferrovum* sp. JA12 to increasing concentrations of ferrous iron. Using the alternative gene annotation algorithm ORFminer (inhouse software, Center for Bioinformatics and Genome Biology) a number of mobile genetic elements (MGE), such as transposases, integrases, IS elements and phage-associated genes, have been predicted in the genome of *Ferrovum* sp. JA12. This finding is an interesting starting point for a more detailed characterization of these genetic elements as well as for the prediction of MGE in other *Ferrovum* strains in order to investigate the potential relevance of MGE for their genome evolution.

The project was funded by the ESF junior research group GETGEOWEB and additionally supported by FONDECYT 1130683, FONDECYT 3140005, and Basal Program of CONICYT PFB16.

## Metatranscriptómica de comunidades pico- y nanoplanctónicas de zonas mínimas de oxígeno del Pacífico sur-oriental tropical

### Metatranscriptomics of pico- and nanoplanktonic communities in the Eastern Tropical South Pacific Oxygen Minimum Zone

**Gazitúa, M Consuelo**<sup>1</sup>, Rojas, Marcelo<sup>1</sup>, Ugalde, Juan A<sup>1</sup>, Ramírez-Flandes, Salvador<sup>2</sup>, Ulloa, Osvaldo<sup>2</sup>, De La Iglesia, Rodrigo<sup>3</sup>, Von Dassow, Peter<sup>4</sup>, Trefault, Nicole<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Genómica y Bioinformática, Ciencias, Universidad Mayor.<sup>2</sup>Oceanografía, Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad De Concepción.<sup>3</sup>Genética Molecular y Microbiología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile.<sup>4</sup>Ecología, Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica De Chile.

Las zonas mínimas de oxígeno (ZMO) son masas de agua cuyas concentraciones de oxígeno disuelto alcanza niveles menores a 20  $\mu\text{mol kg}^{-1}$ . Bajo estas condiciones se favorecen procesos microbianos anaeróbicos, donde se utilizan aceptores de electrones alternativos al oxígeno, tales como el nitrato. Como consecuencia, la química del océano cambia significativamente, registrándose la pérdida de nitrógeno fijado y la producción de gases invernadero. Para este estudio se tomaron muestras de la ZMO ubicada en la costa del norte de Chile y Perú. Se extrajo el ARN total de las comunidades microbianas presentes a 5, 80 y 200 m de profundidad, representando la zona óxica, la oxiclina y el centro de la ZMO. Se analizaron las fracciones picoplanctónicas (rango de tamaño entre 0,2 y 3 micras) y nanoplanctónicas (entre 3 y 20 micras), separando a su vez entre los transcritos mayoritariamente eucariontes de aquéllos mayoritariamente bacterianos (con y sin poliA). Las genotecas se construyeron con TruSeq RNA a partir de transcritos enriquecidos en ARN mensajero y amplificados in vitro, y posteriormente fueron secuenciadas en la plataforma de secuenciación MiSeq (Illumina). Los transcritos fueron clusterizados al 90% de identidad global usando SPAdes. El total de genes predichos para el metatranscriptoma de eucariontes fue de 272.894, y de 118.740 para el metatranscriptoma bacteriano. Para la anotación de estos genes se usó blastp contra SwissProt, y luego contra NR. Los resultados indican una gran proporción de transcritos asociados a metabolismos generales y diferencias en algunas funciones específicas dependiendo de la profundidad de las muestras. Esto también se revela en los taxa asociados a las transcritos anotados, donde destaca la presencia de organismos fotosintéticos de los géneros *Prochlorococcus* y *Ostreococcus* en la zona fótica, así como la presencia de los géneros *Nitrosopumilus*, *Nitrospina* y SUP05, en el centro de la ZMO.

Proyecto CONICYT-USA 20120014 Signatures of selection in planktonic microbial communities and populations due to changing oceans

## Determinación del ciclo de vida de *Gloeocapsopsis* sp., unacianobacteria unicelular del Desierto de Atacama mediante diferentes aproximaciones técnicas.

### Life cycle determination of the unicelular cyanobacterium *Gloeocapsopsis* sp. isolated from Atacama Desert using different technical approaches.

**Urrejola, Catalina**<sup>1</sup>, Henriquez, Carlos<sup>1</sup>, Salas, Loreto<sup>1</sup>, Von Dassow, Peter<sup>2</sup>, Vicuña, Rafael<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Genética Molecular y Microbiología Pontificia Universidad Católica De Chile. <sup>2</sup>Departamento Ecología Pontificia Universidad Católica De Chile. (Patrocinado por Nicole Trefault).

El objetivo de este trabajo es estudiar el ciclo de vida de un cultivo clonal de la cianobacteria *Gloeocapsopsis* sp. en condiciones controladas en el laboratorio. Recientemente se ha propuesto que esta cianobacteria podría ser un buen modelo para estudiar los mecanismos moleculares asociados a la desecación, razón por la cual es fundamental conocer a cabalidad cómo se reproduce y organiza durante su ciclo de vida.

