

MEMORIAS



Universidad El Bosque – 9 y 10 de agosto de 2018

Con el apoyo de



Memorias
Bogotá Microbial Meeting – BoMM 2018

Publicación anual
Segunda Edición
Bogotá, Colombia
9 y 10 de agosto de 2018
ISSN Pendiente

Editores

Alejandro Acosta González. Universidad de La Sabana; Embajador joven "ISME Society".

Angela Cantillo. Corpogen-Bogotá/ Universidad de los Andes. Bogotá

Carolina Díaz. Pontificia Universidad Javeriana - Bogotá

Alejandro Reyes. Profesor Asistente Universidad de los Andes. Bogotá.

Santiago Hernández. Estudiante de Doctorado. Universidad de los Andes. Bogotá.

Alejandro Caro. Investigador. Agrosavia sede Tibaitatá, Mosquera.

Sandra Milena Montano. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá

Zulma Suárez. Directora de Investigación y Desarrollo – VECOL S.A; Embajadora joven "ASM".

María Mercedes Zambrano. Corpogen-Bogotá; Embajadora "ISME Society" y Embajadora ASM.

Andrea Borbón García. Estudiante de Maestría. Universidad de los Andes. Bogotá.

Viviana Clavijo. Estudiante de Doctorado. Universidad de los Andes. Bogotá.

Lorena Díaz. Profesora Asociada. Universidad El Bosque. Bogotá

Diego Jiménez. Universidad de los Andes. Bogotá

Lina Millán. Universidad El Bosque. Bogotá

Tabla de contenido

PRESENTACIONES ORALES 2018	3
CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE UNA RED METABÓLICA DEL METAGENOMA DE UNA FUENTE TERMAL DEL PARQUE NACIONAL NATURAL DE LOS NEVADOS	4
EL MICROBIOMA COMO POTENCIAL BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN EN SUELOS DE MANGLAR	5
ACTIVIDAD ANTIFUNGICA Y COLONIZACION DE BACTERIAS AISLADAS DE AMBIENTES MARINOS EN INTERACCION CON PLANTAS DE TOMATE Y <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F SP. <i>LYCOPERSICI</i>	6
MICROBIOTA CUTÁNEA Y PéPTIDOS ANTIMICROBIANOS FACILITAN LA COEXISTENCIA DE DOS ESPECIES DE RANAS ANDINAS CON EL HONGO <i>BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS</i>	8
DETECCIÓN DE FENOTIPOS HVISA/VISA EN AISLAMIENTOS DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTENTES A METICILINA (SARM) CAUSANTES DE BACTERIEMIA EN NUEVE PAÍSES DE LATINOAMÉRICA	9
EVALUACIÓN DE CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA HUMANA (PBMCS) COMO MODELO EX - VIVO DE ESTUDIO EN TOXOPLASMOSIS	10
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TRES AISLADOS: <i>BACILLUS FIRMUS</i> C101, <i>ENTEROBACTER CLOACAE</i> C127 Y <i>ENTEROBACTER</i> SP. C30, EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE POST-LARVAS DE CAMARÓN BLANCO (<i>LITOPENAEUS VANNAMEI</i>) Y PRE-JUVENILES DE TILAPIA NILÓTICA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>), Y EN EL CULTIVO DE ROTÍFEROS (<i>BRACHIONUS PLICATILIS</i>)	11
¿ES POSIBLE BIODEGRADAR PLÁSTICO? CASO: POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD	13
ALTA CONCENTRACIÓN NATURAL DE CADMIO EN EL SUELO RESULTA EN BAJA DIVERSIDAD DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES ASOCIADOS A CACAO (<i>THEOBROMA CACAO</i> L.)	14
DESARROLLO DE CONSORCIOS BACTERIANOS CON ALTA EFICIENCIA DE DEGRADACIÓN DE PAH PARA SU APLICACIÓN A LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CRÓNICAMENTE CONTAMINADOS	15
PRODUCCIÓN EN PLANTAS DE UN ANTÍGENO RELACIONADO A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EMPLEANDO UN VECTOR VIRAL INDUCIBLE	16
CARACTERIZACIÓN DEL VIROMA INTESTINAL HUMANO Y SU RELACIÓN CON LA OBESIDAD	17
PRESENTACIONES PÓSTER	18

PRESENTACIONES ORALES 2018

CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE UNA RED METABÓLICA DEL METAGENOMA DE UNA FUENTE TERMAL DEL PARQUE NACIONAL NATURAL DE LOS NEVADOS

Henao J1., Parra W1., Gonzalez J3., Blais E2., Papin J2., §Pinzón A1.

1. Bioinformática y Biología de Sistemas. Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia. 2. Computational Systems Biology Laboratory. Biomedical Engineering. University of Virginia. 3. Bioquímica computacional, estructural y Bioinformática. Universidad Javeriana. § Autor de correspondencia <ampinzonv@unal.edu.co>

El estudio de metagenomas ha permitido entender las relaciones entre las comunidades microbianas y su medio. Adicionalmente, asociar estos estudios con biología de sistemas ha permitido abstraer información nueva sobre este tipo de relaciones. No obstante, la mayoría de estos estudios se enfocan en determinar características parciales y no en estudiar el sistema completo. En este trabajo, nosotros caracterizamos una red metabólica para un metagenoma de una fuente termal ubicada en el Parque Natural de los Nevados. Para dicha red, fueron identificadas rutas metabólicas a partir de una búsqueda en la base de datos KEGG. Posteriormente, fue comparada contra la red metabólica de la especie *Thermotoga maritima* propia de fuentes termales analizando: i) nodos de alta importancia, ii) motivos de tamaños tres y cuatro y iii) análisis de robustez. Como resultados, se identificaron principalmente 25 reacciones asociadas al metagenoma. Respecto a los nodos de alta importancia, en *T. maritima*, H⁺ es el más relevante seguido de H₂O y en el metagenoma sucede lo contrario. Por otra parte, ambas redes poseen el mismo motivo de tamaño tres (mfinder ID: 238) a diferencia de los motivos de tamaño cuatro donde el metagenoma posee dos (mfinder IDs: 31710 y 13278) y *T. maritima* uno (mfinder ID: 31710). Finalmente, la red metabólica de *T. maritima* demuestra mayor robustez que la red del metagenoma al poseer menor diámetro y mayor fracción del clúster principal. Los resultados demuestran diferencias principalmente respecto a la centralidad de los nodos en la red y su implicación en la robustez de los mismos.

EL MICROBIOMA COMO POTENCIAL BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN EN SUELOS DE MANGLAR

Ingrid Figueroa¹, Andrea Muñoz García¹, Guillermo Torres², Javier Vanegas¹.

1 Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño. Sede circunvalar, Cra 3 Este No 47 A 15, Bogotá Colombia. 2 Institute of Clinical Molecular Biology (IKMB) Schleswig-Holstein Rosalind-Franklin-Straße 12 24105 Kiel, Germany.

Introducción: La diversidad y actividad microbiana son fundamentales en la productividad, conservación y recuperación de los manglares. La presión antropogénica causada en los manglares por la descarga de aguas residuales y derrames de petróleo podría ser detectada por la presencia de ciertos grupos bacterianos para el monitoreo de la contaminación. Este trabajo presenta una descripción robusta de la microbiota encontrada en dos manglares de La Guajira, uno prístino (conservado) y otro contaminado con residuos urbanos (alterado).

Metodología: ADN total fue extraído a partir de nueve muestras de suelo en cada tipo de manglar (conservado y alterado), para un total de 18 muestras de suelo. Posteriormente, las muestras de ADN fueron sometidas a amplificación del gen 16S rARN y posterior secuenciación mediante Illumina MiSeq para obtener secuencias de 300pb de longitud. Las secuencias crudas producto de la secuenciación fueron filtradas y anotadas con el software Mothur. Índices de α -diversidad (riqueza, Shannon y Simpson) fueron calculados para identificar la diversidad dentro de las muestras y β -diversidad (Bray-Curtis) para comparar la diversidad entre muestras. Se utilizó un método de análisis discriminativo lineal (LDA) y efecto del tamaño (LEfSe) para la detección de grupos bacterianos como posibles biomarcadores. Las muestras de suelo tomadas en éste estudio fueron igualmente sometidas a análisis fisicoquímicos. Se realizó un análisis de correspondencia canónica para identificar relaciones entre los parámetros fisicoquímicos del suelo y los cambios en la comunidad bacteriana.

Resultados: Se identificaron 2.767 OTUs (Unidades Taxonómicas Operacionales) con una similaridad del 97%. La metodología LDA y LEfSe permitió identificar 14 filos, 15 clases, 29 órdenes, 55 familias y 106 géneros enriquecidos en algunos de los dos manglares. Los géneros *Marinobacterium*, *Marinobacter*, *Clostridium* y *Alcanivorax* presentaron abundancias significativas en el manglar alterado y han sido postulados como indicadores de contaminación en manglares. Por otro lado, algunos géneros bacterianos implicados en el ciclo del nitrógeno y azufre fueron significativamente enriquecidos en el manglar alterado.

Conclusiones: Nuestros resultados muestran claramente cambios en la estructura y proporción de la comunidad de bacterias entre el manglar alterado y conservado. Además, se postula y confirma algunos grupos bacterianos como bioindicadores de la contaminación por aguas residuales urbanas en ecosistemas de manglar. La información de este trabajo permitirá identificar marcadores microbianos como estrategia de conservación y monitoreo de ecosistemas como el manglar.

ACTIVIDAD ANTIFUNGICA Y COLONIZACION DE BACTERIAS AISLADAS DE AMBIENTES MARINOS EN INTERACCION CON PLANTAS DE TOMATE Y *Fusarium oxysporum* f sp. *Lycopersici*

Vinchira-Villarraga Diana Marcela^{1, 2}, Moreno-Sarmiento Nubia², Castellanos Leonardo¹, Suárez-Moreno Zulma³, Ramos Freddy A.¹

1 Grupo de estudio y aprovechamiento de productos naturales marinos y frutas de Colombia, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. 2 Grupo de Bioprocesos y bioprospección, Instituto de Biotecnología, UN Sede Bogotá. 3 Departamento de Investigación y desarrollo, VECOL S.A.

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* (Fol) es un hongo fitopatógeno conocido por ser el agente causal de la marchitez vascular en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*), generando pérdidas del 80% en producción. La selección de agentes de control biológico como estrategia de manejo de Fol, se basa en el uso de microorganismos con actividad antifúngica. Las bacterias derivadas de ambientes marinos son candidatos promisorios para este fin debido a su habilidad de producir metabolitos secundarios con actividad antifúngica. Estas bacterias son tolerantes a diversas condiciones medioambientales como salinidad, temperatura y pH y se reconocen por colonizar superficies bióticas y abióticas en los ambientes marinos. Por esta razón, existe un interés emergente en la evaluación de la capacidad de colonización rizosférica de estas bacterias para determinar su potencial uso como inoculantes biológicos en agricultura.

El objetivo de la presente investigación fue la selección, identificación y evaluación de la capacidad de colonización en plantas de tomate de aislamientos bacterianos obtenidos del Mar Caribe colombiano con actividad antifúngica frente a dos aislamientos de Fol. Para este propósito, 152 bacterias fueron evaluadas en ensayos de actividad antifúngica in vitro frente a dos aislamientos de Fol. Como resultado, 28 bacterias fueron seleccionadas, identificadas por secuenciación del gen 16S rRNA, caracterizadas fenotípicamente y evaluadas frente a 7 cepas adicionales de Fol. La información obtenida del secuenciamiento del gen 16S y las pruebas fenotípicas permitió la clasificación de las bacterias activas en los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus* y *Brevibacillus*. 12 de estas bacterias tuvieron actividad frente a los 9 aislamientos de Fol y 3 inhibieron el crecimiento de 8 de los aislamientos fúngicos.

A fin de seleccionar aquellos aislamientos con habilidad para colonizar beneficiosamente las plantas de tomate, se realizó la evaluación de la capacidad de colonización de 25 de las bacterias activas en la rizósfera de tomate bajo condiciones controladas en un sistema gnotobiótico. El seguimiento a la colonización se realizó por recuento en placa los días 1-4 y a los 10, 15 y 30 días post inoculación. En estos ensayos se determinó que 13 aislamientos eran capaces de colonizar la rizosfera de las plantas tratadas y mantenerse viables hasta el día 30 de evaluación. 8 bacterias no colonizaron la rizosfera en ningún

momento del ensayo y 4 colonizaron la rizósfera hasta los días 10-15 post inoculación, pero no se encontraron viables al final del ensayo (día 30). La combinación de los resultados obtenidos (actividad antifúngica, clasificación taxonómica y colonización) permitieron seleccionar para futuros ensayos de actividad antifúngica in vivo a 9 de las 28 bacterias seleccionadas inicialmente. Actualmente, se está diseñando un experimento para evaluar uno de estos aislamientos con potencial biocontrolador en interacción con la planta y Fol mediante una aproximación metabolómica, que permitan establecer procesos de escalamiento y formulación de un biocontrolador para el manejo de Fol en campo.

MICROBIOTA CUTÁNEA Y PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS FACILITAN LA COEXISTENCIA DE DOS ESPECIES DE RANAS ANDINAS CON EL HONGO BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS

Sandra V. Flechas^{1,2}, Alejandro Acosta-González³, Laura A. Escobar⁴, Jordan Kueneman^{5,9}, Zilpa Adriana Sánchez-Quitian^{4,6}, Claudia M. Parra-Giraldo³, Louise Rollins-Smith⁷, Laura K. Reinert⁷, Vance T. Vredenburg⁸, Adolfo Amézquita¹, Douglas C. Woodhams^{5,9}

1 Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. 2 Instituto de Investigación en Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. 3 Facultad de Ingeniería, Universidad de la Sabana, Chía, Colombia. 4 Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 5 Departamento de Biología, Universidad de Massachusetts, Boston, MA, USA. 6 Grupo de Manejo Ambiental. Departamento de Biología y Microbiología. Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia. 7 Departamento de Patología, Microbiología e Inmunología. Universidad de Vanderbilt, Escuela de Medicina, Nashville, USA. 8 Departamento de Biología, Universidad Estatal de San Francisco, San Francisco, CA, USA. 9 Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Balboa, Republica de Panamá

El hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) ha causado disminuciones dramáticas en las poblaciones de muchas especies de anfibios alrededor del mundo. Sin embargo, otras especies han sobrevivido a estos eventos epizoóticos. Varios estudios sugieren que las bacterias presentes en la piel de las ranas juegan un papel importante en la defensa contra el patógeno permitiendo que las ranas puedan sobrevivir a los efectos letales de Bd. Para entender el rol de la microbiota cutánea como componente de la resistencia a la infección, estudiamos dos especies de ranas simpátricas que habitan los Andes colombianos, *Dendropsophus labialis* (Hylidae) y *Rheobates palmatus* (Aromobatidae), las cuales han coexistido con el hongo patógeno por al menos una década sin evidencia de disminución poblacional. Estudios previos demostraron que la prevalencia de la infección es alta en ambas especies, sin embargo los niveles de infección se han mantenido bajos. Aquí evaluamos tanto la composición de la comunidad microbiana (cultivable y no cultivable) como la presencia de péptidos antimicrobianos en los tres estadios de desarrollo (larva, juvenil, adulto) de ambas especies de ranas, con el fin de determinar su capacidad de inhibir el patógeno y de entender el rol de los péptidos en la estructuración de las comunidades bacterianas de la piel de las ranas. Inicialmente nuestros resultados sugieren que la composición de la comunidad bacteriana y los péptidos antimicrobianos secretados en la piel son específicos en cada estadio de desarrollo. Adicionalmente una alta proporción de especies bacterianas aisladas, pertenecientes principalmente a los phylum Proteobacteria y Firmicutes se caracterizaron por tener un potencial antifúngico. Los péptidos antimicrobianos inhibieron significativamente el crecimiento de Bd, pero no afectaron el crecimiento bacteriano, incluso en algunos casos los péptidos promovieron el crecimiento de la microbiota cutánea. Nuestro estudio sugiere que las bacterias simbióticas y los péptidos antimicrobianos en conjunto contribuyen a la capacidad de las especies de anfibios andinos a coexistir con el linaje pandémico global de Bd.

DETECCIÓN DE FENOTIPOS hVISA/VISA EN AISLAMIENTOS DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES A METICILINA (SARM) CAUSANTES DE BACTERIEMIA EN NUEVE PAÍSES DE LATINOAMÉRICA

Erika P. Forero¹, Paola A. Cubides¹, Jinnethe C. Reyes¹, Lina P. Carvajal¹, Lina V. Millán¹, Angie K. Hernández ¹, Carlos R. Seas², José. Munita³, Cesar A. Arias^{1,4}, Lorena Díaz¹.

1 Universidad El Bosque. Bogotá - Colombia, Universidad El Bosque. Bogotá – Colombia. 2 Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt. Lima – Perú. 3 Facultad de Medicina Clínica Alemana Universidad del Desarrollo. Santiago – Chile. 4. University of Texas. Houston - EEUU. Escuela de Medicina

Introducción: La vancomicina es una de las opciones terapéuticas para infecciones por SARM, sin embargo, es preocupante la emergencia de la resistencia y la falla terapéutica reportada por esta en aislamientos susceptibles, por su posible asociación con fenotipos hVISA/VISA que no son detectables por pruebas convencionales de laboratorio, por lo que su prevalencia tampoco está estimada. El objetivo de la investigación fue determinar la prevalencia de fenotipos hVISA/VISA en aislamientos SARM vancomicina susceptibles en nueve países latinoamericanos.

Materiales y métodos: En este estudio prospectivo se incluyeron 537 aislamientos clínicos de SARM vancomicina susceptibles (CMI₉₀=1 µg/ml), recuperados durante la vigilancia epidemiológica 2010-2015 en Argentina (60), Brasil (126), Chile (74), Colombia (40), Ecuador (29), Guatemala (74), México (17), Perú (84) y Venezuela (33). Para la detección de SARM-hVISA/VISA se realizaron pruebas de tamizaje en agar con BHI/Vancomicina [6 µg/ml y 4 µg/ml], Muller-Hinton/Teicoplanina [5 µg/ml] y GRD (Glucopéptido Resistencia Determinación) cuando alguno de los tamizajes fue positivo.

Resultados: Ningún aislamiento fue positivo por el tamizaje recomendado por CLSI (BHI/Vancomicina [6 µg/ml]). Sin embargo, con BHI/Vancomicina [4 µg/ml] y Muller-Hinton/Teicoplanina [5 µg/ml] se detectó que el 24.2% (n=130) y 35.9% (n=193) respectivamente fueron positivos. Luego de realizar la prueba GRD se estableció que 9.1% del total de los aislamientos fueron SARM-hVISA/VISA presuntivos. Las prevalencias de este fenotipo por país fueron: Perú 31%, Chile 16.2%, Argentina 10%, Guatemala 4.1%, Brasil 0.8% y Ecuador 3.4%. En Colombia y Venezuela no se detectó este fenotipo.

Conclusiones: Por primera vez se reportan prevalencias de SARM-hVISA/VISA para la región, sin embargo, se requiere confirmación por la metodología estándar de Análisis Poblacional (PAP-AUC). Financiación: Colciencias código No. 130874455850. Universidad El Bosque PCI2017-9510.

EVALUACIÓN DE CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA HUMANA (PBMCs) COMO MODELO EX - VIVO DE ESTUDIO EN TOXOPLASMOSIS

Acosta J.A, Hernandez A, Gomez J.E.