Se realizaron curvas de crecimiento de *Gloeocapsopsis* sp. en medio BG11 líquido, en condiciones controladas. Se tomaron muestras a diferentes OD<sub>750</sub>. Éstas fueron preparadas para microscopía electrónica de transmisión (TEM) y también para tinción PAS. La composición y características de la población en diferentes tiempos se cuantificaron en triplicado. Además se tomaron muestras frescas para cuantificación mediante FACS, usando un citómetro de alta resolución BD Influx™, con láseres de excitación a 488nm y 640nm y detección en el rango de fluorescencia roja. Para confirmar la correcta definición de las poblaciones celulares obtenidas por TEM, se purificaron mediante *cell sorting* las diferentes poblaciones y se cuantificaron mediante microscopía.

La composición de la población celular de *Gloeocapsopsis* sp. RV varía conforme sus etapas de desarrollo, observándose diferentes agrupaciones celulares en las diferentes estructuras extracelulares jugarían un rol clave en su organización. En condiciones de laboratorio, las células únicas se dividirían sólo por fisión binaria, para luego hacerlo cada una de las células hijas formando la característica tétrada. No se observaron eventos de fisión múltiple.

Para nuestro conocimiento, el presente trabajo es el primero en proponer el ciclo de vida completo de una cianobacteria unicelular que se agrupa en tétradas mediante citometría de flujo y el clásico método de observación por microscopía. Esta cianobacteria se divide por fisión binaria, y su estructura extracelular sería fundamental en la organización de estas células durante los diferentes estados de desarrollo.

BECA GASTOS OPERACIONALES N° 2110394// Fundación Instituto Milenio // Fondecip EQM130267

# Indexo de Autor

**A**

Abello Paula 25  
 Acosta Eduardo 290  
 Acosta Grinok Mauricio 184  
 Acuña Claudio 112  
 Acuña Lillian 163, 229, 238  
 Acuña-hinrichsen Francisca 120  
 Adell María 245  
 Aguayo M.J. 222  
 Aguayo V. Daniel 137, 277  
 Aguilar Pablo 121  
 Aguilera Felipe 153  
 Aguilera P 305  
 Alamos Pamela 228  
 Alarcon Alejandro 91, 220, 253, 276  
 Albers Sonja-Verena 281  
 Albornoz A 185  
 Alcaíno J 119, 311  
 Alcaíno Jennifer 129, 139, 168, 178, 179, 275  
 Alcayaga V 191  
 Alday A 254  
 Aldea Patricia 266  
 Aliaga Victor 298  
 Aliaga-tobar Victor 298  
 Allen Eric E 99  
 Allende Miguel 307  
 Almarza Oscar 92  
 Alvarado Romina 283  
 Alvarez Francisca P. 123, 135  
 Álvarez R 172  
 Álvarez Ricardo 70, 172  
 Álvarez SA 293  
 Álvarez Sergio 124, 174  
 Álvarez Sergio A. 157, 271  
 Alvestegui Alejandra 215  
 Ampuero Sandra 240

Andrade D 165  
 Andrade-madrugal Cristian 217  
 Andrea Calixto 239  
 Andrea Poch 256  
 Arán Pablo 190  
 Arancibia W 147  
 Arancibia Yennifer 98  
 Aranda Begoña 271  
 Aranda Camila 309  
 Aravena Andres 93  
 Aravena M 151  
 Aravena Marta 87  
 Araya Daniela 288  
 Araya G 232  
 Araya J 264  
 Araya Jorge 200, 202, 244  
 Araya Maria Constanza 95, 234  
 Araya Rubén 306  
 Arenas Cristián 281  
 Arenas Felipe 167, 287  
 Argandoña Vargas Yerko 122  
 Arias Angel J. 236  
 Arias Angel. J 140  
 Arias Raúl 298  
 Arredondo Oscar 90  
 Arredondo V. P. 143  
 Arriaza Francisco 204, 243  
 Ávalos Vladimir 203  
 Avello M 201  
 Avendaño Luis 261  
 Avendaño Rubén 227  
 Avendaño-herrera Ruben 282  
 Ávila Bárbara 109, 235  
 Avila Bastian 223

**B**

Báez J 254, 264

Baeza M 119, 311  
 Baeza Marcelo 129, 139, 168, 178, 179, 275  
 Barahona Salvador 168, 179, 275  
 Barahona Sergio 125  
 Barra Patricio 259  
 Barrera A 151  
 Barrera Aldo 87  
 Barrera Andrea 108  
 Barrientos Camila 23  
 Barrientos Leticia 181, 279  
 Bastias R 65, 141  
 Bastías-riveros Paulina 128, 195, 217  
 Becerra J 216  
 Becker Macarena 270  
 Bello Helia 230  
 Bello Toledo Helia 313  
 Beltrametti Fabrizio 136, 192, 231  
 Beltran-pavez Carolina 159  
 Bignon E 176  
 Bijman Jonathan 146  
 Bittner Mauricio 277  
 Blamey J. M. 177  
 Blamey R 75  
 Bohle H 113  
 Bórquez Cecilia 250, 251  
 Bossi L 43  
 Bracamonte C 200  
 Brand A 53  
 Bravo Denisse 144  
 Bravo Jaime 147, 223, 285  
 Bravo Joel 200  
 Bravo N 311  
 Bravo-toncio Catalina 187, 269, 307  
 Briones Alan 105, 238  
 Budnik Isolda 87  
 Bueno S 40  
 Bugeño D 202

Bugeño Isaac 144  
 Bugeño Marco 109, 160  
 Burgos Patricia 120

## C

Cabezas Carolina 238  
 Cabrera G 22  
 Cabrera Gonzalo 23, 24  
 Cáceres C. Joaquín 29  
 Cáceres-collao M 111, 286  
 Calderón C 188  
 Calderón Iván 238  
 Calderon Ivan L 105  
 Calderón Iván L. 70, 172  
 Calderón Paulina 238  
 Calfullán Héctor 178  
 Calixto Andrea 197, 312  
 Calquín P. 198  
 Calquín Paulina 227, 295  
 Cámara Beatriz 136, 192, 231  
 Camejo Pamela 194  
 Camicia Federico 197  
 Camponovo Rosanna 233  
 Campos Daniela 181, 259  
 Caporaso Gregory J 300  
 Cárcamo F. 222  
 Cárcamo Juan Guillermo 161  
 Cárdenas Constanza 115  
 Cárdenas Franco 153, 242  
 Cardenas J 60  
 Carrasco Jorge 292  
 Carrasco M. 222  
 Carrasco Mario 129, 168, 179  
 Carril Gabriela 310  
 Carrillo Ileana 24  
 Carú Margarita 164  
 Caruffo Mario 86



- Carvajal Mauro 95, 234  
 Carvajal R 201  
 Casanova-katny Angélica 131  
 Castillo Andrés 163, 229  
 Castillo Antonio 212  
 Castillo Christian 24  
 Castillo E 297  
 Castillo Francisca 301  
 Castillo Gissela 160  
 Castillo Luis 95, 147, 234, 241  
 Castillo Rocha Doris Guadalupe 220, 276  
 Castilo Antonio 214  
 Castro E. 222  
 Castro Jorge 292  
 Castro Matías 205  
 Castro Miguel 287  
 Catalán Alejandro 202  
 Cautivo Dina 184  
 Ceballos Ricardo 292  
 Céspedes Sandra 114, 288  
 Chamorro Nayaret 288  
 Chang Jennifer C. 116  
 Chávez Francisco 174, 187, 307, 312  
 Chávez Francisco P. 269  
 Chávez R 180, 297, 299  
 Chiquito Contreras Roberto Gregorio 253  
 Christodoulides M 294  
 Christodoulides Myron 123, 135  
 Cid F 181  
 Cid Fernanda 71, 279  
 Cid Hertes 278  
 Cid Katherine 313  
 Cifuentes Ónix 289  
 Cifuentes V 119, 311  
 Cifuentes Victor 102, 129, 139, 168, 178, 179, 275  
 Cigarroa Camila 313  
 Claverías Fernanda 136  
 Cofré J. 222  
 Concha Margarita 120  
 Concha Margarita I. 98, 262  
 Contreras I 293  
 Contreras Inés 104, 157  
 Contreras P. 222  
 Cordero M 93  
 Cordero Ninoska 196  
 Córdova Carolin 278  
 Córdova P 311  
 Cornejo Diego 121  
 Cornejo Fabian 167  
 Cornejo J 82  
 Corsini Gino 314  
 Cortes Andrea 270  
 Cortes J 145  
 Cortés M. 198  
 Cortes William 202  
 Cortéz-san Martìn M 206  
 Cortez-san Martín Marcelo 159, 284  
 Costa Del Río F 251  
 Costa Del Río Fernando 250, 251  
 Cottet Luis 212, 214  
 Cumsille Andres 192
- D**
- Daume Michael 228  
 De La Iglesia Rodrigo 316  
 De La Luz Mora María 71, 259  
 Del Campo R 264  
 Del Canto Felipe 114, 288  
 Del-cid A 297  
 Demergasso Cecilia 146, 184, 246  
 Diaz Angélica 86  
 Díaz Catalina C. 154  
 Diaz Fernando 70, 172  
 Diaz Georgina 272

Díaz Mauricio 94  
Díaz P 309  
Díaz Patricia 160  
Díaz-briceño Álvaro 268  
Díaz-vásquez Waldo 308  
Díez Beatriz 226  
Dominguez Mariana 230  
Dominguez Mariana 313  
Donoso Hernán 302  
Donoso P 291  
Dorador C 158, 162, 193, 264  
Dorador Cristina 121, 125, 133, 134, 145, 190,  
193, 203, 237, 247, 290  
Droguett Daniel 24  
Duaso Juan 24

## E

Echeverría A 246  
Echeverría Alex 306  
Echeverría Valentina 123, 135  
Eissler Yoanna 117  
Encalada Olga 146  
Eric Allen 99  
Escobar A 112  
Escobedo N 254  
Escudero Lorena 146  
Espinoza Carolina 204  
Espinoza Juan Carlos 117  
Espinoza Juan Pablo 287  
Espinoza M 131  
Espinoza Rodrigo 104

## F

Farah Carolina 205  
Farias Ricardo 194  
Faúndez Daniel 182  
Federle Michael J 116