Universidad del Quindío

Introducción. *Toxoplasma gondii* es el segundo patógeno más importante de transmisión alimentaria generando un detrimento en la calidad de vida de las personas infectadas. La mayoría de estudios sobre infección por *T.gondii* se ha realizado en el modelo ratón. Se propone diseñar un modelo de estimulación ex-vivo con *T. gondii* RH-GFP utilizando células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de personas con toxoplasmosis. Materiales y métodos. Se incluyeron 3 individuos seronegativos para *Toxoplasma* para evaluar la viabilidad de los PBMCs en el tiempo y un individuo seropositivo y uno seronegativo para *Toxoplasma* para evaluar los diferentes MOIs de infección (1:1, 1:3 y 1:5), y un último individuo seropositivo para evaluar los tiempos de infección (1h, 6h, 24h). Los datos de infección fueron analizados por microscopía de fluorescencia. Resultados. Se encontró que la viabilidad del modelo ex-vivo de PBMCs se ve reducida a partir del cuarto día de cultivo. La infección de *T.gondii* en PBMCs es dosis dependiente y aumenta con el tiempo. Se encontraron diferencias significativas (p -valor < 0.001) en la modulación de la infección en los PBMCs del individuo seropositivo respecto al seronegativo, presentando un mayor control de la infección los PBMCs del individuo seropositivo. Conclusiones. Se identificaron y estandarizaron unas condiciones de infección en el modelo ex-vivo con PBMCs humanos para el estudio de la Toxoplasmosis, las cuales serán aplicadas para estudios posteriores de expresión diferencial de genes por Dual-RNAseq.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TRES AISLADOS: *Bacillus firmus* C101, *Enterobacter cloacae* C127 y *Enterobacter* sp. C30, EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE POST-LARVAS DE CAMARÓN BLANCO (LITOPENAEUS VANNAMEI) Y PRE-JUVENILES DE TILAPIA NILÓTICA (*Oreochromis niloticus*), Y EN EL CULTIVO DE ROTÍFEROS (*Brachionus plicatilis*)

1. Ruíz-Toquica, J.S.; 2. Hidalgo-Roa, D.J.; 3. Becerra-Real, L.M. y 4. Villamil-Díaz, L.M.

1. Biología Marina y M.Sc. en Microbiología. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, e-mail: jordansteven6@gmail.com. 2. Biología Marina y M.Sc. en Bioquímica, e-mail: deisy.hidalgo@outlook.com. 3 Biología Marina y M.Sc. en Microbiología, e-mail: laura_milena1990@hotmail.com. 4 Doctorado en Biociencias, Facultad de Ingeniería. Universidad de La Sabana, e-mail: luisa.villamil@unisabana.edu.co

Introducción: En Colombia, la industria acuícola tiene amplias perspectivas de crecimiento y fortalecimiento, especialmente en la larvicultura de organismos acuáticos de interés comercial. No obstante, esta industria se ve amenazada por la baja productividad e incidencia de enfermedades, razón por la cual es pertinente buscar y desarrollar alternativas biológicas como el suministro de microorganismos probióticos, los cuales modulan la microbiota endógena y promueven el crecimiento, sobrevivencia y resistencia en esta fase del cultivo. Así, el presente estudio muestra tres potenciales candidatos probióticos para uso en la acuicultura de estadios larvarios. Métodos: Los aislados *Bacillus firmus* C101 (T1), *Enterobacter cloacae* C127 (T2) y *Enterobacter* sp. C30 (T3), fueron caracterizados y adicionados (106 UFC/ml*día, por separado) directamente en el agua de tres cultivos experimentales: post-larvas PL-21 de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) (T1 y T2), rotíferos (*Brachionus plicatilis*) (T1 y T2), y pre-juveniles de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) (T3). El suministro se realizó durante 20 días (para post-larvas y pre-juveniles) y 48 h (para rotíferos), y se tomaron datos del crecimiento y sobrevivencia de los organismos al inicio y final del experimento. Resultados: Los tres aislados mostraron fuerte actividad antagónica contra *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* y *Vibrio alginolyticus* (de 30 a 60 % de inhibición). Después del suministro, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en relación con los controles para todos los indicadores de crecimiento y en el recuento de bacterias totales. La sobrevivencia de los organismos fue mayor al 80 % y no hubo diferencias con los controles ($p > 0.05$). Con los tratamientos T1 y T2 se evidenció un efecto positivo en el peso (ganancia = 242.2 ± 21.2 %), longitud (ganancia = 135.2 ± 34.7 %) y tasa de conversión alimenticia (TCA = 2.0 ± 0.2) de las post-larvas de camarón blanco, así como en la tasa de crecimiento (TC = 20.2 ± 1.5 %/día), productividad (R = 16.0 ± 0.7 indiv./ml*día) y fecundidad (F = 0.8 ± 0.05 huevos/indiv.) de los rotíferos. No se observaron diferencias entre ambos tratamientos ($p > 0.05$). Paralelamente, con el tratamiento T3 se observó un efecto marcado en el peso (ganancia = 53.26 ± 3.8 %) y TCA (0.3 ± 0.02) de los pre-juveniles de tilapia nilótica. Se cree que este efecto positivo se debe a la marcada actividad enzimática y a las características fisiológicas de estos aislados bacterianos.

Conclusiones: Este estudio se convierte en el primer reporte del efecto del suministro individual de *B. firmus* en post-larvas de camarón blanco, y el primero de *Enterobacter* spp. en los tres cultivos experimentales. No obstante, se precisan estudios de los mecanismos de acción de estos candidatos probióticos, y pruebas a escala piloto y comercial para validar estos resultados y su posible transferencia al sector.

¿ES POSIBLE BIODEGRADAR PLÁSTICO? CASO: POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD

Luis D. Gómez-Mendez 1, Raúl A. Poutou-Piñales 2, Aura M. Pedroza-Rodriguez 3, Juan C. Salcedo-Reyes 4.

1. Estudiante Doctorado en Ciencias Biológicas. Área de investigación: Biotecnología. Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI). Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana – Bogotá. 2. Laboratorio de Biotecnología Molecular. Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI). Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C. Colombia. 3. Laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos. Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI). Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., Colombia. 4. Grupo de Películas Delgadas y Nanofotónica. Departamento de Física. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., Colombia.

El impacto ambiental que causan los desechos plásticos es el mundo es cada vez más evidente. La contaminación de mares y ríos, la muerte de animales marinos por ingesta accidental de plásticos, la acumulación cada vez mayor de desechos plástico en vertederos o simplemente el mal manejo de estos residuos en muchas ciudades del mundo, da muestra del terrible impacto ambiental que causan estos materiales en nuestro planeta, entre ellos el polietileno de baja densidad (LDPE). Por ello se hace necesario la implementación de pretratamientos fisicoquímicos que favorezcan, posteriormente, la biodegradación de este material.

En este estudio, una cepa de *Pleurotus ostreatus* fue empleada para biodegradar láminas de LDPE previamente sometidas a descarga de plasma de oxígeno (O₂ 100%, 3.0x10⁻² mbar, 600 V), durante seis minutos. Para seleccionar las condiciones que favorecieran la colonización del hongo y la biodegradación del LDPE, se realizó un diseño experimental Plackett-Burman (PB) en medio Radha semisólido modificado. El mejor tratamiento fue llevado a un experimento por cinco meses en un sistema de cámara húmeda. El proceso fue monitoreado a través del porcentaje de colonización, generación de pigmentos y actividades enzimáticas lacasa (Lac), manganeso (MnP) y lignina peroxidasa (LiP). A las láminas LDPE se les realizó hidrofobicidad (CA), espectroscopia infrarroja transformada por Fourier (FTIR), índices de carbonilo y vinilos (I_{co} e I_v) y microscopía electrónica de barrido y fuerza atómica. Los resultados mostraron que el plasma disminuyó el CA en un 75.57 % y aumentó la rugosidad del LDPE en un 99.81 %, facilitando la adherencia, crecimiento, y colonización de *P. ostreatus* (88.72% vs 45.55 % del LPDE no tratado). El proceso secuencial plasma-hongo a 150 días, generó cambios químicos sobre el material (presencia de grupos carbonilo e instauraciones), alta hidrofilia del material (CA = 16.79 ± 4.230 °) y mayor actividad Lac (2.817 U Lac g⁻¹) y LiP (70.755 U LiP g⁻¹) para el día 30, que el tratamiento sin plasma; por su parte la mayor actividad MnP se obtuvo al día 120 para el tratamiento biológico (1.097 U MnP g⁻¹). Estos resultados sugieren al plasma de oxígeno como un pretratamiento que favorece la adherencia y colonización del hongo sobre el LDPE y así su posterior biodegradación parcial.

ALTA CONCENTRACIÓN NATURAL DE CADMIO EN EL SUELO RESULTA EN BAJA DIVERSIDAD DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES ASOCIADOS A CACAO (*Theobroma cacao* L.)

Jhon Felipe Sandoval 1, Urley Adrián Pérez 2, Alia Rodriguez Villate 3*, Esperanza Torres Rojas 1*

1. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. 2. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Laboratorio de Microbiología Agrícola. 3. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Biología

1*Autor de correspondencia: etorresr@unal.edu.co* Editores senior

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) son simbioses obligados presentes en la rizósfera de plantas micotróficas como el cacao, no obstante, la estructura de su comunidad depende de diversos factores ambientales, entre ellos la concentración de metales pesados como el cadmio (Cd). El estudiar estas comunidades locales y su dinámica en situaciones donde están expuestas a la presencia natural de metales pesados como Cd podría ser útil para desarrollar estrategias de mitigación bajo este tipo de estrés abiótico. En esta investigación se caracterizó la estructura de las comunidades de HFMA locales presentes en la rizósfera de plantas de cacao mediante la identificación morfológica y determinación de la diversidad taxonómica de HFMA presentes en dos suelos con bajo y alto contenido natural de Cd (0.1 y 20.1 mg kg⁻¹) en Yacopí, Colombia. Para ello, se establecieron cultivos trampa con muestras de campo, con el fin de multiplicar la comunidad local de HFMA previa a la identificación de esporas mediante claves taxonómicas y la determinación de abundancia, riqueza y diversidad de comunidades de HFMA presentes. Las comunidades fueron comparadas mediante el uso de análisis de componentes principales (ACP) e índices de diversidad alfa y beta. Los resultados indican que tanto la abundancia, riqueza y diversidad de esporas de HFMA fueron significativamente menores en el suelo con alto concentración de Cd, con respecto a lo encontrado en el suelo con baja concentración de este metal. Se identificó la presencia de los géneros *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Rhizoglossum*, *Glomus* y *Funneliformis* en ambos suelos, no obstante, el ACP reveló que la estructura de la comunidad de HFMA fue drásticamente diferente. La presencia y predominancia de *Claroideoglossum etunicatum*, *Funneliformis mosseae*, *Diversispora spurca*, *Acaulospora* sp. y *Claroideoglossum* sp en suelos con alto contenido de Cd, sugiere que estas especies son potencialmente importantes por su capacidad para colonizar condiciones abióticas limitantes y que podrían tener aplicaciones biotecnológicas benéficas para cultivos de cacao crecidos en suelos con este metal. Se proponen además posibles rutas de estudio en el contexto de esta simbiosis y su papel en la sostenibilidad de sistemas terrestres.

DESARROLLO DE CONSORCIOS BACTERIANOS CON ALTA EFICIENCIA DE DEGRADACIÓN DE PAH PARA SU APLICACIÓN A LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CRÓNICAMENTE CONTAMINADOS

Marianela Macchi (1), Irma S. Morelli (1,2), Bibiana M.Coppotelli (1)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina. 2. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina

Los consorcios microbianos ofrecen un modo de vida que promueve la alta diversidad y las interacciones sinérgicas entre especies microbianas que pueden favorecer la biodegradación de contaminantes complejos como los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH). El diseño y estudio de consorcios microbianos sintéticos mediante la integración de la genómica, la transcriptómica, los estudios fisiológicos y los métodos computacionales en ecología microbiana permiten conocer el potencial metabólico de estas comunidades, lo que es crucial para recrear y acelerar los procesos naturales de degradación de contaminantes.

Este trabajo tuvo como objetivo el diseño de un consorcio microbiano sintético con alta eficiencia de degradación de fenantreno (CS-1) y establecer la contribución de cada población al proceso de degradación. El CS-1 se formó con la combinación de las cepas *Sphingobium* sp. (AM), *Pseudomonas* sp. (Bc-h y T), *Klebsiella aerogenes* (B) e *Inquilinus limosus* (I) obtenidas a partir de un consorcio natural. Los genomas fueron secuenciados y ensamblados en un secuenciador Illumina HiSeq-1500 (INDEAR). Partiendo de la ruta de degradación del fenantreno (KEGG), se seleccionaron las reacciones y enzimas que participaban en cada etapa y se estudió el rol que cumple cada población bacteriana del CS-1 realizando la reconstrucción automática de una red metabólica específica de la degradación de fenantreno visualizada en Cytoscape. Se incursionó en la aplicación de estrategias transcriptómicas para evaluar la expresión de genes catabólicos y la respuesta funcional frente a la degradación de fenantreno en medio líquido. La caracterización fisiológica mostró que sólo AM fue capaz de crecer en fenantreno como única fuente de carbono y energía, degradando un 88% al día 7, mientras que CS-1 alcanzó una eliminación superior (99%), demostrando la existencia de relaciones sinérgicas entre las cepas que conforman el CS. La red mostró una actividad protagonista de la cepa AM en el ataque inicial al fenantreno. Encontramos enzimas que intervienen en la vía baja de degradación que son codificadas por más de una cepa (AM, I, T y Bc-h), lo que es compatible con la redundancia funcional observada en estudios fisiológicos. La aplicación de RT-qPCR para evaluar la expresión de genes catabólicos de la degradación de fenantreno en la cepa AM indicó que en CS-1 hubo una reducción significativa de la expresión de los genes *Xyle* y *adhA1c*, que actúan en la vía baja de la degradación, con respecto al cultivo puro de la cepa AM, demostrando una menor participación de AM en la vía baja al formar un consorcio. A partir de los estudios funcionales de cepas aisladas y las herramientas ómicas, se generó un consorcio bacteriano sintrófico que mostró una alta eficiencia de degradación de PAH y que podría ser utilizado como inoculante para favorecer la biorremediación de suelos contaminados.

PRODUCCIÓN EN PLANTAS DE UN ANTÍGENO RELACIONADO A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EMPLEANDO UN VECTOR VIRAL INDUCIBLE

Jessica Andrea Acevedo Restrepo M.sc. y Dr. Sergio Rosales Mendoza

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO. FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la patología neurodegenerativa más común. Los conglomerados de β -amiloide ($A\beta$) desempeñan un papel clave en la formación de placas seniles en la EA. El receptor de los productos finales de glicación avanzada (RAGE) se considera una molécula importante en el desarrollo y la progresión de la EA, ya que transporta $A\beta$ hacia el sistema nervioso central (CNS), lo que favorece la progresión de la patología. Debido a la falta de disponibilidad de terapias efectivas para la EA existe una exploración extensiva para el desarrollo de terapias, entre las que la vacunación es considerada una alternativa prometedora. Previamente nuestro grupo de investigación realizó experimentos para producir un inmunógeno basado en RAGE (LTB-RAGE) en las células vegetales, con la finalidad de iniciar el desarrollo de un modelo de vacuna atractivo en términos de costos y la viabilidad de realizar inmunización vía oral. Dado que la expresión de antígeno condujo a efectos deletéreos en la planta, la en la presente tesis se desarrolló un sistema de expresión inducible por el etanol a fin de superar los efectos tóxicos de LTB-RAGE. Este sistema permite la generación de replicones virales basados en geminivirus a partir de inserciones estables de ADN heterólogo, lo que potencia la capacidad de expresión. Este sistema de expresión combina la capacidad de expresión alta de los replicones virales, con la expresión inducible que es crítica cuando la proteína de interés es tóxica para la planta. El sistema permitió la expresión exitosa de LTB-RAGE, detectada por Western blot tras la inducción por etanol. Por lo tanto, la proteína LTBRAGE conserva su actividad antigénica y puede ser producida mediante esta estrategia que permite desfasar la etapa de producción de biomasa de la expresión de la proteína tóxica. Este enfoque será útil para la producción de otros biofármacos en las plantas.

CARACTERIZACIÓN DEL VIROMA INTESTINAL HUMANO Y SU RELACIÓN CON LA OBESIDAD

Laura Avellaneda, Leonardo Moreno, Lance Boiling, Katrine Whiteson, Andrew Heath, Forest Rohwer, Jeffrey Gordon and Alejandro Reyes

**Grupo de Investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana,
Universidad de los Andes.**

Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes.

Trillones de microorganismos habitan el intestino humano por medio de una relación mutualista que permite mantener la homeostasis del intestino contribuyendo al bienestar del hospedero. Alteraciones en la abundancia de estas poblaciones pueden generar disbiosis intestinal e incluso causar enfermedades. Por ejemplo, se ha visto una disminución en la diversidad bacteriana acompañada de una expansión de virus de la familia de los Caudovirales en personas con enfermedades asociadas a inflamación intestinal. Los virus son las poblaciones más abundantes en el intestino y poco sabemos de su composición (viroma) y su relación con enfermedades como la obesidad. El objetivo de este estudio fue caracterizar el viroma intestinal y evaluar su posible asociación con la obesidad. Para esto, muestras fecales de 22 familias compuestas de dos gemelas y su madre fueron obtenidas a los 0, 1 y 12 meses después del inicio del estudio. A partir de las muestras se realizó la extracción de partículas virales y sus ácidos nucleicos, los cuales fueron secuenciados usando la tecnología de secuenciación 454 FLX. Las lecturas obtenidas fueron filtradas por calidad y todo el ADN bacteriano remanente fue eliminado. Posteriormente, se ensamblaron las lecturas limpias y se predijeron ORFs a partir de estas. Las lecturas, los contigs y los ORFs predichos fueron usados para realizar la anotación taxonómica y funcional. Finalmente, se construyeron tablas de conteo de abundancia de los contigs y los ORFs por muestra para poder calcular los índices de diversidad, buscar marcas que diferencien subgrupos de la población (por ejemplo, entre familias) y encontrar virus que estén presentes en al menos el 50% de los individuos. Entre los resultados más significativos encontramos que: i) el viroma intestinal se encuentra predominado por fagos (virus que infectan procariotas), ii) el 80% del los virus intestinales son desconocidos, existe una marca individual y familiar en el viroma intestinal, iii) los virus presentes en al menos el 50% de los individuos son fagos que tienen como potenciales hospederos Bacteroides y Firmicutes y el perfil de abundancias virales de personas delgadas tuvo un cambio significativo en el tiempo. Con lo anterior podemos concluir que el estudio de las poblaciones virales del intestino humano es una herramienta muy útil para mejorar nuestro entendimiento de estas comunidades y su relación con enfermedades.

PRESENTACIONES PÓSTER

DISPOSITIVO DE MICROFLUIDOS PARA EL ESTUDIO DE ENVEJECIMIENTO EN LEVADURAS

Acosta Huertas Ivón Manuela, Durán, D.C.Pedraza, J.M.
acostamanuela280@gmail.com

Universidad Distrital Francisco José de Caldas/ Universidad de los Andes

Introducción

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un organismo modelo utilizado para el estudio de envejecimiento en células eucariotas. El método tradicional con el que se estudia el envejecimiento usa micromanipuladores lo cual lo hace difícil y que consume mucho tiempo. Como alternativa a estos métodos tradicionales han surgido diferentes plataformas de microfluidos que simplifican este proceso. Sin embargo, todos estos métodos usan atrapamiento mecánico el cual ejerce presión sobre la célula. La presión en la célula puede afectar la expresión genética lo cual sesgaría los resultados de estos experimentos. Como alternativa, proponemos una plataforma que no use atrapamiento mecánico sino hidrodinámico. Este dispositivo debe lograr el objetivo de atrapar la célula progenitora pero dejar escapar las células hijas. Para lograr una trampa que atrape la célula progenitora y deje escapar la célula hija se necesita un ajuste muy preciso de los flujos. Para diseñar este dispositivo se hicieron simulaciones multifísicas con el fin de probar diferentes parámetros y seleccionar los óptimos. En este trabajo, presentamos los resultados de estas simulaciones y su aplicación experimental para el desarrollo de una plataforma que automatice las mediciones de envejecimiento en levaduras.

Materiales y Métodos

Simulaciones Multifísicas: Las simulaciones se realizaron usando COMSOL Multiphysics 4.3 con procesador Intel Core 2 Duo de 2 GHz y RAM 4GB y un sistema operativo de 64 bits.

Microfluidos: Se usaron técnicas estándar de fotolitografía para la fabricación del master y técnicas estándar de Soft-lithography para la elaboración del chip. Se inyectaron los fluidos usando una syringe pump Harvard Apparatus.