Fernández Natalí 292  
Fernández Paulina 230  
Fernando Costa Del Río 186  
Ferreira L 25  
Ferrera Cerrato Ronald 91  
Ferres M 151  
Ferres Marcela 87  
Figueroa Álvaro 225  
Figueroa J. 198  
Figueroa Jaime 183, 227, 295  
Figueroa Priscilla 24  
Figueroa-bossi Nara 42  
Fischer R 54  
Fita Ignasi 245  
Flores Patricio 90, 155  
Flores Rodrigo 163, 229  
Fortt Jonathan 208  
France Andrés 292  
Franco Elias 272  
Frávega Jorge 70, 172  
Fredes F 80  
Freire J 166  
Fröhlich Álvaro 210  
Fuentes A 197  
Fuentes Danitza 238  
Fuentes J. A. 132, 143  
Fuentes Juan 105  
Fuentes Juan A. 142  
Fuentes Juan. A 140  
Fuentes Sebastián 300  
Fujio Sayaka 86

## G

Gaete Marco 139  
Gaggero A 79  
Gaggero Aldo 240  
Gahona J 254, 264

- Gajardo Matías 280  
 Galanti Norbel 22, 23, 24  
 Galarce Nicolás 160  
 Gallardo C 63  
 Gallardo-cerda Jorge 115  
 Ganga M. A 263  
 Ganga Maria Angelica 255, 260, 265, 272  
 Garcés D 273  
 García A 201  
 García Apolinaria 130, 166, 182, 249  
 García C 160  
 García Camila 109  
 García Francisco 256  
 García Francisco J 209  
 García Katherine 268  
 Garcia Killen 112  
 García V 263  
 Garcia Victor 197  
 García-angulo Víctor A. 239  
 García-bartolomei E 111, 286  
 Garcia-de-gracia Francisco 211  
 García-rico R.O 180  
 Garcia-sastre Adolfo 87  
 Gatica Carolina 261  
 Gazitúa M Consuelo 316  
 Gentina Juan 188  
 Gerding M 278, 280  
 Gil Fernando 70, 105, 172, 238  
 Gil-durán C 180, 297, 299  
 Godoy Liliana 255  
 Godoy Roberto 309  
 Goetz Palfner 131  
 Gómez Claudia 278  
 Gómez Fernando 310  
 Gómez Fernando A. 90, 155, 283  
 Gómez Lillo Gabriela 245  
 González Andrea 25  
 González Carlos 166  
 González Carolina 272  
 Gonzalez Cynthia 228  
 González D 250, 263  
 González Dagianna 186, 251  
 Gonzalez Daniela 149  
 Gonzalez G 74  
 Gonzalez Gerardo 313  
 Gonzalez Javier 295  
 González Josué 204, 243, 248  
 González Katterine 202  
 Gonzalez M 199  
 González María Teresa 138  
 Gonzalez Mendoza Daniel 91  
 González Myriam 136, 192, 231, 242  
 Gonzalez N 78  
 González Solis Rosalba 253  
 González Valentina 136  
 González-aravena Marcelo 115, 175  
 González-bown María José 128, 195, 217  
 González-catrilebún Sebastián 284  
 González-catrilebún Sebastian 128, 217  
 González-cortez Lux 186, 250, 251  
 Gonzalez-pastor J 16  
 González-rocha Gerardo 131, 230  
 Guajardo Sergio 226  
 Guerrero C 304  
 Guerrero K 264  
 Guiliani Nicolas 94, 205  
 Guiñez R 111, 286  
 Gutierrez C 151  
 Gutierrez Catalina 87  
 Gutiérrez Daniela 114, 288  
 Gutiérrez M 273  
 Gutiérrez-cortés Sergio 314  
 Guzmán Leda 188

## H

Halpin Rebecca 87  
 Hardt W 9  
 Haro R. 198  
 Haro Ronie 161, 227  
 Hengst M 111, 158, 162, 193, 224, 286  
 Hengst Martha 138, 145, 191, 193, 237, 301  
 Henríquez Carlos 317  
 Henríquez M 299  
 Henríquez Pablo 249  
 Henríquez Tania 109, 160  
 Henríquez-piskulich Patricia 266  
 Hermosilla Germán 160, 233, 235  
 Hermoso Marcela 288  
 Hernandez Klaudia 237  
 Hernández M. F. 143  
 Hernández-reyes C 33  
 Herrera D 244  
 Herrera Daniel 200, 202  
 Herrera Jimenez Erick 220, 276  
 Herrera N 254  
 Hidalgo Alejandro A. 154, 236  
 Hidalgo Alejandro. A 140, 296  
 Hill Chris 114  
 Hoare Anilei 144  
 Hofer B 18  
 Hofer Bernd 242  
 Hott Melissa 98, 262  
 Huerta J 137  
 Huerta Jaime 277

## I

Ibba M 50  
 Icaza G 162, 193  
 Icaza Gonzalo 190, 193, 203  
 Ilabaca A 130

Illanes A 19  
 Illanes Andrés 304  
 Imarai M 206  
 Imarai Monica 112  
 Infante C 301  
 Infante Claudia 138, 191  
 Inostroza A 105  
 Inostroza Juan Pablo 182, 249  
 Inostroza Nitza 181, 259  
 Isla Adolfo 227  
 Izquierdo Mariana 213, 215

## J

Jaid Saldías 283  
 Jara Daniela 230  
 Jara Matias 173  
 Jerez C 221  
 Jerez Carlos A 148  
 Jeréz Sebastián 238  
 Jimenez Gustavo 156  
 Jiménez Juan Cristóbal 116  
 Jofre E 34  
 Jorquera M 71, 259  
 Jorquera Milko 181, 279

## K

Kalergis A 38  
 Kelly Robert M. 281  
 Kemmerling U 23  
 Kemmerling Ulrike 22, 24  
 Kenney L 44  
 Kermer R 59  
 Kreth Jens 102  
 Kurte L 158, 162  
 Kuznar Juan 117

## L

Labra Álvaro 90  
 Lagos Carlos A. 269  
 Lagos Lorena 71, 279  
 Lagos Monaco Rosalba 122  
 Lagos R 176  
 Lagos Rosalba 171, 232, 305, 314  
 Lagües Yanssuy 95, 234  
 Lamilla Claudio 279  
 Lampidis M 224  
 Landry Dori M 29  
 Lara Alejandro 186, 250  
 Larrañaga Carmen 261  
 Larrondo L 55  
 Lazcano A 8  
 Le Corre N 151  
 Leal G 214  
 Lefimil C 270  
 Lefimil Claudia 102  
 Leiva K 119  
 León M 141  
 León Nelson 205  
 Levican Arturo 282  
 Levicán Gloria 149, 194, 228, 267  
 Leyton Luis 98, 120, 262  
 Leyton Rodrigo 204, 243  
 Li Lingling 281  
 Liempi Ana 24  
 Lillo G 165  
 Lizama Luis 261  
 Lobos G 291  
 Lobos Olga 108  
 Lobos P 176  
 Lopez Mercedes 112  
 Lopez Paulina 86  
 Lopez T 151  
 Lopez Tania 87

Lopez-lastra Marcelo 29, 106  
 Lorca Gustavo 272  
 Lowy Fernando 106  
 Loyola D 263  
 Loyola David 173  
 Lozano C 102  
 Lozano Carla 270  
 Luchsinger Vivian 261  
 Luraschi Roberto 105

## M

Machuca Angela 278  
 Maldonado Stefanie 223, 285  
 Mancilla M 113, 258  
 Mandakovic Dinka 245  
 Maracaja-coutinho Vinicius 266, 298  
 Marchant Francisca 145  
 Marco C 151  
 Marco Claudia 87  
 Marcoleta Andrés 305, 314  
 Mardones F 64  
 Marileo Luis 71, 181  
 Marshall Gonzalez Sergio Hernan 101  
 Marshall Sergio 115, 169, 310  
 Marshall Sergio H. 155, 283  
 Martin Carolina 98, 120, 262  
 Martínez C 255, 263  
 Martínez Claudio 255, 260, 263, 272  
 Martínez José Luis 169  
 Martínez Menéndez José Luis 101  
 Martínez Oscar 309  
 Martínez Rodríguez José Luis 253  
 Martinez-bussenius C 148  
 Maruyama Fumito 71  
 Maturana Daniel 171  
 Maya Juan Diego 24  
 Maza Felipe 93, 196

Medina E 180  
 Medina R 87, 151, 152  
 Medina R. A. 87  
 Mellado J.P. 222  
 Méndez P 176  
 Méndez Valentina 153, 242  
 Mendoza Hegaly 277  
 Meneses Macarena 136  
 Meza F 141  
 Mieres Daniel 244  
 Miranda Nicolas 203  
 Modak B 206  
 Molina V 88, 162, 193  
 Molina Verónica 121, 145, 193, 237, 290  
 Molina Victor 109  
 Monasterio O 176  
 Monasterio Octavio 171, 232, 245, 305, 314  
 Monasterio Opazo Octavio 122  
 Montero David 288  
 Montero Francisco 153  
 Montoya Marcelo 115, 175  
 Mora G. C. 132, 143  
 Mora Guido C. 142, 154, 236  
 Mora Guido. C 296  
 Mora Guido.C 140  
 Mora María De La Luz 181  
 Morales Eduardo H 97  
 Morales Irene 102, 270  
 Morales J 254  
 Morales Jonathan 159, 195, 217  
 Morales María Camila 164  
 Morales Pablo 306  
 Morales R 291  
 Morales-reyes Jonathan 128  
 Morgado Constanza 124  
 Mouland A 48  
 Moya Elizondo Ernesto 280

Mukherjee Arpan 281  
 Muñoz C 68  
 Muñoz Carlos 204, 243, 248  
 Muñoz Claudia 167, 287  
 Muñoz Mariela 120  
 Muñoz Pablo 308