Microscopía: Se usó un microscopio Carl Zeiss invertido y adquisición automática de imágenes con Micromanager

Células: Se usaron levaduras *S. Cerevisiae* BY4741 crecidas en medio Synthetic Dropout con 2% glucosa

Resultados

Parámetros de Diseño: Se probaron diferentes geometrías y flujos y se encontró la combinación óptima para tener un diseño adecuado del dispositivo

Dispositivo de microfluidos: Se construyó un dispositivo de microfluidos para realizar mediciones dinámicas en levaduras a nivel de células individuales

Conclusiones

Se encontraron los parámetros óptimos para el dispositivo de microfluidos. Se construyó un sistema de microfluidos con los parámetros obtenidos de la simulación. Se atraparon células en el dispositivo con el fin de realizar las mediciones dinámicas

EVALUACION DEL EFECTO INHIBITORIO DE EXTRACTOS DE *Dysphania ambrosioides*, *Plantago major*, *Solanum nigrum*. SOBRE *Fusarium* spp. Y *Pseudomonas aeruginosa*.

Acosta Trujillo Daniela, Daniela Cuervo, Esperanza Obando, Jamileth Valencia
daniela.a.trujillo81@gmail.com

Universidad Santiago de Cali, Facultad de Ciencias Básicas, programa Microbiología

Diversos estudios han reportado la acción inhibitoria de los extractos vegetales frente a microorganismos fitopatògenos, convirtiéndolos en una alternativa al uso de plaguicidas tradicionales en el tratamiento de enfermedades en los cultivos de interés agrícola. El uso indiscriminado de plaguicidas en la agricultura ha impactado negativamente, no solo a la salud humana sino también a los sistemas abiòticos y biòticos del medio ambiente perturbando la fisiología de los microorganismos, dando lugar a nuevos brotes de plagas y a poblaciones de microorganismos resistentes a los productos fitosanitarios.

El objetivo de este estudio será la evaluación de la actividad inhibitoria de los extractos de *Dysphania ambrosioides*, *Plantago major*, *Solanum nigrum*, sobre *Fusarium* spp y *Pseudomonas* spp. como alternativa biológica que permitan el control y erradicación de microorganismos fitopatògenos.

Se prepararán extractos acuosos a diferentes concentraciones (20%, 50% y 70%) y se evaluará la actividad antimicrobiana para *Pseudomonas aeruginosa* utilizando el método de difusión en agar, usando el medio Mueller Hinton y para *Fusarium* spp. se empleará la técnica de evaluación de crecimiento radial del hongo en agar PDA envenenado.

Con el desarrollo de esta investigación se esperan resultados que evidencien una óptima capacidad inhibitoria de los extractos vegetales frente a los microorganismos evaluados, de tal manera que en un futuro se implemente su aplicación en el control de estos y otros microorganismos de interés agrícola.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE 3 MUTACIONES PUNTUALES SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA RECOMBINANTE FRUCTOSILTRANSFERASA DE *Aspergillus oryzae* N74

Alvarado Manuela, Manuela Alvarado Obando

manuela.alvarado@javeriana.edu.co

Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Los fructooligosacáridos (FOS) son los prebióticos más usados en la actualidad debido a sus propiedades benéficas para el sistema digestivo como estimular el crecimiento de microorganismos probióticos, mejorar la absorción de calcio y magnesio y disminuir los niveles de triglicéridos entre otros, se conoce que son producidos por la enzima fructosiltransferasa (FTasa) la cual genera moléculas de FOS de diferente longitud usando como sustrato principal la sacarosa realizando primero actividad hidrolítica, liberando glucosa y fructosa, esta última es usada para formar FOS por medio de su actividad transfructosilante. Actualmente la producción de esta enzima se realiza por medio del cultivo de hongos filamentosos especialmente del género *Aspergillus* proceso que representa grandes dificultades de escalado y reología, por lo que la producción heteróloga de esta enzima usando como sistema de expresión la levadura *Pichia pastoris* es una alternativa prometedora. Sin embargo, los rendimientos de FOS obtenidos con la enzima producida heterológamente aún son muy bajos. Con el fin de encontrar una alternativa para mejorar el rendimiento, en este trabajo se evaluaron 3 mutaciones puntuales las cuales por medio de estudios de acoplamiento molecular demostraron tener un efecto significativo sobre la afinidad de la enzima por los diferentes sustratos. Para esto, se expresaron las enzimas con las tres mutaciones y la enzima nativa en *P. pastoris* y se evaluó la actividad de estas a escala de 100 mL usando el método de glucosa oxidasa para determinar la actividad glucolítica y HPLC con una columna Aminex HPX-87C para determinar la actividad transfructosilante. Se encontró que la mutación V242E generó un aumento significativo en la actividad transfructosilante (0.17 UT/mL) ($P=1$) y una disminución significativa de la actividad glicolítica (5.48 UH/mL) ($P=1$), en comparación con la enzima sin mutaciones con la cual se obtuvieron actividades transfructosilante e hidrolítica de 0.13 UT/mL y 8.71 UH/mL, respectivamente. Teniendo en cuenta lo anterior, la enzima con la mutación V242E fue producida a escala de biorreactor de 1.7L, a pesar de que la actividad transfructosilante (0.8 UT/mL) fue mayor que la obtenida a escala de 100mL esta solo se mantuvo durante las primeras 4 horas de cultivo, mientras que la actividad a escala de 100 mL se mantuvo durante las primeras 12 horas de cultivo. Teniendo en cuenta los resultados, se concluyó que a pesar de que no todas las mutaciones estudiadas generaron un aumento en la actividad de la enzima, es posible diseñar enzimas de este modo para obtener mayores rendimientos de FOS.

PROTOCOLO PARA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ACUMULADORAS DE POLIHIDROXIALCANOATOS USANDO TÉCNICAS DE TINCIÓN, A PARTIR DE MUESTRAS PROVENIENTES DE LODOS ACTIVADOS.

Ávila León Iván Alejandro, Acosta, E. Fonseca, A. Jimenez, S. Sanchez, A. Luna, H. Avila, ivalejandro@uan.edu.co
Universidad Antonio Nariño, Facultad de Ingeniería Ambiental, Universidad Antonio Nariño.

Introducción: Los polihidroxicanoatos son polímeros producidos por bacterias, con gran potencial como sustituto de los polímeros derivados del petróleo y por lo cual contribuirían a reducir el impacto de los plásticos en los ecosistemas terrestres y acuáticos, por su biodegradabilidad. En ese contexto, se quiso identificar por medio de tinciones y medios de cultivo convencionales bacterias productoras de polihidroxicanoatos, provenientes de estaciones depuradoras aerobias de aguas residuales.

Metodología: Se tomaron muestras semanales de dos sistemas de lodos activados con diferentes inóculos: un lodo proveniente de una PTAR de industria láctea y otra con estiércol. Se diluyeron las muestras y se sembraron en Agar Nutritivo con Rojo de Nilo. Luego de incubar (30°C por 5 días), se buscaron colonias de color rosado tenue con fluorescencia a 320nm y se aislaron en un medio de cultivo con exceso de carbono. Después de 48h a 30°C se adicionó sobre los cultivos una solución alcohólica de Negro de Sudán, tiñendo de color negro azulado las colonias que acumulaban el biopolímero.

Resultados: Durante las 4 semanas de seguimiento se encontraron siete morfologías de colonias que se teñían con los colorantes en ambas pruebas, indicando posiblemente acumulación de polihidroxicanoatos. Todos los aislamientos fueron bacterias Gram positivas, predominando la morfología bacilar, con diferentes tamaños celulares y diferentes características macroscópicas; todos fueron positivos para la prueba de la enzima catalasa y apenas un aislado es formador de esporas. La mayoría de los aislados se obtuvo del lodo activado con inóculo de la PTAR.

Conclusiones: Con el protocolo utilizado es posible hacer un tamizaje de bacterias con potencial para la producción de biopolímeros, usando medios de cultivo y colorantes convencionales. Los microorganismos encontrados pueden pertenecer al género Bacillus, el cual es un conocido acumulador de polihidroxicanoatos. En las próximas etapas se identificarán las especies y se evaluarán diversos sustratos para la producción de los biopolímeros.

ESTUDIO DEL EFECTO CITOTÓXICO Y MOLECULAR DE LA TERAPIA TÉRMICA CONTRA EL CÁNCER USANDO UN CONJUGADO DE GRAFENO Y ÓXIDO DE HIERRO

Barrera Garzón Claudia Camila¹, Diana M. Narváez N^{1.}, Helena Groot de Restrepo¹,
Watson L. Vargas²

cc.barrera1103@uniandes.edu.co

¹Laboratorio de Genética Humana, Universidad de los Andes

²Director de Innovación - Medic Ware

El grafeno es un nanomaterial con múltiples propiedades físicas y químicas entre las que sobresale su elevada conductividad térmica, capacidad que muchos han adaptado en la terapia térmica contra el cáncer. Aunque tanto la caracterización del material como la eficiencia del tratamiento han sido ampliamente descritas, los efectos celulares y moleculares de estos han tenido poca atención. En este sentido, el objetivo de este estudio fue evaluar la biocompatibilidad de un conjugado de grafeno y óxido de hierro, determinar su efectividad en la terapia térmica contra el cáncer y establecer el efecto del tratamiento a nivel molecular.

Para esto, se usaron células cancerígenas HeLa como modelo biológico in vitro, expuestas a diferentes concentraciones del conjugado entre 10-1000 µg/mL para posteriormente evaluar la citotoxicidad mediante ensayos con azul de tripano y pruebas estandarizadas con MTT y calceína. La efectividad del tratamiento fue determinada usando dos concentraciones del conjugado (50 y 100 µg/mL) que en conjunto con el cultivo celular fueron expuestos a radiación láser (804 nm, 1 W/cm²) por 5 minutos para posteriormente evaluar la viabilidad con MTT. El efecto molecular de la terapia térmica fue determinado mediante ensayos de qPCR en los que se cuantificó la expresión de mRNA de dos proteínas con actividad anti-apoptótica (Hsp70 y Bcl-2) tras el tratamiento a las mismas condiciones previamente descritas.

Los resultados de los ensayos de citotoxicidad evidencian un decrecimiento en la viabilidad celular en relación con el incremento de la concentración del nanomaterial, así como la interferencia del mismo según el tipo de ensayo. No obstante, todas pruebas coinciden en un decrecimiento acelerado de la viabilidad al usar concentraciones superiores a 100 µg/mL. Por su parte, la terapia térmica fue capaz de reducir la viabilidad de las células al 32.6% y 23.7% con 50 µg/mL y 100 µg/mL del conjugado respectivamente. Finalmente, se evidencia una sobreexpresión significativa ($\alpha = 0.05$) de la proteína Bcl-2 en relación al incremento de la concentración del nanomaterial, y una sobreexpresión mantenida de la proteína Hsp-70 como respuesta al estrés térmico y la evasión inicial a la apoptosis.

Se puede concluir que los estudios de citotoxicidad del conjugado de grafeno-óxido de hierro mediante los tres métodos seleccionados demostraron que la viabilidad celular disminuye por efecto del aumento de la concentración del nanomaterial. No obstante, el hallazgo de concentraciones inocuas del conjugado, así como la reducción de la viabilidad a porcentajes inferiores al 33% permiten suponer que este es un método prometedor para aplicaciones biomédicas. Por su parte, la terapia térmica demuestra tener un efecto en la sobreexpresión de proteínas anti-apoptóticas como mecanismo de defensa inicial a la terapia. Sin embargo, se requieren estudios adicionales que incluyan proteínas pro-apoptóticas, así como monitorear la expresión tiempo después del tratamiento.

BIOPROSPECCIÓN DE MICROORGANISMOS HIDROLÍTICOS EN AGUAS RESIDUALES NO DOMÉSTICAS DE INDUSTRIA FARMACÉUTICA: UNA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO BIOLÓGICO.

Bautista Duarte Paola Andrea*, Pramparo Laura
*u7700111@unimilitar.edu.co
Universidad Militar Nueva Granada.

El impacto de las Aguas Residuales no Domésticas sobre los cuerpos de agua cada día es más preocupante puesto que ingresan a los ecosistemas diferentes compuestos orgánicos persistentes que no son fácilmente asimilados por la flora y fauna, y en ocasiones los contaminantes pueden biomagnificarse o bioacumularse causando desequilibrios a nivel ecológico. El aumento de la población, junto al incremento en dolencias físicas, hace que la demanda y consumo de Antiinflamatorios No Esteroides (AINE) se haya acrecentado en los últimos años. Por lo anterior, es frecuente que sustancias como Acetaminofen, Ibuprofeno, Ketoprofeno, Meloxicam, Diclofenaco, entre otros, se estén detectando en cuerpos de agua superficiales y sean considerados actualmente como contaminantes emergentes, de difícil asimilación por parte de los ecosistemas. Las plantas de tratamiento para Aguas Residuales no Domésticas (ARnD) están diseñadas para procesos de remoción de materia orgánica, nutrientes, o metales pesados, ya que son las sustancias que están reglamentadas por la legislación nacional, y que han sido de preocupación por su impacto en el ambiente. El uso de procesos biológicos permite que, según el tipo de industria, la remoción de dichas sustancias sea más eficiente con respecto a los tratamientos convencionales. En este trabajo se realizó un monitoreo microbiológico en tres puntos del sistema de tratamiento para la detección de microorganismos en placa de los grupos: heterótrofos, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, y coliformes en muestras de ARnD en una planta de producción de AINE. Se evidenció la presencia de 82 morfotipos diferentes, de los cuales, el 38,9% presenta alguna actividad hidrolítica en medios de cultivo como agar almidón, agar skim milk o agar suplementado con tween 80 (lipolítica, amilolítica o proteolítica); adicionalmente, se encontraron 85 morfotipos con características macroscópicas diferentes, que al ser sembrados en medio mínimo de sales, suplementado con acetaminofén, ibuprofeno, diclofenaco o meloxicalm, a una concentración de 50 ppm, pueden ser resistentes a AINE y el 82% de estos los utilizan como fuente de carbono y energía, convirtiéndose en una posible alternativa para la formulación, a futuro, de un consorcio que pueda ser implementado en un sistema de tratamiento biológico de ARnD en la industria farmacéutica y evitar el ingreso de estos contaminantes emergentes en cuerpos de agua que puedan ser usados para la fabricación de aguas potables.

LA INMUNIZACIÓN CON rOMPL1 INDUCE PROTECCIÓN AL DESAFÍO CON *Leptospira* spp.

Beltrán Óscar Gabriel, Óscar Gabriel Beltrán, Carlos Eduardo Alonso, María Camila,
Alejandro Caro Quintero

oscar.beltran@hotmail.com

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-Agrosavia

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, con distribución mundial, causada por miembros del género *Leptospira*, los cuales se adquieren por traumas en la piel o la ingesta de agua o alimento contaminado. Las vacunas disponibles se componen por aislamientos locales inactivos. Sin embargo, sólo confieren inmunidad a corto plazo frente a los serovares incluidos en las preparaciones. Las OMP han despertado gran interés para desarrollar vacunas contra la leptospirosis por su capacidad inmunogénica y en algunos casos su alta conservación. La proteína OMPL1 es una porina de 320 residuos presente en las especies patógenas, la cual participa en la interacción e invasión al tejido del hospedero. El objetivo de este trabajo fue revisar antecedentes de efectividad de la proteína recombinante OMPL1 para proteger animales vacunados al desafío con *Leptospira*. Se realizó una búsqueda bibliográfica en PubMed, Google Académico y Mendeley con las palabras clave “*Leptospira*”, “Leptospirosis”, “vaccine”, “immunization” “immunogen”, “antigen” & “ompL1”; en el título o en el resumen, estado publicado, restringida a los últimos 20 años, publicados en inglés y español, texto completo y libre consulta; la búsqueda fue enfocada en antecedentes del uso de la proteína recombinante OMPL1 en inmunizaciones y posteriores desafíos. Se identificaron 101 documentos de los cuales 11 fueron excluidos por duplicidad y 14 por no estar relacionados. Se seleccionaron publicaciones de casos y controles de vacunación con rOMPL1 en diferentes modelos animales, teniendo como desenlace de interés la supervivencia al desafío con *Leptospira* spp. para finalmente incluir seis documentos en la síntesis cuantitativa. Los resultados de supervivencia de animales inmunizados muestran un riesgo de muerte 9,51 veces mayor en los animales no inmunizados. La media de supervivencia de los animales inmunizados fue de 63,65% [317/498], con un P50=73,33 para formulaciones polivalentes y P50=50 para monovalentes. Se reportó que los animales inmunizados con formulaciones polivalentes a partir de *L. kirschneri* sv Grippotyphosa st RM52 y *L. interrogans* sv Icterohaemorrhagiae st RGA, tuvieron protección de hasta el 100% al desafío homólogo; de igual manera, una formulación monovalente a partir de *L. interrogans* sv Autumnalis st Lin4 reporta supervivencias de hasta el 87,5% al desafío homólogo. Los resultados de las inmunizaciones monovalentes muestran una diferencia de 4,7% entre los desafíos homólogos 49,1% (59/120) y los desafíos heterólogos 44,4% (56/126), ($X^2= 0.55057$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.4581$); por lo cual se considera que la inmunización monovalente con rOMPL1 es capaz de inducir inmunidad cruzada.

Los antecedentes de inmunización muestran que la proteína OMPL1 es un candidato potencial para hacer parte de una vacuna polivalente. Sin embargo, deben evaluarse adyuvantes potencien su capacidad inductora.

DISEÑO DE UN MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS FOSFATO SOLUBILIZADORAS PRODUCTORAS DE ÁCIDOS ORGÁNICOS

Andrea Blanco-Vargas^{1*}, Lina María Rodríguez-Gacha², Natalia Sanchez-Castro², Aura M. Pedroza-Rodríguez², Raúl A. Poutou-Piñales³, Lucia Ana Díaz-Ariza⁴

¹. E-mail: blancoy@javeriana.edu.co

²Laboratorio de Microbiología Ambiental y de Suelos. Unidad de Investigaciones Agropecuarias (UNIDIA). Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., Colombia.

³Laboratorio de Biotecnología Molecular. Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI). Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., Colombia.

⁴Laboratorio Asociaciones suelo, planta microorganismos (LAMIC). Grupo de Investigación en Agricultura Biológica. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., Colombia.

Introducción:

El fósforo (P) es uno de los macronutrientes más importantes requerido para el desarrollo, crecimiento y la formación de semillas en las plantas ya que está involucrado en procesos como la fotosíntesis, respiración, almacenamiento y transferencia de energía (Solangi *et al.*, 2016). Aunque la mayoría de los suelos agrícolas poseen gran cantidad de fósforo orgánico e inorgánico, éste se inmoviliza con compuestos como Fe^{3+} , Al^{3+} y Ca^{2+} convirtiéndose en no disponible para las plantas (Jog *et al.*, 2014). Para la fertilización de los cultivos, en los últimos años se ha incrementado sustancialmente la explotación de minerales industriales como la roca fosfórica (RP) ya que está compuesta por uno o más minerales fosfáticos, con la suficiente pureza para ser explotados económicamente y se utilizan como fuente de fosfato de calcio y fósforo para la producción de fertilizantes artificiales (Oliveira *et al.*, 2013). El uso de roca fosfórica para la fertilización de los cultivos es una práctica eficaz y sostenible, cuyos efectos positivos sobre las plantas pueden aumentarse a través del uso de bacterias fosfato solubilizadoras (BPS) ya que han sido reconocidas por su capacidad para solubilizar el P por medio del mecanismo de producción de ácidos orgánicos (Patiño & Sánchez, 2013; Wei *et al.*, 2018). Es probable que el uso de BPS para mejorar de la productividad agrícola sea una de las estrategias más importantes para la agricultura en el mundo actual, principalmente debido al requerimiento de reducir la dependencia de fertilizantes químicos y la necesidad de un desarrollo agrícola sostenible (Nogueira *et al.*, 2017). Con el fin de potenciar la actividad microbiana en suelos agrícolas, desde hace varios años se han producido bioinoculantes a base de bacterias que presentan capacidad fosfato solubilizadora (Chen *et al.*, 2006; Pande *et al.*, 2017). Sin embargo, para lograr alta producción de biomasa microbiana y ortofosfatos, es necesario diseñar un medio químicamente definido, mediante en el estudio de variables independientes como concentración de nutrientes, agitación y temperatura, que tienen efecto sobre variables dependientes como la producción de biomasa y ortofosfatos (Angulo *et al.*, 2012).

Objetivo:

Diseñar un medio de cultivo para la producción de biomasa y orto fosfatos a partir de bacterias fosfato *solubilizadoras* aisladas de cultivos de *Allium cepa*.