## N

Navarrete Diana 86  
 Navarrete Natalie 86  
 Navarrete Oscar 71  
 Navarrete Paola 86  
 Navarro C.A. 148, 221  
 Navas E 113  
 Neaman Alexander 303  
 Neumann Germán 70, 172  
 Nevermann Jan C. 142  
 Norambuena Javiera 194  
 Notte A 241  
 Nova Esteban 171  
 Novoa Catalina 304  
 Nualart Daniela 161, 227, 295  
 Núñez Francisco 240  
 Nuñez Magdalena 120, 262  
 Nuñez Maria Jose 87  
 Núñez Mauricio 302

## O

O´ryan Miguel 114  
 Obrequé M 216  
 Octavio Monasterio 256  
 Oetiker N 148  
 Ohlmann Théophile 210  
 Ohlmann Theophile OHLMANN 27  
 Olalde V 32  
 Olave Alberto 270  
 Oliva Harold 227

Olivares Eduardo 29  
 Olivares Pacheco Jorge 150  
 Olivares Pacheco Jorge Andrés 101  
 Oliver C. 198  
 Oliver Cristian 183  
 Olmos Alejandro 266  
 Opazo Rafael 252, 289  
 Ordenes Kely 202, 244  
 Orell Alvaro 281, 298  
 Orellana O 46  
 Orellana Omar 149, 163, 228, 229  
 Orlando Julieta 164  
 Ormeño Fernando 23  
 Orrego Patricio 200, 202, 244  
 Ortiz Carolina 112  
 Ortiz-severín Javiera 269  
 Ossandón Barbara 134  
 Ossandón Francisco 208  
 Otth C 262  
 Otth Carola 98  
 Overwin Heike 242  
 Oyarzúa Pía 278, 280  
 Oyarzun Aaron 127

## P

Pablo Nuñez 283  
 Padilla Carlos 108  
 Palominos MFernanda 239, 312  
 Pantoja S 273  
 Pardo Coral 105  
 Pardo K. 222  
 Pardo Mirka 288  
 Paredes Rodolfo 107  
 Pasten Alice 95, 234  
 Pastene E 201  
 Pastene Edgar 166  
 Pavlov María 169

Pedrós-alió C 15  
 Peña Jaime 25  
 Peña Ruben 265  
 Peralta R. 177  
 Pereira Camila A 209  
 Pereyra M 264  
 Perez C 216  
 Pérez Claudia 131  
 Pérez J 193  
 Pérez P 84  
 Perez R 151  
 Perez Regina 87  
 Pérez V 162, 193, 237  
 Pérez Vilma 145, 193, 301  
 Pérez-donoso José 144  
 Piedra P 39  
 Pino Karla 29, 106  
 Pinto Fabian 226  
 Pinto M 73  
 Pizarro Rolando 261  
 Plaza V 95, 234  
 Plaza Verónica 241  
 Poblete Juan Gerardo 202  
 Podell Sheila 99  
 Polanco Rubén 137, 277  
 Ponce Iván 22, 23  
 Pontigo Juan Pablo 295  
 Pop Mihai 114  
 Prades Yara 261  
 Prieto Cristian 107

## Q

Quatrini Raquel 163, 208, 229  
 Quiñones R 273

## R

Raggi Patricia 86

Ramírez Sebastián 268  
 Ramírez-flandes Salvador 316  
 Ramos J.S. 221  
 Randau L 49  
 Randau Lennart 228  
 Rasko David 114  
 Reinoso Claudia 287  
 Remonsellez Francisco 125, 208  
 Repke J 57  
 Retamal Gerardo 267  
 Retamales Julio 283  
 Reyes Juan 212  
 Reyes-cerpa Sebastian 128, 195, 217  
 Reyes-jara Angélica 93, 196  
 Rilling Joaquin 259  
 Riquelme B 165  
 Riquelme Brenda 245  
 Riquelme C 111, 286  
 Riquelme Carlos E. 301  
 Riquelme N 170  
 Riquelme Sebastián 174, 187, 307  
 Rivas Lina 233  
 Rivera Javier 267  
 Robeson James 170  
 Robles I 158  
 Robles I. 162  
 Rodas Paula I. 100, 123, 135  
 Rodríguez Fernanda 308  
 Rodriguez M 52  
 Rojas- Aedo J F 180  
 Rojas B 211  
 Rojas Barbara 210  
 Rojas Barbara V 209  
 Rojas Constanza 302, 303  
 Rojas Luis 153  
 Rojas Marcelo 316  
 Rojas Víctor 186, 250, 251

Rojas-herrera Marcelo 266  
 Romero J 252, 268  
 Romero Jaime 289  
 Rosalba Lagos 256  
 Rosales Carlos 260  
 Rosas Carlos 25  
 Rossi Patricio 261  
 Rubilar Paulina 27, 210  
 Ruiz Mauricio 261  
 Ruíz R 264  
 Ruiz-tagle N 216

## S

Saavedra Claudia 97, 238  
 Saavedra Claudia P 105  
 Saavedra Claudia P. 70, 172  
 Saavedra M 152  
 Saavedra Renato 182, 249  
 Sabag Andrea 124  
 Saez Camila 306  
 Sáez-torres J. 198  
 Sagua Hernán 202  
 Saguas Carla 147  
 Saitz Waleska 288  
 Salas Loreto 317  
 Salas María Jose 130  
 Salas-leiva Joan 252  
 Salazar Javier 137, 277  
 Salazar Luis 279  
 Salgado Oscar 86  
 Salinas Daniela 144  
 Salvatierra R 35  
 Salvatierra Ricardo 147  
 Sánchez Carolina 266  
 Sanchez Lesly 207  
 Sánchez Manuel 277  
 Sanchez Victor 203



Sánchez-viveros Gabriela 91, 220, 253, 276  
 Sandino A.M 206  
 Sandino Ana Maria 127, 128, 195, 204, 243, 248, 284  
 Sandino Ana María 217  
 Sandoval R. 198  
 Sandoval Rodrigo 161, 227  
 Sanhueza Fernanda 271  
 Santander J 66  
 Santibañez Alvaro 159  
 Santiviago CA 293  
 Santiviago Carlos 104, 124, 174, 187, 307  
 Santiviago Carlos A. 157, 271  
 Satoskar A 11  
 Schaefer Francisca 205  
 Schlömann M 315  
 Schlömann Michael 267  
 Schmaryahu Amir 228  
 Schopf S 58  
 Seeger M 20, 199  
 Seeger Michael 136, 153, 192, 231, 242, 300  
 Sepúlveda C. P. 143  
 Sepúlveda D 119  
 Sepúlveda Fabiola 138  
 Sepúlveda Maurine 280  
 Sepúlveda Sofía 22, 23  
 Sergio H. Marshall 90  
 Serrano Antonio 246  
 Serrano Mayela 133  
 Severino Esteban 247  
 Silva CA 293  
 Silva Cecilia 104  
 Silva Cecilia A. 157, 271  
 Silva Fernán 278  
 Silva J 251, 254, 264  
 Silva Juan 186, 233, 250, 251  
 Silva P. 198

Solis Jaime 275  
 Solis Loretto 106  
 Sommaruga Ruben 290  
 Sossa K 216  
 Sossa K. 222  
 Soto Christopher 144  
 Soto R 28  
 Soto-aguilera S 206  
 Soto-herrera Valentina 195, 217  
 Soto-rifo Ricardo 27, 210, 211  
 Soto-rifo Ricardo A 209  
 Spencer Eugenio 159, 284  
 Stine O. Colin 114  
 Stoll Alexandra 147, 223, 285

## T

Talamilla A. A. 143  
 Tamames J 14  
 Tambley-zamorano Carolina 284  
 Tapia D 117  
 Tapia K 151, 152  
 Tejías Cristóbal 70, 172  
 Tello Mario 128, 204, 243, 248  
 Thompson Sunnie R. 29  
 Tischler Dirk 267  
 Toledo Hector 92  
 Toro Cecilia 109, 233, 235  
 Toro U. Cecilia 160  
 Toro-ascuy Daniela 159, 284  
 Torres Alexia 288  
 Torres Javiera 138  
 Trefault Nicole 316  
 Trench Fiol Stephanie 191  
 Trigo Carla 245  
 Trombert Annette Nicole 266  
 Troncoso Jose Miguel 295

## U

Ugalde Juan A 316  
 Ugalde Juan A. 99  
 Ulloa M. Teresa 235  
 Ulloa María Teresa 109, 160, 233  
 Ulloa Osvaldo 316  
 Undabarrena Agustina 192, 231  
 Uribe Eduardo 252  
 Urrejola Catalina 317  
 Urriola Nicole 186, 250, 251  
 Urrutia H 216  
 Urtuvia V 199  
 Urzúa Blanca 102, 270  
 Ushak Svetlana 134

## V

Vaca I 69, 180, 297, 299  
 Valck Carolina 25  
 Valdes Natalia 128, 267  
 Valdivia Mauricio 173  
 Valenzuela B 206  
 Valenzuela Bernardita 207  
 Valenzuela Camila 124, 174, 307  
 Valenzuela Daniela 287  
 Valenzuela Eduardo 309  
 Valenzuela Karla 183  
 Valenzuela L. M. 132  
 Valenzuela L. Matias 296  
 Valenzuela Lucía 22, 23  
 Valenzuela Matías 105  
 Valenzuela Matías L. 154  
 Valenzuela N 254, 264  
 Valiente F 48  
 Valladares Luis 289  
 Varas Macarena 174, 187, 269, 307  
 Varga S 37  
 Vargas Deborah 127

Vargas G 12  
 Vargas Joaquín 167, 173  
 Vargas Marisol 280  
 Vargas Y. 222  
 Vásquez Claudio 167, 173, 287, 308  
 Vásquez D 76  
 Vásquez Luz Monica 245  
 Vásquez M 165  
 Vásquez Ponce Felipe 150  
 Vejar Drina 121  
 Velásquez F 293  
 Velásquez Felipe 271  
 Velasquez Felipe I. 157  
 Velez Antonio 252  
 Veliz Fabián 281  
 Venegas Darna 144  
 Vera Carlos 304  
 Vera M 61  
 Vera Mario 94  
 Verdejo Valentina 164  
 Verdugo Lidia 312  
 Vergara L. 222  
 Vergara Luis 230, 313  
 Vicente M 10  
 Vicuña Rafael 317  
 Vidal Roberto 114, 288  
 Villagra Cristian 247  
 Villagra Nicolás A. 154, 236  
 Villagra Nicolas. A 140, 296  
 Villanelo F 256  
 Villanueva Rodrigo 107, 156  
 Villarreal P 179  
 Villarreal Pablo 129, 168  
 Villegas P 199  
 Vizcaya C 151  
 Vizcaya Cecilia 87  
 Von Dassow Peter 316, 317