Materiales y métodos:

A partir de muestras de suelo de cultivos de *Allium cepa* se realizó aislamiento y selección de bacterias fosfato solubilizadoras (BFS) en agar SMRS1 modificado con roca fosfórica (RP), las cuales fueron sometidas a pruebas de antagonismo para determinar su potencial para la conformación de un consorcio. Posteriormente, se realizó un diseño experimental Plackett-Burman para evaluar el efecto de cada uno de los componentes del medio de cultivo y las condiciones de operación sobre la producción de biomasa y ortofosfatos. Finalmente se realizó una curva de crecimiento y producción de ortofosfatos para determinar el mejor tiempo de producción.

Resultados:

Se seleccionaron tres bacterias fosfato solubilizadoras Gram negativas identificadas como *Pseudomonas koreensis*, *Serratia liquefaciens* y *Kosakonia cowanii*, cuya producción de orto fosfatos fue de 90 mg/L en consorcio al cabo de 72 horas. De acuerdo con el análisis ANOVA para el diseño experimental Plackett-Burman, el factor que tuvo efecto significativo sobre la producción de biomasa y orto fosfatos ($p < 0,05$), fue el tiempo, y la formulación del medio que generó la mayor producción de biomasa y orto fosfatos ($p < 0,05$) fue el T11B que contenía 5.0 g/L de roca fosfórica, 2.5 g/L de glucosa grado alimentario, 0.5 g/L de hidrolizado de levadura cervecera, operando a 200 rpm durante 12 horas y con inóculo del 10% (v/v), obteniéndose valores de biomasa de 2×10^7 UFC/mL y ortofosfatos de 80.2 mg/L.

Conclusión:

Se determinó que el medio T11B, fue ideal para la producción de biomasa y orto fosfatos a partir del consorcio de cepas evaluado usando componentes económicos.

PREDICCIÓN DE PROFAGOS EN GENOMAS BACTERIANOS A PARTIR DE SEÑALES NUCLEOTÍDICAS

Camelo Valera Laura Carolina, Alejandro Reyes

lc.camelo10@uniandes.edu.co

Universidad de los Andes (BCEM)

Las tecnologías de secuenciación de nueva generación han permitido un incremento exponencial en la cantidad y disponibilidad de secuencias de ADN en base de datos públicas. Entre ellas, se ha observado un incremento significativo en la cantidad de secuencias virales, en particular de virus que infectan bacterias o bacteriófagos, dada la gran diversidad de este grupo. No obstante, el análisis de metagenomas virales aun sigue siendo un gran reto, debido al desconocimiento de una alta proporción de estas secuencias, y que dada la estrecha relación hospederero-parásito resulta complejo discriminar entre las secuencias de la bacteria y del fago. Las metodologías para la identificación de bacteriófagos en genomas bacterianos comprenden dos categorías: dependientes e independientes de homología. Puesto que esta última permite encontrar nueva información viral, el presente estudio tiene como objetivo determinar señales nucleotídicas informativas para la identificación de profagos en genomas bacterianos usando señales de sesgo de oligonucleotidos.

Para el cumplimiento de este objetivo, se usaron 3535 genomas bacterianos y 1448 genomas de fagos del orden Caudovirales con el fin de calcular el sesgo en el uso de oligonucleótidos basado en la frecuencia observada de dicho k-mero ($K=2,3,4$ o 6) respecto a su frecuencia esperada. Posteriormente se usó el estadístico de wilcoxon para identificar aquellos k-meros que son discriminativos entre fagos y bacterias, y para definir si la distribución de sesgos de uso de oligonucleotidos de la bacteria era mayor o menor respecto al fago que la infecta se calculó la distancia entre los sesgos usando el coeficiente de Hodges-Lehman.

A partir de una visualización de los resultados se observó que existen algunos oligonucleotidos para los cuales el sesgo en los genomas bacterianos es diferente de la distribución de sesgos en el fago. Estos k-meros se lograron identificar para cada familia bacteriana y pueden usarse como señales para predecir secuencias virales dentro de genomas bacterianos. Para estos, se visualizó la distribución de sesgos a lo largo de genomas bacterianos que tuviesen profagos intactos predichos por PHASTER, a partir de lo cual se logró evidenciar señales cercanas a la región del fago. Ahora bien, con base en estos resultados se espera usar técnicas de aprendizaje de máquinas que permitan reconocer estas regiones a lo largo de los genomas bacterianos y combinándolos con otros parámetros de dicha región, poder clasificarlos como profagos. Para validar el método se espera diseñar curvas de desempeño (ROC) para comparar la precisión y la exactitud de este método respecto a otros ya publicados y con base en los resultados optimizar su desempeño.

PERFILADO METABÓLICO POR RMN COMO ESTRATEGIA PARA LA PRIORIZACIÓN DE BACTERIAS MARINAS CON ACTIVIDAD PARA EL CONTROL DE AGENTES FITOPATÓGENOS

Cárdenas Martínez Juan David¹, Moreno-Sarmiento Nubia², Castellanos Leonardo¹, Ramos Freddy A.¹

judcardenasma@unal.edu.co

¹Grupo de estudio y aprovechamiento de productos naturales marinos y frutas de Colombia, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.

²Grupo de Bioprocesos y bioprospección, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá

La producción mundial de cultivos se ve fuertemente afectada por las enfermedades producidas principalmente por agentes fitopatógenos, por lo que su control es una prioridad para el sector agrícola. Los microorganismos como bioinsumos ofrecen una alternativa que presenta un menor impacto sobre el ambiente en comparación con los plaguicidas de origen sintético. En la búsqueda de microorganismos biocontroladores, los microorganismos marinos son una opción novedosa debido a su capacidad de producir metabolitos con una amplia actividad antimicrobiana.

En este trabajo se presenta la evaluación de la actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos de 104 aislamientos de bacterias recuperadas de ambientes marinos, así como el perfilado metabólico de las cinco bacterias más activas en el ensayo mencionado, como estrategia para priorizar al menos una de estas cepas para el estudio de su producción de compuestos bioactivos. La evaluación de los sobrenadantes de los aislamientos bacterianos frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi (patógeno de clavel) y *Colletotrichum gloeosporioides* (patógeno del ñame), permitió seleccionar 28 bacterias por su actividad contra al menos uno de los patógenos, de las cuales 11 fueron activas contra los dos fitopatógenos y 5 de estas últimas también mostraron actividad contra *F.oxysporum* f. sp. lycopersici. (patógeno de tomate); *B.glumae* y *B.gladioli* (patógenos de arroz). Se realizó el perfilado metabólico de los extractos orgánicos y acuosos de los aislamientos PNM 68, 163B, 172, 201 y 210 cultivadas en medio LB. Los análisis de componentes principales (PCA) y de agrupamiento jerárquico (HCA) mostraron que los extractos orgánicos de PNM 68 y 172 presentaron las mayores diferencias en el perfil metabólico con respecto al medio de cultivo, a la vez que mostraron ser activos contra *F.oxysporum* f. sp. dianthi.

Este trabajo muestra el potencial que tienen los microorganismos aislados de ambientes marinos como una opción para el control de microorganismos fitopatógenos y la utilidad de usar estrategias integradas como criterio de selección de muestras para un posterior estudio de la composición química de sus extractos.

META-ANÁLISIS BACTERIANO DE LA MICROBIOTA DEL CIEGO DEL POLLO

Chica Cárdenas Luis Alberto^{1,2}, Viviana Clavijo³, Martha Vives³, Alejandro Reyes^{1,2}
la.chica10@uniandes.edu.co

¹Grupo de Investigación en Biología Computacional y Ecología Microbiana, Universidad de los Andes.

²Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes.

³Centro de Investigaciones Microbiológicas, Universidad de los Andes.

Gracias a los elevados índices de producción alrededor del mundo, la industria avícola es considerada como la mayor fuente de obtención de proteína animal, lo cual está asociado principalmente a la alta eficiencia en la conversión de comida a masa muscular, en donde el peso en alimento que es ingerido por un animal es duplicado en forma de carne al final del ciclo de producción. Dichas tasas de producción están relacionadas en gran medida con la salud del animal y el tamaño de la superficie de absorción en el tracto gastrointestinal, los que a su vez son altamente influenciados por la microbiota presente en dichas zonas. A raíz de la alta variabilidad de la microbiota que habita el tracto gastrointestinal, y principalmente la zona correspondiente al ciego, una gran cantidad de estudios se han concentrado en analizar las comunidades bacterianas presentes, los factores que influyen en su variabilidad y las consecuencias que dichos cambios pueden ejercer en la fisiología de los animales. Sin embargo, la cantidad de datos que existen actualmente para comparar el efecto de determinada condición en la microbiota son limitados, por lo que el objetivo de este estudio se basa en generar un modelo de comparación robusto, utilizando un gran número de muestras y teniendo en cuenta diferentes condiciones y metadatos. Las secuencias utilizadas para este análisis fueron obtenidas mediante la secuenciación del gen del 16S rRNA, descargadas de la base de datos del SRA y posteriormente separadas en tres sets de datos. Mediante la utilización de diversos softwares bioinformáticos se realizó la limpieza de las secuencias, y los análisis de alfa y beta diversidad. A su vez, la asignación taxonómica de las bacterias presentes fue reportada comparando con la base de datos de Greengenes. Finalmente, las bacterias comunes para el 50 y 80% de las muestras fueron reportadas. La asignación taxonómica a nivel de phylum, reveló la predominancia de Firmicutes, Bacteroidetes y Proteobacterias en la mayoría de las muestras analizadas. Después de analizar los valores de alfa diversidad mediante el índice de Shannon, se comprobó que factores como el tipo de pollos y la región del 16S secuenciada tienen una influencia mínima en la diversidad. A nivel de género, 29 bacterias se reportaron como comunes para al menos el 50% de las muestras, las cuales están altamente relacionadas con la degradación de celulosa y la generación de ácidos grasos de cadena corta, involucrados principalmente en el aumento de la superficie de absorción. A pesar de los múltiples parámetros tenidos en cuenta para este estudio, se logró identificar géneros bacterianos comunes para un gran número de muestras, los cuales son una base importante a la hora de realizar análisis futuros que puedan tener impacto en la composición bacteriano.

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN TUBOS OROTRAQUEALES Y DESARROLLO DE NEUMONÍA ASOCIADA A VENTILADOR EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS (UCI) EN BOGOTÁ.

Cifuentes Castro Erika Alejandra^{1,2}, María Mercedes Zambrano¹, Margarita Baldi3n³, José Antonio Rojas⁴, Carlos Arturo Álvarez⁴, Mónica Gabriela Huertas^{1,2}

erale90@gmail.com

¹Corporación Corpogen, ²Universidad el Bosque

³Fundación Santa Fé de Bogotá, ⁴Clínica Universitaria Colombia

Introducción:

La neumonía asociada a ventilador (NAV) es una de las infecciones con mayor incidencia en la UCI médica en Colombia (3,4 casos por 1000 días de ventilador mecánico) (INS, 2017). La flora bacteriana juega un papel importante en el desarrollo de estas infecciones, debido a la capacidad de colonizar y formar biopelículas sobre los tubos orotraqueales de los pacientes en UCI, lo cual puede estar asociado con el desarrollo de NAV. Este trabajo hace parte de un proyecto mayor que busca conocer la diversidad microbiana de biopelículas en tubos orotraqueales en la población colombiana, lo que permitirá a futuro evaluar las opciones terapéuticas actuales en estos pacientes.

Materiales y métodos:

Se recolectaron 76 tubos orotraqueales de pacientes con tiempo de intubación mayor a 48 horas. Se tomaron 10 cm de la parte inferior distal del tubo para hacer cultivo de microorganismos comunes para posterior identificación por el sistema automatizado Vitek. Se determinó la capacidad para formar biopelícula para los aislamientos obtenidos del grupo ESKAPE. Se realizaron cultivos O/N (18 h, 180 rpm, 37°C) que se inocularon en placas Falcon de 96 pozos en una dilución 1/150, se incubaron (24h a 37°C) y se cuantificó la biopelícula formada usando cristal violeta. Las cepas se clasificaron como productoras (fuertes productoras y moderadas) y como no productoras de biopelícula (débiles productoras y no productoras) (Stepanovic, 2007). Para cada ensayo se realizaron 2 réplicas biológicas y 3 técnicas. Para determinar la asociación entre la formación de biopelícula y el desarrollo de NAV se utilizó el Test exacto de Fisher, se consideró estadísticamente significativo $p < 0,05$.

Resultados:

En el 69,7% de los tubos orotraqueales recolectados se aislaron bacterias pertenecientes al grupo ESKAPE, siendo *Klebsiella pneumoniae* (36,8%) la más frecuentemente aislada, seguida por *Escherichia coli* (19,5%), *Staphylococcus aureus* (13,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (12,6%), *Acinetobacter baumannii* (2,3%) y *Enterococcus faecium* (1,1%). En cuanto a la formación de biopelícula se encontró que *K. pneumoniae* es la bacteria que tuvo mayor capacidad de formar biopelícula, en donde el 31,4% de las cepas evaluadas fueron fuertes productoras de biopelícula. El 20,7% de los pacientes de los cuales se recuperaron bacterias del grupo ESKAPE desarrollaron NAV; se encontró que existe asociación estadística entre la formación de biopelícula y el desarrollo de NAV ($p=0,037$).

Conclusión:

La formación de biopelículas en tubos orotraqueales se encuentra asociada con el desarrollo de NAV; esta asociación puede estar dada debido a que *K. pneumoniae* fue el microorganismo que se recuperó con más frecuencia y en el cual se evidenció fuerte producción de biopelícula.

VIABILIDAD DE *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* DURANTE EL PROCESO DE VERMICOMPOSTAJE EN DIFERENTES MEZCLAS DE RESIDUOS ORGÁNICOS

Clavijo Gutiérrez Andrea Paola, Andre¹, Daniel Ricardo Guzmán Manosalva¹, Angela Sandoval², Nadia Yurani Luque Sanabria², Mauricio Soto-Suarez²

aclavijo@corpoica.org.co

¹Centro de investigación La Selva - Km7 vía Llanogrande- Las Palmas, Rionegro. Antioquia. Colombia

²Centro de investigación Tibaitatá - Km14 vía Mosquera, Cundinamarca. Colombia

El estudio de los componentes microbiológicos del suelo ha ganado importancia gracias a su potencial en el manejo de enfermedades en cultivos de interés agrícola. Es así, como la elaboración y aplicación de enmiendas orgánicas al suelo que proporcionan un mayor contenido de materia orgánica y aumentan la diversidad microbiana, son de interés para el control de fitopatógenos como *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Fol). Con el objetivo de determinar si el proceso de vermicompost tiene un efecto negativo en la viabilidad de Fol, se evaluaron nueve mezclas de residuos orgánicos, las cuales estaban compuestas de diferentes combinaciones de estiércoles, residuos de cultivo de tomate y maíz, borra de café, hojas de plátano y hojarasca en el proceso con lombriz californiana (*Eisenia fetida*), en el laboratorio de microbiología agrícola de Agrosavia (C.I Tibaitatá). Aproximadamente 500g de cada mezcla que contenían 50 lombrices, fueron inoculados con la cepa de Fol Fut60 (50ml-1x10⁶ con/mL). Se incluyeron como controles mezclas sin inocular e inoculadas sin lombrices. La viabilidad de Fol se determinó por conteo de UFC cada 15 días durante ocho semanas, diluyendo 2g de cada mezcla en agua destilada estéril y cultivando diluciones seriadas en medio PDA con cloranfenicol. Durante el proceso de vermicompostaje no se recuperó Fol en 7 mezclas a partir de los 30 a 60 días de evaluación. Con respecto a los controles inoculados sin lombrices, se recuperó Fol en 7 mezclas hasta los 60 días, donde se observó disminución en las UFC en algunas de las mezclas a los 45 días, evidenciando que el proceso de vermicompostaje acelera la supresión del patógeno. Las materias primas comunes presentes en las mezclas más eficaces fueron residuos de cultivo de tomate, gallinaza y bovinaza. Es posible que el mantenimiento y/o aumento de la diversidad microbiana durante el vermicompostaje resulte en un establecimiento de microorganismos antagonistas de Fol y el paso por el tracto digestivo de *E. fetida* reduzca aún más su viabilidad, ambas hipótesis están siendo probadas en nuestro laboratorio. Estos resultados muestran la utilidad del tratamiento de residuos orgánicos a través de vermicompostaje para controlar patógenos del suelo como Fol, y permitirán seleccionar mezclas para evaluar la aplicación de vermicompost como alternativa de manejo de *Fusarium oxysporum* en el modelo de cultivo de tomate.

SEGUIMIENTO MICROBIOLÓGICO DEL PROCESO DE COMPOSTAJE DE BIOSÓLIDOS PROCEDENTES DE LA PTAR DE LA CIUDAD DE TUNJA, BOYACÁ

Cuellar Rodríguez Luz Angela, Arley Munevar , Mónica Díaz P , Pedro Acosta
luz.cuellar@usantoto.edu.co
Universidad Santo Tomás, Seccional Tunja (grupo de Investigación ACBI)

Este proyecto se desarrolló en la planta de tratamiento de agua residual del municipio de Tunja- Boyacá, la cual se encuentra al nor-orientado de la ciudad; la PTAR produce 3 toneladas diarias de biosólidos entéricos. El principal objetivo de este proyecto es presentar un seguimiento de los cambios en las poblaciones microbiológicas del proceso de compostaje de los biosólidos procedentes de la PTAR de Tunja para lo cual, inicialmente se realizó el diseño de las pilas de compostaje con un volumen de 3 metros cúbicos en una relación 60/40 de lodo y residuos de caña como material de enmienda respectivamente; posterior a esto, se realizó la caracterización macroscópica y microscópica, mediante la aplicación, de técnicas de dilución seriada, en medios de cultivo selectivos y técnicas de microscopia y macroscopia de microorganismos patógenos y benéficos, teniendo en cuenta la Norma Técnica Colombiana (NTC 4491-2) sobre procedimientos microbiológicos, identificando las especies presentes en cada una de las etapas del proceso de compostaje. Las especies bacterianas presentes en el inicio del proceso que fueron identificadas corresponden a los géneros: Enterobacter, Escherichia, Morganella, Proteus, Pseudomonas, Arthrobacter, Pseudomonas, Bacillus, Arthrobacter, Micrococcus. De igual manera se registraron 4 géneros de hongos (Aspergillus, Cladosporium, Penicillium y Rhizopus), dichas poblaciones fueron desplazadas al final del sistema de compostaje dado un proceso de sucesión natural de poblaciones de microorganismos que difieren en sus características nutricionales (quimio-heterótrofos y quimioautótrofos), algunas especies identificadas al final del proceso corresponden a los géneros: Cellulomonas, Thiobacillus, Aerobacter y en hongos Fusarium, Aspergillus entre otros. Estos resultados permiten concluir que la actividad bacteriana encontrada en el proceso de compostaje es la que permite la aceleración de la degradación de materia orgánica, así como la disminución de bacterias patógenas del lodo residual; la dinámica poblacional bacteriana depende de la interacción compleja de factores tanto físicos y químicos y de operaciones en el proceso de degradación así como de factores de temperatura, relación C/N, aireación, humedad y pH. Es importante resaltar que la aplicación de material de enmienda como el residuo de caña permite reducir el tiempo de retención en el proceso de compostaje, disminuyendo los costos de operación y manejo de dichos lodos.

BÚSQUEDA DE NUEVAS UNIDADES TRANSCRIPCIONALES RELACIONADAS CON RESISTENCIA A RADIACIÓN UV EN *Deinococcus swuensis* AISLADO DE PÁRAMO

Díaz Riaño Jorge Iván^{1,2} , Anzola, Juan Manuel¹ , Reyes Alejandro^{1,2,3}

ji.diaz1@uniandes.edu.co

¹Corporación Corpogen, Bogotá, Colombia, ²Grupo de investigación en biología computacional y ecología microbiana, Departamento de ciencias biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, ³Grupo Tandem en biología computacional MaxPlanck, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, ⁴Center for Genome Sciences and Systems Biology, Washington University School of Medicine, Saint Louis, MO, USA.

Las tecnologías de secuenciación de nueva generación se han convertido en una herramienta poderosa usada en la definición más precisa de operones, anotación correcta de genes, descubrimiento de nuevos RNAs reguladores y para la identificación de nuevos elementos regulatorios en análisis de transcriptomas con una alta resolución – a nivel de nucleótido-. Los métodos computacionales para la anotación de genomas tienen limitaciones: predecir los límites de inicio/terminación de los genes y describir regiones no transcritas (como promotores y riboswitches) continúan siendo un reto vigente. Los datos transcripcionales obtenidos por evidencia experimental bajo diversas condiciones son una aproximación muy útil para complementar la anotación computacional. *Deinococcus swuensis* (DS) es una bacteria tipo coco recientemente descrita que sobrevive a altos niveles de radiación ultravioleta. El objetivo de este trabajo fue implementar la búsqueda computacional de nuevos elementos reguladores no anotados y su posible relación con la resistencia a radiación ultravioleta. Una cepa de DS fue aislada de la filósfera de *Espeletia* sp, una planta de páramo ampliamente distribuida en dichos ecosistemas en Colombia. Esta cepa fue seleccionada debido a su alta tasa de supervivencia (95%) después de ser sometida a un tratamiento de radiación UV a 600 J/cm². Se extrajo ARN a partir de muestras tratadas con 400 J/cm² de radiación UV y controles (sin tratamiento), ambos por triplicado. Se eliminó el ARN ribosomal y se secuenciaron librerías pareadas con un tamaño de inserto de 250 pb con la tecnología de Illumina HiSeq2000. Las lecturas crudas fueron limpiadas usando trimmomatic y el ARNr restante se removió con SortmeRNA. Las regiones intergénicas no anotadas para la cepa de referencia DY59 fueron extraídas y filtradas por profundidad y longitud. Se realizó la búsqueda de nuevas familias de ARN a través de modelos de covarianza contra la base de datos PFAM. Por último, con el fin de evaluar la relación potencial de los nuevos ARN's descritos con la exposición a radiación ultravioleta se implementó un análisis de expresión diferencial con NOISeqBio. Los análisis de las condiciones establecidas nos permitieron identificar unidades transcripcionales no reportadas, incluyendo ARN's asociados a modificaciones postranscripcionales, ARN's regulatorios y potenciales riboswitches. Una única familia se expresó diferencialmente entre las condiciones evaluadas. Dilucidar nuevas unidades transcripcionales usando transcriptómica (particularmente bajo condiciones de expresión diferencial) nos permite: 1) describir en mayor detalle la arquitectura del transcriptoma, 2) entender la regulación de la expresión en DS y finalmente 3) descifrar nuevos mecanismos asociados a la adaptación a condiciones ambientales extremas.

PROCESOS POST-FERMENTACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BACTERIÓFAGOS: SEPARACIÓN POR ATPS Y PRUEBAS DE ESTABILIDAD DEL BACTERIÓFAGO ϕ San23 EFECTIVO CONTRA *Salmonella*

Farfán Esquivel Juan Camilo¹, Viviana Clavijo¹, Mario A. Torres Acosta², Marco Rito Palomares², Martha Josefina Vives Flórez¹

jc.farfan928@uniandes.edu.co

¹Universidad de Los Andes (Centro de Investigaciones Microbiológicas -CIMIC)

²Tecnológico de Monterrey

Como alternativa a los antibióticos para el control de patógenos, se ha propuesto el uso de bacteriófagos (fagos). La producción de fagos se logra mediante la infección de un cultivo de su bacteria huésped. A escala industrial, la producción puede resultar costosa debido a los procesos post-fermentación; por tanto, es necesario desarrollar estrategias costo-efectivas de recuperación/purificación de fagos, aplicables a gran escala. Por otra parte, si los fagos serán administrados a animales vivos, es necesario tener en cuenta las condiciones a las que se enfrentarán, por lo que se requiere considerar también su estabilización entre los procesos post-fermentación.

Los sistemas de dos fases acuosas (ATPS) han probado ser económicos en comparación a operaciones unitarias como la cromatografía. También se ha demostrado su eficacia en la recuperación/purificación de una variedad de bioproductos. En este estudio se evaluó la aplicación de los ATPS en la recuperación y purificación del bacteriófago ϕ San23. Se probaron diferentes combinaciones de soluciones en términos de la concentración e infectividad del fago en cada una de las posibles fases donde los virus podrían recuperarse. Muestras de fagos con diferentes grados de pureza (suspensión del fago centrifugada y filtrada en 0.22 μ m, suspensión del fago centrifugada, y suspensión cruda del fago), fueron usadas para determinar la partición del producto de interés y sus contaminantes. Fue posible identificar un sistema capaz de generar una partición de fagos de casi 3,000 veces para el fago centrifugado y filtrado, 55 veces para la muestra centrifugada, y 100 veces para la suspensión cruda. Los resultados mostraron la viabilidad de la incorporación de los ATPS en un proceso de bioescalado de fagos.

Salmonella es un patógeno común en la cadena de producción de alimentos, en especial en pollos. Para aplicar la fagoterapia en la industria avícola, es necesario garantizar la vida útil de los fagos, y por ello es importante escoger un excipiente protector y en donde éstos sean estables. Para mejorar la estabilidad del fago, se evaluaron diferentes excipientes: sacarosa 64%, hidróxido de magnesio 8.4% y carbonato de calcio 30%. La estabilidad del fago se probó bajo tres temperaturas: 4°C, 25°C y 37°C. En las condiciones 4°C y 25°C, el título viral se mantiene hasta por un mes, en todos los excipientes. Posteriormente, se probó la estabilidad en condiciones de acidez realizando un modelo que asemejó el pasaje por el tracto digestivo de las aves, con tres diferentes pH: 2, 5 y 6. El carbonato de calcio y el hidróxido de magnesio fueron efectivos protegiendo al fago en todas las condiciones ácidas. Los datos aquí presentados son pruebas de concepto que soportan la viabilidad del uso de la fagoterapia en la industria avícola y que se suman al cuerpo de conocimiento sobre las ventajas de esta tecnología.

IDENTIFICACIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA crAss-like EN METAGENOMAS INTESTINALES

Forero Junco Laura Milena, Luisa Matiz, Alejandro Reyes.

lm.forero10@uniandes.edu.co

Laboratorio de Biología Computacional y Ecología Microbiana & Grupo Tandem Max Planck en Biología Computacional. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

El bacteriófago crAssphage fue identificado por Dutilh et al. (2014) en cantidades abundantes por medio de análisis bioinformáticos en metagenomas intestinales humanos. El genoma de crAssphage se ha reportado inicialmente como seis veces más común que todos los otros genomas de fagos combinados. Estos resultados son evidencia del prominente rol ecológico de este fago en el microbioma intestinal humano y plantean preguntas acerca de su rol en otras comunidades microbianas. Métodos más sensibles de ensamblaje de genomas pueden encontrar el fago en una abundancia aún mayor y en mayor cantidad de metagenomas. GenSeed-HMM es uno de estos métodos, un paquete de software capaz de llevar a cabo la identificación de genomas virales con alto poder de detección utilizando modelos ocultos de Markov (HMM) como semillas para el ensamblaje progresivo. Este proyecto propone generar semillas de HMMs a diferentes niveles taxonómicos de la familia de crAssphage en dos maneras.

En primer lugar, los datos generados por PCR son ideales para construir dichos modelos pues tiene información sobre la variabilidad de una secuencia. En los últimos años, crAssphage ha sido utilizado como un biomarcador para el rastreo de contaminación fecal humana en aguas negras (Liang, Jin, Huang, & Chen, 2018; Stachler et al., 2017). Estos utilizan PCR con primers diseñados en regiones conservadas de crAssphage específicos de este bacteriófago. Estos son usados para generar HMMs utilizados como semillas de GenSeed-HMM para el ensamblaje de crAssphage en metagenomas humanos.

En segundo lugar, En los últimos meses (Yutin et al., 2018), se utilizó métodos de alta sensibilidad para identificar y expandir el grupo de bacteriófagos asociados a crAssphage. Se encontraron más de 200 contigs asociados a crAssphage, así como 37 genomas completos representativos de esta familia. Todos los datos se encuentran públicos y ricamente anotados lo que permitió generar HMMs para la familia de crAssphage que fueron evaluados no solo en metagenomas humanos, sino en otros mamíferos.

En este estudio se logra ensamblar el genoma de fagos crAssphage y de la familia crAss-Like usando HMMs generados a partir de datos disponibles en bases de datos. Esto permite generar modelos que representan la variabilidad de regiones proteicas, aumentando la sensibilidad del proceso de ensamblaje. Este estudio sugiere la presencia de crAssphage y la familia crAss-Like en intestino de múltiples animales, de relaciones filogenéticas cercanas (mamíferos) a humanos, tales como *Sus scrofa* y *Tremarctos ornatus*. Esto indica la posibilidad de relaciones evolutivas ancestrales entre estos bacteriófagos y animales que resaltan la importancia de este componente del microbioma intestinal.

POSIBLE RELACIÓN ENTRE LA DIETA, LA MICROBIOTA INTESTINAL Y LA SALUD, EN LA POBLACIÓN COLOMBIANA

García Vega Angela Sofía^{1,2}, Juan Sebastian Escobar³, Alejandro Reyes^{1,2}

as.garciav@uniandes.edu.co

¹Grupo de investigación de Biología Computacional y Ecología Microbiana. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

²Max Planck grupo Tándem en biología computacional, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

³Vidarium. Centro de investigación en nutrición, salud y bienestar. Grupo Nutresa, Medellín, Colombia

Introducción: La composición de la microbiota intestinal humana es dependiente del estilo de vida de cada individuo, siendo la dieta uno de los factores de interés. Diferentes cambios en la dieta modifican el contenido de macronutrientes, micronutrientes y fibra disponibles para los microorganismos, lo que puede ocasionar disbiosis correlacionada con estados fisiopatológicos. Para una población en transición alimentaria como la colombiana, donde se está cambiando de una alimentación tradicional a una alimentación occidental compuesta mayormente por alimentos procesados, es de interés conocer la relación entre la dieta, la microbiota intestinal y los estados de salud de la población. El objetivo del presente proyecto es analizar y buscar correlaciones en datos disponibles de la dieta, microbiota intestinal y salud de una muestra de la población adulta colombiana.

Materiales y Métodos: Se obtuvieron los datos de demografía, nutrición, antropometría, datos de laboratorio y composición de la microbiota intestinal por secuenciación del gen marcador 16S-rRNA para 441 adultos entre 18 y 62 años, de cinco ciudades de Colombia colectados por el grupo de investigación Vidarium. Se realizaron análisis estadísticos descriptivos y de correlación entre los diferentes grupos de datos usando programas y librerías de datos para R y Qiime.

Resultados: A nivel demográfico, la población se compone en un 48/52 de hombres y mujeres, distribuidos uniformemente en diferentes categorías de estado nutricional (normopeso, sobrepeso y obesidad), con diferentes riesgos de enfermedad cardiometabólica y obesidad. A nivel nutricional, luego de un análisis de componentes principales, fue posible conocer que el componente 1 se correlaciona con el consumo total de calorías de los individuos, mientras el componente 2 se correlaciona con los macronutrientes y micronutrientes que discriminan alimentos de fuente animal de los alimentos de fuente vegetal. En general, ninguno de los nutrientes analizados se correlaciona con las variables de laboratorio ni con el estado nutricional (Spearman rho < 0.75). Respecto a la microbiota, la caracterización a nivel de phylum corresponde con la reportada previamente en otros grupos humanos, donde los microorganismos más abundantes son Firmicutes, seguidos de Bacteroidetes y Actinobacteria. Al comparar los datos de la beta diversidad con el estado nutricional y el estado cardiometabólico de los individuos, se observa que no hay una clara agrupación de las OTUs con respecto de estas variables.

Conclusiones: Los resultados preliminares no muestran una relación directa entre la dieta o las abundancias de OTUs con el estado nutricional. Sin embargo, dado que el sobrepeso y la obesidad son estados patológicos multifactoriales, es posible que la relación entre la dieta, la microbiota y el estado de salud sea indirecta, por lo que se viene trabajando en análisis más detallados haciendo uso de herramientas estadísticas más robustas (ej: algoritmos de aprendizaje de máquinas).

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE CRECIMIENTO DE BACTERIAS DIAZOTRÓFICAS EN UN SUELO DEL PIEDEMONTES LLANERO CONTAMINADO ARTIFICIALMENTE CON DIÉSEL

González Martínez Cristian Camilo, Nathaly Ximena Mora Alonso, María Alexandra Méndez Leal, Cesar Augusto Riveros Romero
cristiangonzalezm@usantotomas.edu.co

¹Universidad Santo Tomás

El diésel afecta las propiedades fisicoquímicas del suelo y el desarrollo de las poblaciones de microorganismos presentes. Uno de los grupos funcionales clave en el mantenimiento de las condiciones del suelo para el adecuado desarrollo de biodiversidad son las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre.

Se plantea como problema ¿Cómo varía el potencial de crecimiento de las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre o diazotróficas en un suelo contaminado artificialmente con diferentes volúmenes de diésel (200, 500, 800 ml) del Instituto Agrícola de Guacavía del municipio de Cumaral-Meta en un periodo de 4 meses?. El suelo del estudio es un oxisol, con las siguientes características: pH ácido, alta concentración de Fe y Al, y baja concentración de materia orgánica. Para el aislamiento de las bacterias se utilizaron diluciones (de 10^{-3} a 10^{-5}) por triplicado en solución salina estéril al 85%. A partir de cada dilución se realizaron siembras en superficie en medio de cultivo selectivo Rennie modificado (1981). Posteriormente se efectuó el recuento y se informó la UFC por gramos de muestra, a continuación, se realizaron los repiques que permitirán el aislamiento de las colonias puras.

Los resultados parciales, permiten determinar que las bacterias libres diazotróficas de Nitrógeno; en comparación con el testigo (sin adición de diésel) aumentan su presencia a volúmenes de 200 y 500 ml, y se vuelven a ver afectadas a volúmenes de 800 ml, disminuyendo su concentración.

Con base en la metodología tradicional de identificación, mediante tinción diferencial de gram y diversas pruebas bioquímicas se identificaron como Actinomycetes sp; actualmente se determina el potencial hidrocarbonoclasta, y por último, se correlacionarán los parámetros físicos, químicos y microbiológicos.

El estudio permite concluir que las bacterias fijadoras de nitrógeno utilizan el diésel como fuente de carbono, ya que, se observa un aumento considerable de los microorganismos encontrados con respecto al suelo sin contaminante; Por lo tanto, se recomienda realizar cultivos in vitro e incorporar estos cultivos en un suelo del piedemonte Llanero que reciba este hidrocarburo derivado del petróleo.

ANÁLISIS DE DOS EFECTORES “DOWNSTREAM” DE LA RUTA DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES MEDIADA POR Pga1, Y SU EFECTO EN LA MORFOLOGÍA DE *Penicillium chrysogenum* Wis 54-1255

Hernández Pérez Debora Elizabeth, Ramon Ovidio García Rico
dehernandez.microbiologia@hotmail.com

Universidad de Pamplona (Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología GIMBIO), Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Microbiología

Penicillium chrysogenum es un hongo filamentoso mundialmente reconocido por su capacidad para producir antibióticos betalactámicos y otras moléculas con actividad biológica de interés para la industria biotecnológica. Por su parte, las proteínas G heterotriméricas son importantes intermediarios moleculares de la señalización celular, investigadas ampliamente por sus funciones reguladoras en la morfogénesis, y el desarrollo de hongos filamentosos. Un estudio proteómico previo en *P. chrysogenum* Wis 54-1255, permitió identificar dos proteínas como potenciales e importantes efectores downstream en la ruta mediada por la subunidad α Pga1. Las proteínas identificadas como Pc22g05690 y Pc22g17420, se caracterizan por poseer dominios de homología de Pleckstrin y de Ankyrina, respectivamente. El primero representa un módulo diana para importantes reguladores en gran número de señales de transducción, mientras que el segundo sobresale por mediar interacciones proteína- proteína. Hasta ahora, las proteínas en mención no han sido descritas en hongos filamentosos ni a nivel estructural, ni funcional.

Para conseguir la atenuación de las dos proteínas se usó como base el vector pJL43 RNAi desarrollado por el Instituto de Biotecnología de León España (INBIOTEC), en el cual fue clonado un fragmento de la CDS de cada gen. El constructo así elaborado fue usado para transformar protoplastos de *P. chrysogenum* Wis 54-1255. Los transformantes fueron seleccionados por su resistencia a la fleomicina, su estabilidad mitótica y mediante una prueba de PCR. Se hizo una transformación con el vector vacío y uno de esos transformantes fue usado como control. De cada efector fueron seleccionados 3 transformantes cuyas características fueron comparadas con el control y la cepa WT. Se determinaron y compararon las tasas de extensión apical, la cinética de germinación conidial y la producción conidial.

Los ensayos mostraron que la atenuación de la expresión de Pc22g17420 tiene un efecto estimulador de la germinación, acelerando el proceso; de igual forma ésta atenuación produjo una disminución en la tasa de crecimiento vegetativo en medios sólidos de baja complejidad nutricional. Por su parte, la atenuación de la Pc22g05690 tiene un efecto similar sobre el crecimiento; sin embargo, no parece tener un efecto significativo en la cinética de germinación conidial. De otra parte, la atenuación de ambos efectores generaron un fenotipo hipoconidial, reduciendo drásticamente la esporulación asexual.

Conforme a lo anterior, puede inferirse que los efectores “downstream” Pc22g05690 y Pc22g17420 de la ruta de transducción de señales mediada por la subunidad α Pga1, comparten algunas funciones en la regulación de aspectos del desarrollo de *P. chrysogenum* Wis 54-1255: son necesarios para un adecuado crecimiento vegetativo, especialmente en medios de baja complejidad nutricional; y ambos efectores, tienen una función estimuladora del proceso conidiogénico. Adicionalmente, y de manera interesante, el efector Pc22g17420 participa en el proceso germinativo, ejerciendo un control negativo del mismo.

AISLAMIENTO Y CULTIVO DE BACTERIAS MAGNETOTÁCTICAS DE SEDIMENTOS DE LA COSTA CARIBE DE COLOMBIA - AMÉRICA DEL SUR

Joya Barrera Cristhian Danilo¹, Manuel Alejandro Narváez Córdoba¹, Daniel Tejada Hernandez¹, Paola Nathaly Erazo Hinestroza², Marco Antonio Márquez Godoy³, Gloria Ester Cadavid Restrepo³, Claudia Ximena Moreno Herrera³

cdjoyab@unal.edu.co

^{1,3}Grupo Microbiodiversidad y Bioprospección, Escuela de Biociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

^{1,2}Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos, Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Introducción:

Las bacterias magnetotácticas (MTB) son microorganismos con capacidad de biomineralizar cristales de magnetita (Fe_3O_4) o greigita (Fe_3S_4) rodeados por una bicapa lipídica. Estas nanopartículas permiten a las bacterias navegar a través de líneas de campo magnético y tienen un uso potencial en nanotecnología y biomedicina. Estas bacterias se encuentran distribuidas en ambientes acuáticos y son consideradas como difíciles de cultivar en condiciones de laboratorio. En el trópico ecuatorial se sabe poco sobre las comunidades microbianas que habitan estos ecosistemas, por lo que este trabajo representa el primer estudio sobre cultivos de bacterias magnetotácticas de muestras obtenidas en el golfo de Morrosquillo en Colombia.

Metodología y principales resultados:

Se evaluaron metodologías para el aislamiento, cultivo e identificación de bacterias magnetotácticas (MTBs). Se realizó enriquecimiento de muestras obtenidas en el golfo de Morrosquillo adicionando soluciones de vitaminas, minerales y quinato férrico. Se ensayaron cuatro medios de cultivo diferentes: el medio comercial ATCC 1653, un medio de aislamiento y otro de mantenimiento con gradientes de concentración de oxígeno y un medio semisólido de doble gradiente inverso [O₂]: [S₂-].

Se realizó la extracción del ADN y la caracterización molecular de las muestras de los medios de cultivo comercial, usando la técnica de electroforesis en gradiente de temperatura temporal (TTGE) y secuenciación del producto amplificado del gen ARNr 16S. Los resultados revelaron que el morfotipo predominante eran cocos con tenue respuesta a campos magnéticos externos. La caracterización de los cultivos evaluados por un análisis de PCR-TTGE mostró predominio de dos comunidades que se identificaron como pertenecientes a la clase Alphaproteobacteria y el género Magnetococcus.

Conclusión:

El análisis del cultivo por microscopía óptica y por métodos moleculares, permitieron identificar bacterias magnetotácticas, sin embargo, es necesario estudios más detallados para lograr el cultivo de aislados puros de bacterias magnetotácticas que presenten magnetotaxis.

RESEARCH GROUP MICROBIAL ECOLOGY: METABOLISM, GENOMICS & EVOLUTION, DIV. ECOGENOMICS & HOLOBIONTS

Howard Junca, Marcela Villegas-Plazas, Erika García-Bonilla, Victor Manuel Tibatá,
Alvaro Mauricio Flórez.

info@howardjunca.com

Microbiomas Foundation

El grupo de investigación "RG Microbial Ecology: Metabolism, Genomics & Evolution, Div. Ecogenomics & Holobionts - Microbiomas Foundation" se estableció en Colombia en 2008. Desde 2010, ha sido oficialmente registrado y reconocido como un grupo de investigación por Colciencias. En 2015 ha sido clasificado en una categoría nacional superior (A). En la actualidad (2018) está compuesto por 6 investigadores, 5 de ellos con doctorado, especializados en Microbiología Ambiental, Medicina Veterinaria, Biología Marina, Acuicultura, Bacteriología Clínica, Bioquímica, Biología y Ecología y 1 investigador MSc en Biología cPhD en Ingeniería Ambiental. El objetivo principal del grupo es contribuir al desarrollo y avance en la exploración microbiológica ambiental aplicando conceptos y enfoques de vanguardia a la vez que se promueve el más alto nivel científico e integridad. Un interés constante del grupo es la descripción y comprensión de la composición, funcionamiento y dinámica de la diversidad microbiana en las comunidades que prosperan y evolucionan en condiciones ambientales hostiles o xenobióticas o en estrecha asociación con organismos superiores. El grupo ha dirigido o participado en varios proyectos de investigación financiados por agencias nacionales e internacionales con grupos de investigación en el país y en el extranjero. En el periodo 2013-2018 se han realizado, supervisado y completado exitosamente 4 tesis de maestría y 2 tesis de doctorado, y se han publicado 14 artículos de investigación en revistas internacionales en categoría Scimago/Scopus Q1. El grupo de investigación actualmente está avalado por la ONG científica sin ánimo de lucro Microbiomas Foundation y la PYME Compañía Campo Colombia. Nuestro grupo de investigación se encuentra entre los más capacitados del país para estudiar, por métodos moleculares e independientes del cultivo, las simbiosis e interacciones de microbiomas con organismos marinos y terrestres como esponjas, corales, moluscos, peces, insectos, pollos, cerdos, entre otros. Así mismo, el grupo tiene capacidad en la investigación de enzimas y bioactividades por medio de metagenómica funcional en ambientes de alta diversidad, extremos y bajo contaminación orgánica y xenobiótica. El grupo es un activo colaborador de múltiples grupos nacionales e internacionales en trabajos multidisciplinarios e invita y ofrece su colaboración a los investigadores/grupos que así lo requieran. Bienvenidos y no duden en contactarnos.

Microbiomas Foundation: <http://www.microbiomas.org/>

GrupLac:

<http://scienti.colciencias.gov.co:8085/gruplac/jsp/visualiza/visualizagr.jsp?nro=00000000010354>

ACTIVIDADES METABÓLICAS DE CEPAS AISLADAS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE CACHAMA BLANCA (*Piaractus brachypomus*)

Londoño Arango Juliana Andrea, Y. L. Pérez Suarez, K.L. García Castro, V. Castañeda,
G. E. Cadavid-Restrepo, C. X. Moreno-Herrera.

jualononoar@unal.edu.co

Grupo de Microbiodiversidad y Bioprospección. Universidad Nacional de Colombia-Sede
Medellín

Introducción

La acuicultura es un sector económico que ha crecido notablemente y se ha logrado posicionar como una fuente importante de alimento; uno de los peces más cultivados en el territorio colombiano es la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Con el aumento en su producción, también se ha incrementado el uso de antibióticos, principalmente como medida profiláctica. El objetivo de este trabajo fue caracterizar aislados de la microbiota de la cachama por su resistencia a los antibióticos y la detección de moléculas de comunicación celular (quorum sensing -QS).

Materiales y métodos

La prueba de antibiograma se llevó a cabo en agar Mueller-Hinton siguiendo el método de Kirby- Bauer, evaluando los antibióticos Ampicilina, Cloranfenicol, Gentamicina y Tetraciclina. Los aislados fueron clasificados cualitativamente como sensible, intermedio o resistente. Se detectaron moléculas QS tipo N-acil homoserin lactona (AHLs) y 4-quinolonas (AHQ) del pellet celular y del sobrenadante libre de células, usando los biosensores psB401, psB1142 Y pqsA-lux mediante la producción de bioluminiscencia y/o pociarina.

Resultados

En los resultados se obtuvieron cuatro cepas de los géneros *Aeromonas* y *Bacillus* con resistencia frente a la ampicilina y tres cepas pertenecientes a los géneros *Enterobacter*, *Bacillus*, y *Klebsiella* presentaron resistencia intermedia a tetraciclina, las cepas *Pleisiomonas* y *Bacillus* fueron sensibles a los antibióticos evaluados. Con respecto a las moléculas de quorum, se detectaron moléculas tipo AHLs para las bacterias del género *Aeromonas*, *Pleisiomonas* y *Edwarsiella* con el biosensores psB401.

Conclusiones

Las bacterias asociadas a la microbiota de la cachama blanca evaluadas en el estudio, presentaron mayor resistencia frente a ampicilina, antibiótico betalactámico ampliamente utilizado en la acuicultura en Colombia. Por otra parte, las moléculas de quorum sensing detectadas, podrían estar relacionadas con la expresión de genes de virulencia en cepas patógenas. Este es el primer reporte de actividades metabólicas de relevancia con aislados de la microbiota de la cachama, se requiere de mayor investigación para establecer la relación con la salud del hospedero.

EVALUACIÓN DE *Bacillus subtilis* Y *Pseudomonas extremaustralis* COMO BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO EN PLANTAS DE PAPA CRIOLLA, FRÍJOL Y TOMATE

López Pazos Silvio Alejandro, Yudi Carolina Rodríguez Mirque, Natalia Rodríguez Rodríguez, Nicolás Ramírez Celis
alejandrolopezpazos@uan.edu.co
Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño

Los fertilizantes químicos han sido una solución en la agricultura debido a que estos le dan la capacidad al suelo de ser más fértil, aportando elementos necesarios para el desarrollo de la planta. Sin embargo, estos métodos están siendo apartados debido a que generan problemas ambientales y de salud pública importantes, además de provocar pérdidas de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos. Estos métodos están siendo reemplazados por rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), microorganismos capaces de producir hormonas, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos y compuestos orgánicos volátiles. *Bacillus subtilis* está asociada a promoción de crecimiento vegetal ya que produce hormonas de crecimiento, diferentes tipos de antibióticos, lipopéptidos y la formación de biopelícula. El género *Pseudomonas* sp. está asociado a promoción de crecimiento vegetal. Por su parte, *Pseudomonas extremaustralis* es un microorganismo Antártico que presenta alta resistencia al estrés asociado a bajas temperaturas y producir polihidroxi-butirato, se ha encontrado que posee una buena capacidad de solubilización y mineralización de fósforo. Este proyecto busca evaluar el efecto benéfico que puedan tener estas bacterias en cuanto a la promoción de crecimiento de las plantas de frijol, papa y tomate, teniendo en cuenta su importancia en la producción de Colombia por su efecto económico y por su contenido alimenticio. Para este fin, se realizará un ensayo biológico donde se sembrarán semillas de cada planta desinfectadas, e inoculadas con *P.extremaustralis* CMPUJ U515 y *B.subtilis* ATCC 6633, usando como control la cepa de *P.aeruginosa* PAO1. Se hará un total de 3 repeticiones con 30 individuos, usando una concentración de 10^{-7} a 10^{-10} UFC/ml. Se evaluará fenotipos incluyendo tamaño de raíz, tallo, peso húmedo y seco, área foliar, entre otros. Paralelamente, se identificarán genes asociados a la promoción de crecimiento en las bacterias evaluadas, a los cuales se les realizará análisis bioinformático incluyendo BLAST (identificar secuencias similares), CLUSTAL OMEGA (determinar diferencias en secuencia), y modelamiento tridimensional por homología (para establecer características estructurales). Se espera determinar la posible capacidad de las bacterias *B.subtilis* y *P.extremaustralis* en promoción de crecimiento vegetal en papa, tomate y frijol, y encontrar cambios genómicos asociados a la posible interacción bacteria-planta.

A RECURRENT NEURAL NETWORK APPROACH FOR WHOLE GENOME BACTERIA CLASSIFICATION

Lugo Luis, Emiliano Barreto

lelugom@unal.edu.co

Universidad Nacional de Colombia (Grupo Bioinformática)

La identificación de bacterias juega un rol esencial en múltiples áreas de investigación. Entre estas áreas encontramos la biología experimental, las industrias de bebidas y productos alimenticios, la patología, la microbiología, y el área de estudios evolutivos. Aunque existen varias metodologías de clasificación, como la espectrometría de masas, la morfología microscópica, los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) y los enfoques usando redes neuronales, se está dando una transición a una taxonomía de bacterias basada en secuencias de genoma completo. La secuenciación de última generación ayuda en el proceso de transición taxonómica al producir datos de ADN de manera eficiente. Sin embargo, la tasa de generación de datos genómicos con secuenciación de última generación, y la alta dimensionalidad de los datos, requieren metodologías de análisis computacional más efectivas.

El aprendizaje de máquina, una área de estudio de la inteligencia artificial, tiene la capacidad de analizar datos de alta dimensionalidad de una forma sistemática, rápida y eficiente. Por tanto, proponemos un modelo basado en aprendizaje de máquina secuencial para la clasificación de bacterias; la red neuronal recurrente propuesta aprovecha la gran cantidad de información generada por los métodos de secuenciación de última generación para extraer un modelo de clasificación basado en secuencias completas de bacterias. GenBank es la base de datos del NCBI que provee el conjunto de datos para el entrenamiento y prueba del sistema de clasificación.

Una representación distribuida basada en k-mers de longitudes $k=\{3,4,5\}$ provee una codificación eficiente para las secuencias de bacterias. El modelo de clasificación se basa en una arquitectura de red neuronal recurrente bidireccional, la cual cuenta con 128 unidades. La arquitectura genera una exactitud de 0.99455 +/- 0.00281 con mínimo 1000 muestras por especie en GenBank (14 especies), 0.95031 +/- 0.00469 con mínimo 250 secuencias por especie en GenBank (48 especies) y 0.89107 +/- 0.00392 con mínimo 100 secuencias por especie en GenBank (111 especies). Al validar con otros métodos como Naive Bayes (NB) y una red neuronal multicapa (MLP), observamos que el modelo de red recurrente bidireccional supera las alternativas usadas para validación en todas las métricas utilizadas. El sistema propuesto provee un método automatizado de clasificación que no requiere de ninguna extracción manual de características, y basado en la información genómica existente, tiene la capacidad de predecir la especie a la cual pertenece la secuencia completa en consideración.

CO-CULTIVO DE MICROORGANISMOS DE ORIGEN MARINO COMO ESTRATEGIA PARA LA PRODUCCIÓN DIFERENCIAL DE METABOLITOS ESPECIALIZADOS

Martínez Buitrago Paola Andrea, Ramos Rodríguez, F.A. , Castellanos Hernández, L.
pamartinezb@unal.edu.co

Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Química

A través de los años, los metabolitos secundarios aislados de microorganismos han desempeñado un rol importante en el tratamiento de enfermedades humanas y han revolucionado la industria farmacéutica. En contraste al amplio éxito que tuvieron en el siglo pasado, la frecuencia de aislamiento de nuevos compuestos ha disminuido significativamente en esta década. Se han realizado investigaciones del genoma de los microorganismos que han demostrado que existen rutas biosintéticas silenciadas y crípticas que no se expresan en condiciones estándares de crecimiento. Para promover la activación de estas rutas, se han desarrollado diferentes métodos que incluyen el co-cultivo de varios microorganismos.

La investigación de estas interacciones es un desafío analítico, debido a la naturaleza compleja de los metabolomas por lo que deben establecerse protocolos que faciliten su análisis. Así mismo, la variabilidad química generada debe ser analizada de manera que se identifiquen con precisión los metabolitos resultantes de las interacciones generadas.

En este trabajo, se evaluaron múltiples interacciones binarias entre quince bacterias y un hongo con el fin seleccionar aquellas que tuvieran una producción metabólica diferente a los monocultivos correspondientes. Los co-cultivos se realizaron empleando dos métodos diferentes, uno que evaluaba los efectos mediados por compuestos difusibles y otro que evaluaba los efectos mediados por contacto célula-célula. Los cultivos se realizaron en medio sólido empleando 4 medios de cultivo (LB, PDA, ISP2, ISP3).

Se evaluaron los cambios fenotípicos inducidos por el co-cultivo por comparación visual con los monocultivos correspondientes. Los cultivos fueron liofilizados y extraídos con acetato de etilo para obtener extractos orgánicos que fueron analizados empleando UHPLC-ELSD. A partir de estos resultados, se seleccionaron 6 interacciones promisorias, las cuales fueron analizadas empleando experimentos RMN 1H y COSY. El uso de esta técnica permitió distinguir las señales presentes únicamente en los co-cultivos, así como correlacionarlas empleando espectros bidimensionales.

Se encontró que un grupo de señales eran comunes a 4 co-cultivos diferentes; además, correlacionaban entre sí, lo que indica que pertenecen al mismo compuesto químico. Estos co-cultivos consistían en la interacción a distancia del hongo *Purpureocillium lilacinum* con 4 bacterias distintas (1 aislamiento *Streptomyces* sp., 3 aislamientos *Paenibacillus* sp.).

Teniendo en cuenta, el rendimiento del extracto orgánico se seleccionó el co-cultivo entre el hongo *Purpureocillium lilacinum* (PNM-67) y la bacteria *Streptomyces* sp. (IBUN-5.1) para realizar el estudio químico y la identificación estructural de los metabolitos inducidos por el co-cultivo.

El Ministerio de Ambiente y Desarrollo otorgó permiso para la recolección de las muestras y para la realización de esta investigación (Contrato de Acceso a Recurso Genético No. 108).

COMPORTAMIENTO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS EN SUELOS DE VOCACIÓN AGRÍCOLA ARTIFICIALMENTE CONTAMINADOS CON GASOLINA Y DIÉSEL EN EL PIEDEMONTE LLANERO DEL MUNICIPIO DE CUMARAL (META)

Méndez Leal María Alexandra, Cesar Augusto Riveros Romero

mariamendezl@usantotomas.edu.co

Facultad Ingeniería Ambiental, Universidad Santo Tomás (GAUV-Gestión Ambiental USTA Villavicencio)

El presente proyecto de investigación en curso emplea el suelo con uso agrícola del Piedemonte Llanero del Instituto Agrícola Guacavía del municipio de Cumaral, Meta. Como consecuencia del uso de maquinaria agrícola, labranza de los terrenos y posterior recolección de los productos, que se realizan durante el proceso de producción agrícola, pueden ocurrir vertimientos accidentales o incidentales de diésel al suelo.

El diésel afecta las propiedades fisicoquímicas del suelo y el desarrollo de las poblaciones de microorganismos presentes. Uno de los grupos funcionales clave en el mantenimiento de las condiciones del suelo para el adecuado desarrollo de biodiversidad son las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre.

Se plantea como problema ¿Cómo varía el potencial de crecimiento de las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre o diazotróficas en un suelo contaminado artificialmente con diferentes volúmenes de diésel (200, 500, 800 ml) del Instituto Agrícola de Guacavía del municipio de Cumaral-Meta en un periodo de 4 meses?. El suelo del estudio es un oxisol, con las siguientes características: pH ácido, alta concentración de Fe y Al, y baja concentración de materia orgánica. Para el aislamiento de las bacterias se utilizaron diluciones (de 10^{-3} a 10^{-5}) por triplicado en solución salina estéril al 85%. A partir de cada dilución se realizaron siembras en superficie en medio de cultivo selectivo Rennie modificado (1981). Posteriormente se efectuó el recuento y se informó la UFC por gramos de muestra, a continuación, se realizaron los repiques que permitirán el aislamiento de las colonias puras.

Los resultados parciales, permiten determinar que las bacterias libres diazotróficas de Nitrógeno; en comparación con el testigo (sin adición de diésel) aumentan su presencia a volúmenes de 200 y 500 ml, y se vuelven a ver afectadas a volúmenes de 800 ml, disminuyendo su concentración.

Con base en la metodología tradicional de identificación, mediante tinción diferencial de gram y diversas pruebas bioquímicas se identificaron como *Actinomyces sp*; actualmente se determina el potencial hidrocarbonoclasta, y por último, se correlacionarán los parámetros físicos, químicos y microbiológicos.

El estudio permite concluir que las bacterias fijadoras de nitrógeno utilizan el diésel como fuente de carbono, ya que, se observa un aumento considerable de los microorganismos encontrados con respecto al suelo sin contaminante; Por lo tanto, se recomienda realizar cultivos in vitro e incorporar estos cultivos en un suelo del piedemonte Llanero que reciba este hidrocarburo derivado del petróleo.

CUANTIFICACIÓN PROTEICA DE HONGOS COMESTIBLES DE LOS ÓRDENES TREMELLALES Y AURICULARIALES EN PANAMÁ

Morales Zapata Elvia María
vitaflora04@gmail.com

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología. Universidad de Panamá

Cuantificación proteica de Hongos comestibles de los órdenes Tremellales y Auriculariales en Panamá. Los hongos comestibles de los Ordenes Tremellales y Auriculariales del Phylum Basidiomycota y el Género Cookeina (Pezizales, Ascomycota) son útiles en la alimentación de comunidades pobres en América y hay desconocimiento de sus posibles usos como hongos comestibles en áreas donde hay escasez de alimentos y no se toma en cuenta a los hongos como fuente de alimento. El número de diferentes especies de hongos en la tierra se estima en 140 000, de las cuales 10% son conocidas, y de ellas aproximadamente 50% se considera que poseen diversos grados de comestibilidad, más de 2000 son seguras, y unas 700 especies son conocidas por poseer importancia farmacológica (Lull et al. 2005) y los datos sobre hongos comestibles silvestras son escasos (Boa, 2005). Los hongos han sido apreciados por sus propiedades nutritivas (Boa, 2005); y por sus propiedades curativas dado que ellos proveen una gran gama de metabolitos secundarios y algunos tienen actividad biológica que son de utilidad en medicina, agricultura, alimentación, etc. (Carlile et al., 2001). Algunos hongos producen pigmentos como las melaninas, betalainas, quinonas, xantinas, flavonoides, curcuminoides, carotenoides, isocromos e iridoides, los cuales tienen especial interés industrial y alimenticio (González- Ruíz et al., 2009). Los hongos basidiomicetes producen compuestos antimicrobianos, antifúngicos, antivirales y citostáticos, etc. (Brizuela et al., 1998; Trigos et al., 2005). Además, algunos basidiomicetes tienen actividad antiinflamatoria, antioxidante, antitumoral y reguladora de los niveles de azúcar y de colesterol, y se pueden usar en tratamientos clínicos (Stamets, 2002). Analizaremos los componentes proteicos de algunos hongos silvestres que son comestibles, cuantificaremos su valor nutritivo y estableceremos los componentes químicos presentes. Para determinar los pigmentos presentes en los hongos tomamos como referencia el protocolo utilizado por Villanueva et al, (2013) que consiste en la extracción del pigmento con solventes orgánicos. Para separar y purificar el pigmento se realizará una cromatografía de capa fina, tomando en cuenta al final el factor de retención (Rf) de cada muestra para contrastar su similitud con un patrón establecido por Chang (2006). La obtención de polisacáridos de los hongos se realizará mediante la metodología establecida por Mizuno et al (1996, 1999). Esperamos validar con nuestros resultados el recurso forestal nutricional que son los macromicetos citados en este estudio.

AN IDEAN STRATEGY FOR IDENTIFYING ORGANISM FROM FISH FOOD MIXTURES METAGENOMIC DATA

Moreno Ibarquen Carlos, Alejandro Reyes

c.moreno@uniandes.edu.co

Universidad de los Andes

La biovigilancia es una tarea necesaria para monitorear productos biológicos, que típicamente consisten en mezclas complejas de material biológico procesado. El Instituto Nacional de Investigación de Nutrición y Mariscos en Noruega (NIFES, por sus siglas en inglés) realiza investigaciones sobre los alimentos marinos, la nutrición de los peces y los efectos del consumo de pescado y mariscos en la salud. Entre sus servicios esta el expedir certificación de biovigilancia en alimentos para peces. Esto incluye la caracterización molecular y taxonómica de productos derivados de diferentes peces. Por lo que requiere de una estrategia bioinformática para identificar la composición taxonómica y abundancia de diferentes productos comerciales que contienen mezclas de peces que son distribuidos posteriormente para consumo humano. En la actualidad existe un estudio similar con un pipeline llamado All-Food-Seq que solo ha sido probado con datos controlados simulados de alimentos para humanos.

Este estudio busca la identificación de 7 especies peces, (Haddock, Tilapia, Platy, Atlantic cod, Pengasius, Salmon, Pike), así como en las mezclas de alimentos para los mismos, estas últimas según la descripción del producto comercial deberían estar constituidas por proporciones específicas de las mismas especies. El ADN se extrajo de los peces individuales y de las mezclas y se realizó la secuenciación PE 2x100 con la tecnología Illumina. En primera instancia se requiere de genomas de referencias que brinden una identificación confiable, para esto se descargaron genomas de referencia para 6 de las especies salvo Pengasius, para quien se realizó un ensamblaje de novo con la herramienta spades, Se efectuaron mapeos de las lecturas de los peces frente a los genomas de referencia utilizando Subread que implementa algoritmos BWA. Los resultados de dichos mapeos sugerían que los genomas descargados podían alinearse con especies cercanas entre si por lo que se procedió a un enmascaramiento de los contigs que no alineaban directamente con los peces respectivos a la referencia. Una vez enmascarados se procedió a un mapeo para comprobar el incremento en la calidad del alineamiento con el pre-procesamiento de los genomas de referencia. Adicionalmente se plantea la generación de perfiles de k-meros que permitan incrementar la precisión en la identificación de la composición de las mezclas de alimentos, para luego ajustar la búsqueda de los no alineamientos con Blast y MEGAN. Se espera lograr una identificación con una precisión de al menos 97% así como del listado de las especies que se puedan encontrar y su abundancia. El gran reto está en que la ejecución de este pipeline sea lo menos complicada posible y no requiera de un avanzado conocimiento bioinformático.

INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LA DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS XENOBIÓTICOS DE COMUNIDADES MICROBIANAS EN SUELOS DE UN MANGLAR EN LA GUAJIRA-COLOMBIA

Muñoz García Andrea¹, Ingrid Figueroa², Guillermo Torres³, Orson Mestanza⁴, Silvio Alejandro López-Pazos⁵, Javier Vanegas⁶

andremg_0214@hotmail.com

^{1,2,5,6}Universidad Antonio Nariño, Sede circunvalar, Cra 3 Este No 47 A 15, Bogotá Colombia.

³Institute of Clinical Molecular Biology (IKMB) Schleswig-Holstein Rosalind-Franklin-Straße 12 24105 Kiel, Germany.

⁴Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45, Bogotá Colombia

Los manglares son ecosistemas tropicales altamente productivos, ecológica y económicamente importantes. A menudo están expuestos a contaminación con aguas residuales, derrames de petróleo, metales pesados, entre otros. Los microorganismos de manglar tienen la capacidad de degradación de compuestos xenobióticos. Sin embargo, se desconoce la influencia de la salinidad sobre la capacidad de los microorganismos de manglar para degradar compuestos xenobióticos. Este estudio accedió al potencial funcional total a través de la secuenciación del metagenoma y se evaluó la influencia de la salinidad sobre la actividad de degradación de compuestos xenobióticos en suelos del manglar del río Ranchería-La Guajira. Se tomaron muestras de suelo en tres puntos con salinidad contrastante (23.2%, 14.61% y 2.8% de NaCl) con tres réplicas cada una. Se realizó extracción de ADN total y secuenciación shotgun usando la tecnología Illumina HiSeq. Las secuencias fueron analizadas mediante el software DIAMOND. La anotación de los alineamientos se realizó con el software MEGAN 5 para identificar enzimas con potencial biotecnológico. Para calcular la diversidad alfa y beta e identificar los OTUs con abundancia diferencial entre salinidades se empleó MetagenomeSeq. Se obtuvo un total de 294 millones de secuencias crudas a partir de las nueve muestras de ADN recolectadas. El análisis de del perfil Shotgun obtuvo un total de 201.191 conteos de lecturas. Los conteos promedio por muestra fueron de 22.354 en categorías de procesos de degradación y metabolismo de xenobióticos. Se detectaron 25 compuestos xenobióticos de los cuales 22 presentaron conteos ≥ 2 . La actividad más abundante en todas las muestras fue la degradación de Benzoato vía CoA, seguido por degradación de Nitrotolueno y metabolismo de Fármacos. Las mayores abundancias de actividad enzimática se presentaron en el punto de mayor salinidad. Las enzimas más abundantes fueron subunidad de flavoproteína succinato deshidrogenasa / fumarato reductasa [EC:1.3.5.1 1.3.5.4] (10% respecto al total de enzimas degradadoras de xenobióticos), acetil-CoA C-acetiltransferasa [EC:2.3.1.9](9%), GMP sintasa (hidrólisis de glutamina) [EC:6.3.5.2] (6%). Los resultados indicaron alta actividad de degradación de xenobióticos en suelos de manglar en altas salinidades. La actividad enzimática de degradación de compuestos xenobióticos podría emplearse como estrategia de conservación y monitoreo de manglares ante agentes de contaminación.

ESTUDIO DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A LA FERMENTACIÓN DE LA SEMILLA DE CACAO EN DOS ZONAS AGROECOLÓGICAS EN COLOMBIA

Pacheco Montealegre Mauricio Edilberto^{1,2}, L. L. Dávila-Mora¹, L. M. Botero-Rute¹, A. Reyes Muñoz², A. Caro-Quintero¹
me.pacheco@uniandes.edu.co

¹Centro de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA sede Tibaitatá, Mosquera, Colombia.

²Grupo de Biología Computacional y Ecología Microbiana BCEM - Max Planck Tandem Group in Computational Biology, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

La fermentación de granos de cacao es un proceso esencial para la producción de cacao fino y de aroma, catalizado por microorganismos que transforman la pulpa del grano. Trabajos describiendo la sucesión microbiana han sido realizados con métodos dependientes de cultivo, limitando el entendimiento de la ecología microbiana durante la fermentación. Con el propósito de optimizar la calidad del cacao fermentado, en este trabajo caracterizamos la dinámica de los microorganismos, sus interacciones y posibles fuentes de inóculo.

Para esto, se monitoreó el proceso fermentativo durante dos periodos de 2016 (época de lluvia y seca), en una finca modelo en Antioquia y Santander. Se colectó muestras de granos de cacao de la zona superior e intermedia del cajón fermentador, se extrajo el ADN y se amplificó el 16S rARN (bacterias) e ITS (hongos). Las librerías se secuenciaron con la plataforma MiSeq (Illumina). Se usó QIIME para la determinación de Unidades Taxonómicas Operacionales (UTO). Para la detección de cepas u “oligotipos” se utilizó Oligotyping y se realizó un análisis de correlación entre los oligotipos para observar interacciones bacterianas. Finalmente, se usó SourceTracker para identificar posibles fuentes de transmisión de las bacterias. El análisis taxonómico de las lecturas permitió observar los mismos grupos, de bacterias y hongos, para todos los procesos de fermentación evaluados, independiente de la época del año y localización geográfica. En las bacterias se presentaron 6 UTOs y para hongos 4 UTOs. No obstante, los cambios en la abundancia y la velocidad de la sucesión se relacionaron con los protocolos o condiciones agroecológicas de las regiones. El análisis de oligotyping permitió distinguir “cepas” dominantes y transitorias durante el proceso. Finalmente, el análisis de correlación permitió identificar relaciones de competencia entre microorganismos. En conclusión, los procesos de fermentación en Colombia presentan poblaciones microbianas con estructuras similares, lo que demuestra que el microbioma es un indicador del proceso fermentativo, generalizable a las diferentes regiones. Por otro lado, la presencia de cepas durante la fermentación en cada región permite generar hipótesis sobre el efecto de las adaptaciones microbianas en la calidad de granos fermentados de cada finca.

BUFORINA II INMOVILIZADA EN NANOPARTICULAS DE MAGNETITA COMO UNA ESTRATEGIA DE ESTABILIZACIÓN EN UN TRATAMIENTO TÓPICO CONTRA *S. aureus*

Pérez Pineda Jessica Giovanna, Juan C. Cruz, Carolina Muñoz-Camargo
jg.perez10@uniandes.edu.co

Departamento de Ingeniería Biomédica, Universidad de los Andes

En los últimos años, se han desarrollado diferentes formulaciones tópicas como el ácido fusídico o la mupirocina que consisten principalmente de excipientes y antibióticos, para el tratamiento de infecciones bacterianas en la piel. Sin embargo, algunas especies bacterianas, como *Staphylococcus aureus*, han desarrollado cepas resistentes a estos tratamientos, especialmente en ambientes clínicos. Por esta razón, actualmente se busca la forma de incorporar moléculas de péptidos con alta actividad antimicrobiana en diferentes compuestos para un gran número de aplicaciones biológicas y biomédicas. Una de estas moléculas es el péptido antimicrobiano Buforina II. A pesar su actividad antibacteriana, Buforina II tiende a degradarse proteolíticamente, y esto conlleva a cortos tiempos de vida media in vitro. Para solucionar este problema, exploramos la inmovilización de Buforina II en la superficie de nanopartículas de magnetita, las cuales fueron preparadas por el método de co-precipitación de cloruros de hierro. La magnetita es un nanomaterial que ha sido utilizado principalmente para la entrega controlada de medicamentos debido a su alto coeficiente de magnetización que permite su traslado a sitios específicos generando la acción de los medicamentos en los lugares específicos de acción, disminuyendo los efectos adversos que se generan por parte de los medicamentos al ser implementados por otra vía. La inmovilización se realizó luego de procesos de silanización de las partículas que permite obtener grupos amino libres en la superficie de las nanopartículas. Las moléculas de Buforina II fueron conjugadas con la ayuda de glutaraldehído a la terminal N debido a la formación de enlaces imina. La distribución de tamaño de la magnetita sintetizada y silanizada se estimaron a partir de muestras de 1 mg/ml de agua destilada por medio de DLS (Zeta-Sizer Nano). La inmovilización fue verificada por medio de análisis FTIR y SDS-Page. Las características del péptido se predijeron por medio de análisis in silico utilizando la base de datos de péptidos antimicrobianos (<http://aps.unmc.edu/AP/main.php>). Las nanopartículas de magnetita sintetizadas exhibieron un tamaño promedio de $\sim 120 \text{ nm} \pm 24 \text{ nm}$, que fue mantenido luego su silanización. La inmovilización de la Buforina II fue corroborada por la banda de absorción Amida I (1650 cm^{-1}), la cual fue encontrada a través de FTIR en el sistema inmovilizado. También se empleó análisis termogravimétrico que confirmó una eficiencia de inmovilización de aproximadamente el 7%. A partir de los resultados encontrados podemos afirmar que la inmovilización se realizó de manera correcta, sin embargo, es necesario realizar estudios de citotoxicidad y de actividad antibacteriana para comparar la estabilidad del péptido inmovilizado con respecto al péptido sin inmovilizar, que en caso de ser exitosos pueden generar nuevos productos para el tratamiento de heridas.

DETECCIÓN DE MOLÉCULAS QUORUM SENSING EN BACTERIAS GRAM-NEGATIVAS AISLADAS DEL COMPARTIMIENTO INTESTINAL DE *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) Y TRIATOMINOS EN COLOMBIA

Pérez Suárez Yineth Lucía, J. A. Londoño Arango, K.L. García Castro, L.M. Montoya Porras, G.A. Bedoya Mesa, R. J. Vivero-Gómez C. X. Moreno-Herrera G. E. Cadavid-Restrepo

ylperezs@unal.edu.co

Grupo de Microbiodiversidad y Bioprospección. Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín, Calle 59A No 63 – 20 Bloque 19A Laboratorio Biología celular y Molecular, Medellín-Colombia

En insectos, bacterias intestinales son capaces producir metabolitos secundarios, péptidos y enzimas que influyen el metabolismo, sistema inmune y competencia vectorial. El conocimiento de las características metabólicas de la flora bacteriana intestinal, proporciona información útil para el control de la transmisión y posible tratamiento de las enfermedades tropicales.

Se conoce que bacterias Gram negativas producen moléculas autoinducidas de comunicación celular tipo N-acil-homoserin lactonas (AHLs) y 2-alkil,4-quinolonas (AQs), las cuales son usadas para el control de su densidad poblacional y que regulan el metabolismo y las actividades antimicrobianas. Este estudio tuvo por objetivo la detección de moléculas de comunicación celular (Quorum sensing- QS) del tipo AHLs y AQs, mediante el uso de cepas biosensoras en seis aislados bacterianos de la microbiota de triatomos y *Lutzomyia evansi*.

Materiales y métodos:

Se seleccionaron seis bacterias Gram negativas identificadas molecularmente como *Enterobacter* sp. (M-LEVOV12 y M-LEVOV11), *Enterobacter ludwigii* (A-LEVOV13 y A-LEVOV14), *Alcaligenes faecalis* (Rcol7) y *Klebsiella pneumoniae* (TmacS8), aislados de *Lutzomyia evansi*, *Rhodnius colombiensis* y *Triatoma maculata* respectivamente. Inicialmente se hizo la extracción metanólica de las moléculas QS presentes en el pellet y el sobrenadante celular a partir de cultivos bacterianos estandarizados y luego se separaron mediante cromatografía de capa fina, las cuales fueron puestas en contacto de los biosensores psB401 y psB1142 (detectores de AHLs de diferentes longitudes de la cadena alquílica) y pqsA-lux (detector de moléculas AQ), en capas uniformes de agar sobre las placas cromatográficas en tiempos establecidos, con el fin de evaluar la existencia o no de bioluminiscencia.

Resultados:

Moléculas AHLs (C6-3-oxo-AHL, C6- AHL, C8-oxo-AHL, C8-AHL) fueron detectadas en el sobrenadante de los aislados M-LEVOV11, M-LEVOV12, Rcol7 y TmacS8 y en el pellet celular de Rcol7 usando el biosensor psB-401. Por otra parte, se detectó la presencia de otras moléculas AHLs en el pellet celular de TmacS8 por medio del biosensor psB-1142, el cual detecta moléculas de cadena larga entre 10 y 12 carbonos. Se encontró que, para ninguna de las muestras evaluadas se detectó la presencia de moléculas 2-alkil-4-quinolonas en las condiciones evaluadas.

Conclusiones

La detección de moléculas de comunicación celular a partir de la microbiota intestinal de insectos vectores ha sido poco explorada a pesar de la importancia en cuando a la regulación de muchos fenotipos asociados al huésped, como por ejemplo, la producción de

factores de virulencia. Los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Alcaligenes* son ampliamente distribuidos en los insectos y el papel de las moléculas QS en la modulación de la densidad microbiana y su influencia en el control vectorial debe ser ampliamente estudiado.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (AMILOLÍTICA, CELULOLÍTICA Y LIPOLÍTICA) Y DE LA PRODUCCIÓN DE SIDEROFOROS EN BACTERIAS EPIFITAS DE MACROALGAS DE LA ESPECIE *Ulva lactuca*

Maria Luna Ramirez Hoyos (Profesional en Bacteriología y Laboratorio Clínico
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, grupo de investigación Bioprocesos y
Bioprospección, Universidad Nacional de Colombia) E-mail:
luna.ramirez.hoyos@gmail.com

Natalia Beatriz Comba Gonzalez (Doctor en Ciencias- Biología, Instituto de Biotecnología
Universidad Nacional de Colombia) E-mail: natalia.comba@gmail.com

Dolly Montoya Castaño (Director grupo de investigación Bioprocesos y Bioprospección y
rector Universidad Nacional de Colombia) E-mail: dmontoyac@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN: Las superficies vivas marinas albergan gran cantidad de microorganismos, debido a que poseen características particulares convirtiéndolas en un hábitat propicio para las poblaciones bacterianas, tal es el caso de macroalgas del género *Ulva*, las cuales tienen en su pared una amplia variedad de compuestos que son empleados por las bacterias epifitas para su sobrevivencia utilizando diferentes mecanismos. Debido a la importancia que tiene esta microbiota, el objetivo de este proyecto fue identificar taxonómicamente bacterias epifitas de macroalgas de la especie *Ulva lactuca*, productoras de amilasas, celulasas, lipasas y sideróforos. **MÉTODOS:** Se recolectaron muestras de macroalgas de la especie *Ulva lactuca* y se realizó un aislamiento de bacterias de sus superficies, con el fin de evaluar las tres actividades enzimáticas y la producción de sideróforos en medios de cultivo enriquecidos con sustratos específicos; posteriormente se llevó a cabo la identificación taxonómica de los aislamientos mediante la amplificación del gen 16S rRNA y secuenciación del amplicón obtenido por el método de Sanger. **RESULTADOS:** Se lograron aislar 56 cepas de las cuales todas presentaron al menos una de las actividades enzimáticas, además de la producción de sideróforos y se clasifican dentro los géneros *Bacillus* y *Vibrio*. **CONCLUSIONES:** Este estudio se constituye como la primera aproximación en cuanto al conocimiento de las bacterias epifitas de macroalgas de la especie *U. lactuca* presentes en el Caribe Colombiano y de su capacidad para sintetizar enzimas y sideróforos, de manera que los resultados obtenidos revelan el potencial que tienen estas bacterias para la producción de compuestos bioactivos, los cuales debido a sus características funcionales son de interés biotecnológico.

METASUB BOGOTÁ: MICROBIOMA DEL SISTEMA DE TRANSPORTE MASIVO TRANSMILENIO

Ramírez Rojas Adán Andrés, María Mercedes Zambrano
adanramirezrojas@gmail.com
Corporación CorpoGen

Entre las iniciativas que han surgido a nivel mundial para el estudio del microbioma de nuestro planeta, el consorcio internacional MetaSUB (Metagenomics and Metadesign of the Subways and Urban Biomes) busca obtener una visión de microbiomas urbanos con el fin de contribuir a mejorar la planeación y uso de espacios construidos, y su posible impacto sobre la salud. El trabajo de MetaSUB se enfoca principalmente en los medios de transporte masivo, al ser sitios de alta confluencia de la población. CorpoGen participa en esta iniciativa con el estudio del microbioma del sistema de transporte masivo TransMilenio en Bogotá. Transmilenio transporta hasta 2 millones de personas diariamente y representa un foco importante de intercambio de microorganismos entre los habitantes de la ciudad ya que las superficies en los buses y estaciones pueden ser ambientes con alta carga microbiana, incluso con posible presencia de microorganismos patógenos. Para tener un mejor conocimiento de estas comunidades microbianas y una idea más clara del riesgo que pueden representar, se han realizado muestreos en tres años consecutivos en la ciudad de Bogotá (2016 - 2018) durante el evento llamado “Global City Sampling Day”, en el que investigadores de más de 50 ciudades han tomado muestras a lo largo de los sistemas de transporte y otros espacios públicos. Estas muestras se tomaron frotando hisopos estériles sobre diversas superficies (pasamanos, sillas, ventanas, etc.) y se extrajo ADN para secuenciación masiva (Illumina) y análisis por herramientas bioinformáticas (MetaPhlan2, Kraken) para realizar una caracterización de las comunidades microbianas presentes. En total, se han tomado 368 muestras en diferentes superficies de las estaciones y buses de TransMilenio durante los tres años de participación, en los que resultados preliminares sobre la diversidad microbiana indican alta presencia de bacterias pertenecientes a los Phyla Proteobacteria y Actinobacteria. A nivel de género, resaltan bacterias como *Propionibacterium* y *Pseudomonas*. Una vez se hayan analizado todos los resultados, se espera que los datos producidos al final de este estudio tengan un impacto en el diseño de políticas de salud pública y ambiental.

PREDICCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA A AMPICILINA EN AISLAMIENTOS DE *Enterococcus faecium* MEDIANTE RANDOM FOREST SOBRE CAMBIOS EN LA SECUENCIA DE LA PROTEÍNA PBP5

Ríos Rafael¹, Díaz L^{1,2}, Reyes J^{1,2}, Panesso D^{2,4}, Carvajal LP¹, Echeverri AM¹, Bhavarth S⁷, Munita JM^{1,2,6}, and Arias C¹⁻⁵.

rafa.rios.50@gmail.com

¹Unidad de Genética Molecular y Resistencia Antimicrobiana, Centro Internacional de Genómica Microbiana, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. ²Center for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics, University of Texas McGovern Medical School, Houston, TX, USA. ³Department of Microbiology and Molecular Genetics, University of Texas McGovern Medical School, Houston, TX, USA. ⁴Division of Infectious Diseases, University of Texas McGovern Medical School, Houston, TX, USA. ⁵Center for Infectious Diseases, University of Texas School of Public Health, Houston, TX, USA. ⁶Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile. ⁷Jackson Memorial Hospital, University of North Carolina at Chapel Hill, Miami, Florida

Introducción

La resistencia a ampicilina en *Enterococcus faecium* ha sido asociada a la proteína de unión a penicilina de clase B (PBP5), la cual posee baja afinidad por betalactámicos, confiriendo resistencia en varios niveles al antibiótico. Dichas diferencias han sido relacionadas a cambios en la secuencia de aminoácidos en la PBP5. Gracias al incremento en el número de genomas secuenciados es posible asociar esta información, mediante herramientas de aprendizaje de máquina, para caracterizar aislamientos de relevancia clínica. Con este trabajo buscamos predecir la concentración mínima inhibitoria (CIM) a ampicilina mediante random forest a partir de los cambios presentes en la secuencia de la PBP5 en aislamientos de *E. faecium*.

Métodos

Analizamos un total de 250 secuencias de PBP5, 141 obtenidas de genomas disponibles en el NCBI y 109 de nuestra colección de aislamientos clínicos. Solo 42 secuencias disponían de un valor exacto de CIM, en el rango de 0.25 a 258 µg/ml; para 119 secuencias la CIM estaba reportada como mayor de 32 o mayor de 64 µg/ml; y para las 89 restantes solo se sabía si eran susceptibles (n=45) o resistentes (n=44). Se realizaron alineamientos de cada PBP5 contra la secuencia de la cepa susceptible Com15 para obtener los cambios de aminoácidos. Las secuencias con CIM exacta fueron utilizadas como conjunto de entrenamiento para el random forest y las 208 restantes como conjunto de prueba. El modelo fue construido con 100 árboles usando el Log₂(CIM) como función objetivo a partir de los 40 cambios de aminoácidos con mayor capacidad predictiva. Una predicción positiva fue definida como aquella con la CIM predicha igual a la reportada o cuyo resultado se encontraba dentro de su rango. Un error mayor fue definido si la CIM predicha era susceptible cuando la reportada era resistente.

Resultados

El modelo predijo correctamente 97% de los casos de prueba (202/208) y los seis faltantes fueron errores mayores. De los 40 cambios seleccionados para las predicciones, 19 ya han sido reportados como relevantes en la resistencia a ampicilina mientras que los otros 21 son nuevos. Aquellos casos en donde se presentaron errores mayores, las secuencias de la PBP5 fueron similares a aquellas de aislamientos susceptibles, sugiriendo que la

resistencia a ampicilina no está solamente mediada por la PBP5, impidiendo una predicción más precisa en dichos casos.

Conclusiones

Es posible predecir la CIM a ampicilina en aislamientos de *E. faecium*, mostrando el potencial de las técnicas de aprendizaje de maquina en el entorno clínico, pero está limitada a la información disponible que permita explicar los posibles mecanismos de resistencia. Adicionalmente no fue posible verificar las CIM de todas las secuencias usadas, lo cual podría disminuir las tasas de error en las predicciones.

LA FERMENTACIÓN DE ALMIDÓN POR PARTE DE *Bacteroides thetaiotaomicron* ESTIMULA LA TRANSFORMACIÓN DEL FLAVONOIDE QUERCETINA POR PARTE DE *Eubacterium ramulus*

Rodríguez Gina Paola¹, Luis Alejandro Acosta Gonzalez¹, Matthew R Dorris², Xingbo Liu², Bradley W Bolling², Federico E. Rey³.

ginapaola@gmail.com

¹Engineering Department, La Sabana University, Chia, Colombia

²Department of Food Science, University of Wisconsin-Madison

³Department of Bacteriology, University of Wisconsin-Madison
Universidad de La Sabana

Los flavonoides son compuestos polifenólicos producidos por las plantas que se encuentran en frutas, verduras y granos. Su consumo se asocia a la reducción del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. La microbiota intestinal influye en los efectos de los flavonoides transformándolos en metabolitos de mayor bioabsorbibilidad y actividad. Sin embargo, estos compuestos polifenólicos no son usados por los microorganismos como fuente de carbono o energía y su metabolización depende de otros sustratos acompañantes. Uno de los flavonoides más abundantes es la quercetina, la cual es transformada a ácido 3,4- dihidroxifenilacético y ácidos grasos de cadena corta (butirato y acetato) por parte de la bacteria intestinal, *Eubacterium ramulus*, en la presencia de glucosa. Sin embargo, la glucosa es un sustrato de fácil absorción en la parte alta del tracto gastrointestinal, lo que dificulta su utilización por parte de *E. ramulus* que, como microorganismo anaerobio estricto, reside en el colon. Por lo tanto, en este estudio se evaluó la capacidad de *E. ramulus* de transformar la quercetina usando almidón, un polisacárido vegetal complejo que contiene glucosa y estimula el crecimiento de productores de butirato in vivo. *E. ramulus* en monocultivo no es capaz de utilizar almidón para crecer ni para transformar la quercetina., sin embargo, en cocultivo con una bacteria degradadora de almidón, *Bacteroides thetaiotaomicron*, la cual no es degradadora de quercetina, *E. ramulus* presentó crecimiento y llevó a cabo la transformación de la quercetina. Nuestra hipótesis es que esta estimulación es causada por la alimentación cruzada de productos del rompimiento de moléculas de almidón por parte de *B. thetaiotaomicron*. Consistentemente, se detectó glucosa libre en el medio en cultivos en los que *B. thetaiotaomicron* crecía con almidón. La cantidad de glucosa liberada es suficiente (>0.3 mM). para que en tan solo 8 horas de incubación la degradación de la quercetina sea completa Estas observaciones indican que la interacción de diferentes especies en el intestino por medio de alimentación cruzada puede llevar a la transformación de otros compuestos como los flavonoides, afectando su biodisponibilidad y bioactividad, e influenciando el efecto que tienen sobre la salud humana.

EVALUACIÓN DE *Bacillus subtilis* Y *Pseudomonas extremaustralis* COMO BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO EN PLANTAS DE PAPA CRIOLLA, FRÍJOL Y TOMATE

Rodríguez Mirque Carolina, Natalia Rodríguez Rodríguez, Nicolás Ramírez Celis, Silvio Alejandro López Pazos.

caromirque@gmail.com

Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño

Los fertilizantes químicos han sido una solución en la agricultura debido a que estos le dan la capacidad al suelo de ser más fértil, aportando elementos necesarios para el desarrollo de la planta. Sin embargo, estos métodos están siendo apartados debido a que generan problemas ambientales y de salud pública importantes, además de provocar pérdidas de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos. Estos métodos están siendo reemplazados por rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), microorganismos capaces de producir hormonas, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos y compuestos orgánicos volátiles. *Bacillus subtilis* está asociada a promoción de crecimiento vegetal ya que produce hormonas de crecimiento, diferentes tipos de antibióticos, lipopéptidos y la formación de biopelícula. El género *Pseudomonas* sp. está asociado a promoción de crecimiento vegetal. Por su parte, *Pseudomonas extremaustralis* es un microorganismo Antártico que presenta alta resistencia al estrés asociado a bajas temperaturas y producir polihidroxitirato, se ha encontrado que posee una buena capacidad de solubilización y mineralización de fósforo. Este proyecto busca evaluar el efecto benéfico que puedan tener estas bacterias en cuanto a la promoción de crecimiento de las plantas de frijol, papa y tomate, teniendo en cuenta su importancia en la producción de Colombia por su efecto económico y por su contenido alimenticio. Para este fin, se realizará un ensayo biológico donde se sembrarán semillas de cada planta desinfectadas, e inoculadas con *P.extremaustralis* CMPUJ U515 y *B.subtilis* ATCC 6633, usando como control la cepa de *P.aeruginosa* PAO1. Se hará un total de 3 repeticiones con 30 individuos, usando una concentración de 10^{-7} a 10^{-10} UFC/ml. Se evaluará fenotipos incluyendo tamaño de raíz, tallo, peso húmedo y seco, área foliar, entre otros. Paralelamente, se identificarán genes asociados a la promoción de crecimiento en las bacterias evaluadas, a los cuales se les realizará análisis bioinformático incluyendo BLAST (identificar secuencias similares), CLUSTAL OMEGA (determinar diferencias en secuencia), y modelamiento tridimensional por homología (para establecer características estructurales). Se espera determinar la posible capacidad de las bacterias *B.subtilis* y *P.extremaustralis* en promoción de crecimiento vegetal en papa, tomate y frijol, y encontrar cambios genómicos asociados a la posible interacción bacteria-planta.

COMPARACIÓN DE GENES QUE CODIFICAN RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN *Mycobacterium avium* Complex Y *Mycobacterium tuberculosis* Complex

Rojas Ospina Daniel Andrés
daarojasos@unal.edu.co
Universidad Nacional de Colombia

Introducción:

En la actualidad, los complejos *M. avium* (MAC) y *M. tuberculosis* (MTBC) son considerados como agentes etiológicos en enfermedades como la tuberculosis humana, una de las 10 principales causas de mortalidad en el mundo. La resistencia antibiética en MTBC se ha constituido en una crisis de salud pública y una amenaza para la seguridad sanitaria. Por tal razón, la implementación de nuevas estrategias para el tratamiento de este tipo de enfermedades ha permitido el uso de tecnologías que puedan acelerar pruebas de susceptibilidad a antibióticos. Este trabajo tiene como objetivo general comparar genes de resistencia antibiética de los genomas completos miembros de los complejos *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium tuberculosis*, específicamente se desarrolló una estrategia para la identificación de genes de resistencia antibiética en los complejos *M. tuberculosis* y *M. avium*.

Materiales y métodos:

Se implementó un flujo de procesamiento computacional (pipeline) para el análisis y comparación de los complejos *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium tuberculosis* con el fin de identificar relaciones basadas en la resistencia a antibióticos que poseen estos dos complejos bacterianos. Para el análisis y comparación de genes de resistencia se utilizó un conjunto de genomas completos del ENA (European Nucleotide Archive) asociados a *Mycobacterium tuberculosis* complex, además de un grupo de genomas de *M. avium* complex. Los genomas fueron procesados usando la herramienta KvarQ, lo cual permitió el análisis y comparación de genes resistentes a antibióticos de primera línea, para determinar las mutaciones asociadas y sus regiones.

Resultados:

Al identificar resistencia antibiética en los genomas descargados del complejo *M. tuberculosis* se encontró resistencia asociada a antibióticos de primera línea como isoniacida (32,2%), estreptomina (29,8%), Rifampicina (22,2%), Etambutol (10,1%), pirazinamida (5,6%). Para el análisis de resistencia antibiética en MAC, se encontraron múltiples secuencias con baja cobertura y sin información relacionada a resistencia antibiética, por lo cual se encontró resistencia a rifampicina en un genoma.

Conclusiones:

En los genomas de *M. tuberculosis* complex analizados se identificó que poseían en su mayoría resistencia a los antibióticos isoniacida, rifampicina y estreptomina, los cuales están asociados a los genes *katG*, *rpsL* y *rpoB*. La frecuencia de mutación en *M. tuberculosis* complex es más alta para genes *katG*, *rpsL* y *rpoB*. La identificación de regiones asociadas a resistencia en el complejo *M. avium* es muy pobre debido a la falta de información que posea una mejor cobertura dentro de la tecnología de secuenciación. Se sugiere implementar este proceso con aislados propios, donde se pueda realizar este tipo de análisis sobre genomas diferentes a los disponibles en las bases de datos públicas

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE HONGOS AMBIENTALES IMPLICADOS EN LA CAPACIDAD DE DEGRADACIÓN DE POLIURETANOS FLEXIBLES (ESPONJA DE COCINA)

Suárez Suárez Lady Yesenia, Medina Jhoreima, Gil Astrid, Galvis Lendys

lady.suarez@unipamplona.edu.co

Universidad de Pamplona

En principio, todo compuesto sintetizado biológicamente puede ser descompuesto biológicamente. Sin embargo, muchos compuestos biológicos (lignina, celulosa, entre otros.) son difícilmente degradados por los microorganismos debido a sus características químicas. Muchos compuestos químicos utilizados en las diversas industrias, como por ejemplo el poliuretano flexible también conocido como espuma, hule espuma o tradicionalmente conocido como esponja de cocina no pueden ser degradados fácilmente en la naturaleza, empleando otras alternativas no amigables con el medio ambiente para su tratamiento como son incineración, relleno sanitario entre otros y de esta manera contribuyendo a la contaminación ambiental. Esta investigación surge como iniciativa de los estudiantes del programa de microbiología a través de proyectos de aula y ante la problemática ambiental sobre el empleo de poliuretano flexible. El objetivo de este proyecto fue iniciar la búsqueda de hongos ambientales con la capacidad de degradar en diversas condiciones ambientales la degradación de poliuretanos flexibles. **Materiales y Métodos:** A través de técnicas tradicionales en microbiología se realizó el aislamiento y caracterización de hongos ambientales y posteriormente ensayos para determinar la capacidad de crecer y degradar materiales de común uso como es el poliuretano flexible (esponja de cocina), a través de medios de cultivos modificados y diversas condiciones. **Resultados:** Dentro de los resultados preliminares se destaca la presencia de los mohos aislados de la esponja de poliuretano que corresponden a *Aspergillus* spp. y *Trichoderma* spp, identificados con ayuda de las claves taxonómicas. Es de resaltar que estos mohos presentan gran capacidad de crecer en presencia del poliuretano, ofreciendo una perspectiva positiva en la continuidad del estudio a través de herramientas moleculares y técnicas de análisis químico. **Conclusión:** Los hongos *Aspergillus* spp y *Trichoderma* sp, aislados en este estudio, tienen una capacidad moderada para degradar poliuretano flexible, teniendo gran potencial para ser utilizados en procesos alternativos en el tratamiento de residuos sólidos y de esta manera contribuir en la minimización de estos contaminantes en el medio ambiente.

CONFLICTOS DE GOBERNANZA DEL AGUA ASOCIADOS A UN AGROECOSISTEMA PERIURBANO DE LA ORINOQUÍA: RESULTADOS PRELIMINARES

Velandia Bobadilla Didier José, Julieth Camila Pineda Piñeros
didier.velandia@unillanos.edu.co
Universidad de los Llanos

La gestión comunitaria del agua en Latinoamérica y Colombia es una de las formas tradicionales de administración del recurso que logra abastecer una parte considerable de la población, sin embargo, se hace necesaria una gobernanza basada en la interacción comunidad – entorno para el éxito de dicha gestión, lo cual se ve reflejado en la calidad del recurso hídrico. Con el fin de analizar la calidad del recurso hídrico y las implicaciones de la gobernanza en un agroecosistema periurbano de la ciudad de Villavicencio, se determinó la concentración de coliformes totales y fecales en algunos cuerpos de agua de la cuenca del Caño Zuria, ubicado en el municipio de Villavicencio. Se tomaron tres puntos de muestreo entre los meses de mayo y junio. Las muestras fueron evaluadas mediante el método del Número Más Probable (NMP) en medio Chromocult. Se encontraron un total de 18 muestras contaminadas para los grupos evaluados, que presentaron valores de pH=5, además concentraciones entre 23 NMP/100ml y 1100 NMP/100ml para coliformes totales; en el caso de coliformes fecales se presentaron concentraciones entre 13 NMP/100ml y 1100 NMP/100ml, con una clasificación IRCA (índice de riesgo de la calidad del agua para consumo humano) de 100%, lo que indica un alto nivel de riesgo para la salud de la población del área periurbana. Dentro de los factores encontrados en el área que contribuyen a la contaminación de los cuerpos hídricos se encuentran la expansión residencial y la presencia de usos del suelo como la ganadería y la agricultura, que inducen presiones sobre los recursos naturales en general y sobre la disponibilidad y calidad del agua para consumo humano, lo que representa un reto para los procesos de gestión y gobernanza del agua en la zona.

IDENTIFICACIÓN DE RECEPTORES DE TOXINAS CRY PRESENTES EN EL INTESTINO MEDIO DE *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleóptera: Curculionidae)

Velásquez Cardona Luisa Fernanda, Jairo Cerón
lfvelasquezc@unal.edu.co
Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá

INTRODUCCIÓN

Bacillus thuringiensis (Bt) es importante en el manejo de insectos plaga debido a que produce toxinas insecticidas (proteínas Cry). Su actividad depende de la interacción de las Cry con proteínas receptoras (Caderinas, aminopeptidasa N, fosfatasa alcalinas, ADAM metaloproteasas, transportadores ABC, entre otras), presentes en el intestino del insecto y así formar poros intestinales que producen la muerte.

Al realizar ensayos de interacción con VMMA (vesículas de membrana de microvellosidades apicales) extraídas del intestino medio de *P.vorax* y proteínas Cry (Cry3Aa, Cry3Bb y Cry3Ca), se observó unión entre ellas; razón por la cual se realizaron análisis de unión que identificaron dos posibles proteínas receptoras de 70 y 97 kDa. A pesar de que en bioensayos previos las Cry presentaron actividad tóxica menor o igual al 10%, esto sugirió presencia de un receptor. Partiendo de estos preliminares es necesario ampliar la base investigativa de las Cry frente a este insecto, y lograr establecer bases para desarrollar estrategias de control biológico (diseño de plantas transgénicas y/o uso del péptido (fragmento) del sitio activo del receptor para aumentar sinergia).

Objetivo

Identificar proteínas receptoras de toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* presentes en el transcriptoma del intestino medio de larvas *Premnotrypes vorax*

Objetivos Específicos

- Ensamblar el transcriptoma de *P.vorax* e identificar genes receptores de toxinas Cry
- Clonar activas contra coleópteros
- Caracterizar posibles proteínas receptoras de *P.vorax* y evaluar la interacción con proteínas Cry

Materiales y métodos

- Recolección de larvas de *P. vorax* en cosechas del cultivo de papa.
- Disección del intestino de larvas recolectadas
- Extracción del RNA del intestino medio y secuenciación del transcriptoma por la técnica masiva NGS Illumina.
- Limpieza y ensamblaje de la secuenciación masiva y posterior comparación con receptores identificados en coleópteros previamente

Resultados

Se seleccionaron proteínas Cry de cepas de Bt activas contra coleópteros, del IBUN Universidad Nacional y se determinó su interacción con VMMA de *P.vorax*.

Se secuenció e identificó genes que codifican para proteínas receptoras de toxinas Cry reportadas en otros coleópteros sensibles a dicho biopesticida.

Conclusiones

Se determinó interacción entre las toxinas Cry seleccionadas y proteínas intestinales presentes en las VMMA de *P. vorax*. Esto sugiere la presencia de uno o más receptores de toxinas Cry que puedan potenciar el rendimiento del biocontrolador sobre el insecto plaga.

Adicionalmente, a través del transcriptoma de *P. vorax* obtenido fue posible identificar más de una proteína homóloga a receptores de Toxinas Cry, lo cual indica la base para identificar el mecanismo de acción que las toxinas Cry previamente seleccionadas realizan para llevar a cabo un adecuado biocontrol. Dichos resultados y análisis pueden sustentar nuevas investigaciones encaminadas a la potenciación de la expresión de los receptores identificados que puedan potenciar la actividad tóxica y altamente específica de las toxinas Cry insecticidas.