**W**

Wentworth David E. 87

Werner N 119

**Y**

Yañez A. 198

Yañez Alejandro 161, 227, 295

Yañez Alejandro Javier 183

Yañez C 291

Yañez Carolina 302, 303

Yañez Dominique 213

Yañez Jorge 182, 249

Yañez Romina 283

Yuivar Y 129

**Z**

Zadjelovic Vinko 247

Zahr M 291

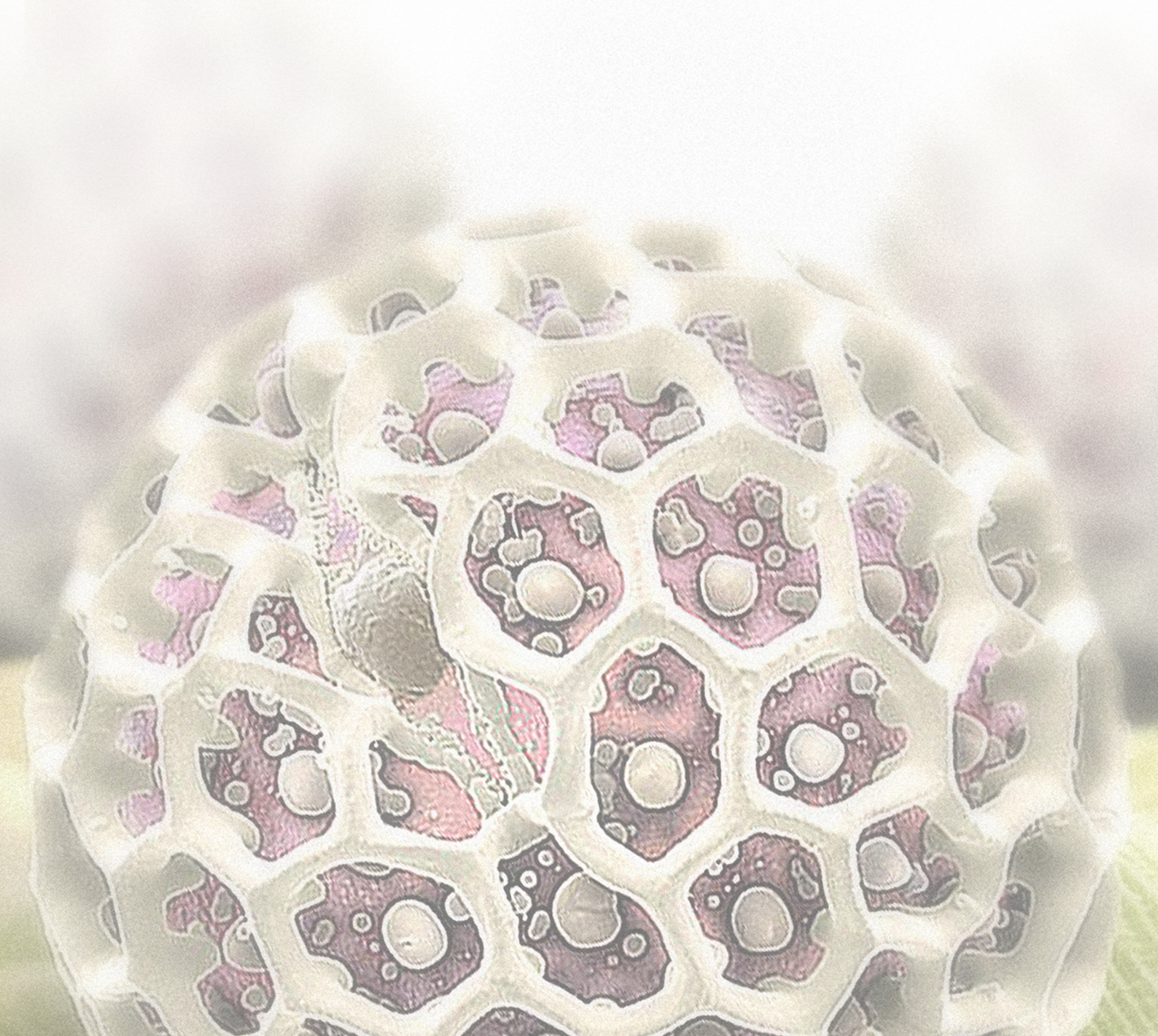
Zamorano Pedro 207

Zapata Claudia 194

Zarraga A 185

Zárraga Ana María 225

Zavaleta Mancera Hilda 91



[WWW.SOMICH.CL](http://WWW.SOMICH.CL)

Organiza:



Sociedad de Microbiología de Chile

Participan:



Auspician:

