



1ras JORNADAS INSTITUCIONALES INBIOMIS

10 años Construyendo Biotecnología

LIBRO DE RESÚMENES

23 y 24 de Junio de 2022
Posadas – Misiones



Universidad Nacional de Misiones

1ras Jornadas Institucionales INBIOMIS : 10 años construyendo biotecnología : libro de resúmenes / compilación de María de los Ángeles Kolman ; Adriana Elizabet Alvarenga. - 1a ed. - Posadas : Universidad Nacional de Misiones, 2022.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-950-766-205-8

1. Biotecnología. 2. Biotecnología Ambiental. 3. Ingeniería Ambiental. I. Kolman, María de los Ángeles, comp. II. Alvarenga, Adriana Elizabet, comp. III. Título.
CDD 660.6

ISBN 978-950-766-205-8



Diseño Gráfico y Editorial

Dra. Maria de los Angeles Kolman; Dra. Adriana Elizabet Alvarenga

Compilación

Dra. Maria de los Angeles Kolman; Dra. Adriana Elizabet Alvarenga

Coordinación General

Dra. Maria de los Angeles Kolman; Dra. Adriana Elizabet Alvarenga.

Comité Organizador

Dra. Maria de los Angeles Kolman

Dra. Adriana Elizabet Alvarenga

Dra. Maria Lorena Castrillo

Dr. Gustavo Angel Bich

Dra. Marcela Alejandra Sadañoski

Dr. Juan Ernesto Velázquez

Dra. Karina Beatriz Acosta

Lic. Aníbal Sebastián Chelaliche

Lic. Silvana Florencia Benítez

Farm. Gabriela Alejandra Acosta

Bqca. Andrea Liliana Onetto

Lic. Marilyn Romina Valeria Silva

Lic. Manuela Lizz Vereschuk

Lic. Lucas Martín Madrassi

Martín Ledesma

Lic. Tatiana Schmalko

Primeras Jornadas Institucionales InBioMis

Los días 23 y 24 de junio de 2022 se llevaron a cabo las 1ras Jornadas de InBioMis organizadas por el Instituto de Biotecnología de Misiones “Dra. Maria Ebe Reca” .

En las jornadas se abordaron un conjunto de temáticas relacionadas con distintos aspectos de la biotecnología claves para la transferencia de I+D+i y la vinculación con distintos sectores productivos regionales y nacionales. El lema de nuestra primera edición es “10 años Construyendo Biotecnología” y refleja una década de investigación, formación de recursos humanos, vinculación y transferencia tecnológica. Durante los dos días del evento, los investigadores de nuestro Instituto brindaron charlas plenarias, se realizaron mesas redondas y exposición de e-posters.

Las temáticas desarrolladas en las Jornadas fueron:

1. Agrobiotecnología (AB)
2. Biotecnología Ambiental (BA)
3. Ingeniería Biotecnológica (IB)
4. Nanobiotecnología (NB)
5. Biomedicina (BM)

Auspiciadas por



Declaradas de Interés Municipal por el



Declaradas de Interés Provincial por la



Programa Primeras Jornadas Institucionales InBioMis

23 de Junio

15:30

Conferencia de la Dra. María Isabel Fonseca

"Utilización de hongos y enzimas para la innovación en procesos biotecnológicos."

16:45

Mesa redonda. Biotecnología Ambiental

Coordinador: Dra. Maria Isabel Fonseca

Disertantes:

Dra. Marcela Sadañoski

"Micorremediación para el futuro."

Dra. María Florencia Bruera

"Aplicaciones biotecnológicas de la inmovilización enzimática sobre soportes nanoestructurados de óxido de aluminio."

Dr. Juan Ernesto Velazquez

"Co-producción de compuestos de alto valor agregado como estrategia de aprovechamiento de efluentes de industria citrícola."

Dra. Gabriela Diaz

"Producción de bioetanol a partir de residuos agroindustriales regionales."

24 de Junio

8:30

Conferencia de la Dra. Daniela Rodriguez

"Producción misionera de enzimas lignocelulolíticas."

9:30

Conferencia del Dr. Marcelo Marinelli

"Aplicación de Inteligencia Artificial e Internet de las Cosas a los cultivos hidropónicos."

10:30

Mesa Redonda. Agrobiotecnología

Coordinador: Dra. Adriana Elizabet Alvarenga

Disertantes:

Dra. Margarita Laczeski

"Avances en la aplicabilidad de *Bacillus altitudinis* como biofertilizante de yerba mate."

Dr. Gustavo Bich

"Hongos nativos del orden Hypocreales utilizados en control biológico."

Dra. Lorena Castrillo

"Genes, conidias y productos metabólicos de *Trichoderma* implicados en biocontrol."

14:00

Mesa Redonda Laboratorio de Biología Molecular Aplicada (LaBiMAp)

Coordinador: Dr. Javier Liotta

Disertantes:

Lic. María Elina Totaro

“VPH: epidemiología y factores de riesgo asociados al cáncer de cuello uterino.”

Dr. Samuel Miño

“Actividades de investigación en diagnóstico, epidemiología y análisis de patógenos veterinarios con el enfoque “una salud”.”

Dra. Sofia Moya

“Contribución del LaBiMAp-UNaM a estudios ecoepidemiológicos de las leishmaniasis en Argentina.

15:15

Conferencia del Dr. Fernando Barreyro

“Relación entre la infección por *Helicobacter pylori* y la enfermedad del hígado graso no alcohólico: ¿espectador silencioso o culpable?”

16:15

Mesa Redonda. Biomedicina

Coordinador: Dr. Cristian Ferri

Disertantes:

Dra. López Myriam

“Marcadores moleculares en enfermedad celíaca.”

Dra. Karina Acosta

“Marcadores moleculares en cáncer de mama.”

PRESENTACIONES ORALES

MARCADORES MOLECULARES EN CÁNCER DE MAMA	2
ACOSTA, Karina B.; MASCHERONI, María B. ; ESNARRIAGA, María S. ; RIVERO, Donovan;; TISCORNIA, María M.; FERRI, Cristian A.; ZAPATA, Pedro D.	
VPH: EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL CÁNCER DE CUELLO UTERINO	4
BADANO, Ines ; TOTARO, María E.; LIOTTA, Domingo J.	
HONGOS NATIVOS DEL ORDEN HYPOCREALES UTILIZADOS EN CONTROL BIOLÓGICO	6
BICH, Gustavo A.; CASTRILLO, Maria L.; BARENGO, Marcela P.; AMERIO, Natalia S.; PEDROZO Tania T.; ROTHARMEL Florencia; ZAPATA, Pedro D.; VILLALBA, Laura L.	
APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LA INMOVILIZACIÓN ENZIMÁTICA SOBRE SOPORTES NANOESTRUCTURADOS DE ÓXIDO DE ALUMINIO	8
BRUERA, Florencia A.	
GENES, CONIDIAS Y PRODUCTOS METABÓLICOS DE <i>TRICHODERMA</i> IMPLICADOS EN BIOCONTROL	9
CASTRILLO, Maria L.; AMERIO Natalia S.; BARENGO, Marcela P. ; PEDROZO Tania T.; SOAREZ Julieta N. ; ROTHÄRMEL Florencia ; BICH, Gustavo A. ; VILLALBA Laura L. ; ZAPATA Pedro D.	
ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN EN DIAGNÓSTICO, EPIDEMIOLOGÍA Y ANÁLISIS DE PATÓGENOS VETERINARIOS CON EL ENFOQUE “UNA SALUD”	11
MIÑO, Samuel ; DA LUZ, Miguel ; LIOTTA, Domingo J.	
CONTRIBUCIÓN DEL LABIMAP-UNAM A ESTUDIOS ECOEPIDEMIOLÓGICOS DE LAS LEISHMANIASIS EN ARGENTINA.	13
MOYA, Sofía L.; ACARDI, Soraya ; GIULIANI, Magalí G.; SALOMÓN, Oscar D.; LIOTTA, Domingo J.	
MICORREMEDIACIÓN PARA EL FUTURO	15
SADAÑOSKI, Marcela A.	
CO-PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS DE ALTO VALOR AGREGADO COMO ESTRATEGIA PARA EL APROVECHAMIENTO DE EFLUENTES DE INDUSTRIA CITRÍCOLA	16
VELÁZQUEZ, Juan E.	
AGROBIOTECNOLOGÍA	17
CONDICIONES ÓPTIMAS DE TEMPERATURA Y PH PARA ENZIMAS MICOLÍTICAS SECRETADAS POR <i>TRICHODERMA KONINGIOPSIS</i> POS7	18
AMERIO Natalia S. ; BARENGO Marcela P.; BICH Gustavo A.; ZAPATA Pedro D.; VILLALBA Laura L.y CASTRILLO María L.	
MICOPARASITISMO DE <i>ESCOVOPSIS</i> HMP9, PROMISORIO PARA BIOCONTROL DE HORMIGAS CORTADORAS DE HOJAS	21
BARENGO, Marcela P.; ALZAGA, Ernesto E. ; BICH, Gustavo A.; AMERIO, Natalia S. ; ZAPATA, Pedro D. ; CASTRILLO, María L.	
EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE VIABILIDAD DE CEPAS NATIVAS DE <i>METARHIZIUM</i>	23
BICH, Gustavo A.; CASTRILLO, Maria L.; KRAMER, Fernando L.; VILLALBA, Laura L.; ZAPATA, Pedro D.	

GENES INVOLUCRADOS EN MECANISMOS DE BIOCONTROL DE <i>TRICHODERMA KONINGIOPSIS</i> POST	25
CASTRILLO, María L.; AMERIO, Natalia S.; BARENGO, Marcela P.; BICH, Gustavo A.; VILLALBA, Laura L.; SAPARRAT, Carlos M. N.; ZAPATA, Pedro D.	
EFFECTO BIOFERTILIZANTE DE <i>BACILLUS ALTITUDINIS</i> EN PLANTINES DE YERBA MATE EN VIVERO.	27
CORTESE, Ileana J.; BOYCHO, Marisa E.; ONETTO, Andrea L.; CASTRILLO, María L.; LACZESKI, Margarita E.	
EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTIHELMÍNTICO EN OVINOS Y CAPRINOS DE MISIONES	29
DÍAZ Aylen R.; DÍAZ ALARCÓN Ricardo; MIÑO Cristian; DA LUZ Miguel; LIOTTA Domingo J.; MIÑO Samuel	
EFFECTO <i>IN VITRO</i> DE PESTICIDAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE <i>BEAUVERIA BASSIANA</i>	31
IRIARTE Agustina M.; SILVA Marilyn; SADAÑOSKI Marcela A.; FONSECA María I.	
AUTOMATIZACIÓN EN GERMINACIÓN DE CULTIVOS HIDROPÓNICOS	33
KURTZ, Olga M.	
PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN PLANTAS YERBA MATE INOCULADAS CON <i>TRICHODERMA SPP.</i>	35
LÓPEZ Ana C.; ZAPATA Pedro D.; LUNA María F.; ALVARENGA Adriana E.	
SEVERIDAD DE AISLAMIENTOS FÚNGICOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN RADICULAR EN <i>Manihot esculenta</i>	37
MARTÍNEZ, Sebastián. A.; MADRASSI, Lucas M.; MÓNACO, Cecilia I.; ZAPATA, Pedro D.; ALVARENGA, Adriana E.	
ALTURA Y NÚMERO DE HOJAS COMO ESTIMADORES DEL CRECIMIENTO DE <i>ILEX PARAGUARIENSIS</i>	39
ONETTO, Andrea L.; CORTESE, Iliana J.; CASTRILLO, María L.; LACZESKI, Margarita E.	
EFFECTO MICOPARASITICO DE <i>TRICHODERMA KONINGIOPSIS</i> POST SOBRE <i>ALTERNARIA ALTERNATA</i>.	41
ROTHARMEL, Florencia I.; AMERIO, Natalia S.; BICH, Gustavo A.; CASTRILLO, María L.	
<i>TRICHODERMA SPP.</i> COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE LA PUDRICIÓN RADICULAR EN MANDIOCA	43
VARGAS, Adriana D.; MADRASSI, Lucas M.; ZAPATA, Pedro D.; MÓNACO, Cecilia I.; ALVARENGA, Adriana E.	
ALTERNATIVAS DE CONTROL PARA EL TIZÓN DEL HILO BLANCO EN <i>ILEX PARAGUARIENSIS</i>	45
VERESCHUK, Manuela L.; DOMINGUEZ, Facundo G.; ALVARENGA, Adriana E.; ZAPATA, Pedro D.	
IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTO FÚNGICO DEL GÉNERO <i>BEAUVERIA</i> NATIVA DE LA PROVINCIA DE MISIONES	47
SILVA, Marilyn R.V.; ORTELLADO, Laura E.; BICH, Gustavo Á.; CASTRILLO, María L.; FONSECA, María I.; ZAPATA, Pedro D.; VILLALBA, Laura L.	
BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL	49
ANÁLISIS DEL SITIO CATALÍTICO EN LACASAS: CLAVES MOLECULARES DEL ACOPLAMIENTO CON LIGANDOS	50
AYALA SCHIMPF, Alan R.; GAMARRA, Marcelo D.; FONSECA, María I.; ZAPATA, Pedro D.	

PERFIL PROTEICO Y MORFOLOGÍA DE <i>ACTINOMUCOR ELEGANS</i> LBM 239 CULTIVADO CON CARBENDAZIM	52
BELARDITA, Agustín A; BAUMANN, Alicia J.; DÍAZ, Gabriela V.; ARGÜELLO, Beatriz V.; ZAPATA, Pedro D.	
EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE RESIDUOS AGRO INDUSTRIALES UTILIZANDO ENZIMAS FÚNGICAS	54
BORDAQUIEVICH, Mayra F.; DÍAZ, Gabriela V.; CONIGLIO, Romina O.; FONSECA, María I.; ZAPATA, Pedro D.	
RESPUESTA TRANSCRIPCIONAL DE <i>PLEUROTUS PULMONARIUS</i> LBM105 DURANTE LA DEGRADACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS	55
CHELALICHE, A. Sebastián; ALVARENGA, Adriana E.; ZAPATA, Pedro D.; FONSECA, María I.	
D-LIMONENO COMO INDUCTOR DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA LIPASA EN <i>PENICILLIUM CITRINUM</i>	57
ESQUIVEL Rocio B.; VELAZQUEZ Juan E.; SADAÑOSKI Marcela A.; FONSECA, María I.	
PRESENCIA DE GENOTIPOS TOXIGÉNICOS EN FLORACIONES DE CIANOBACTERIAS EN LA CIUDAD DE POSADAS, MISIONES.	59
KOLMAN, María A.; KUNZ, Isaias E.; MIÑO, María L.; ZAPATA, Pedro D.	
 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROALGAS NATIVAS CON POTENCIAL APLICACIÓN BIOTECNOLÓGICA	61
MIÑO, María L.; KOLMAN, María A.; ZAPATA, Pedro D.	
CARACTERIZACIÓN DE LIPASAS PRESENTES EN <i>PENICILLIUM</i> SP. DE LA PROVINCIA DE MISIONES	63
ORTELLADO, Laura E.; VILLALBA, Laura L.; ZAPATA, Pedro D.; FONSECA, María I.	
EFFECTO DEL CR(VI) SOBRE EL CRECIMIENTO FÚNGICO Y LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS DE DOS HONGOS AISLADOS DE LA PROVINCIA DE MISIONES	65
TATARIN, Ana S.; ARANGUIZ, Camila ; SADAÑOSKI, Marcela A.; POLTI, Marta A.; FONSECA, María I.	
AGARICOMYCETES INMOVILIZADOS EN ESPONJA VEGETAL PARA TRATAMIENTO DE UN EFLUENTE CITRÍCOLA	67
SAGUCHI, Evelin Y. ; BENITEZ, Silvana F.; ZAPATA, Pedro D.; LEVIN, Laura N.; FONSECA, María I.	
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA	69
ESTUDIO PRELIMINAR DE TOXICIDAD DE UNA NUEVA ENZIMA FIBRINOLÍTICA FÚNGICA	70
ACOSTA, Gabriela A.; FONSECA, María I.; FARIÑA, Julia I.; ZAPATA, Pedro D.	
ESTUDIO PRELIMINAR DE TOXICIDAD DE UNA NUEVA ENZIMA FIBRINOLÍTICA FÚNGICA	72
ACOSTA, Gabriela A.; FONSECA, María I.; FARIÑA, Julia I.; ZAPATA, Pedro D.	
TRATAMIENTO FÚNGICO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES	74
MARMILICH, Iván; RODRÍGUEZ, Susana C.; DÍAZ, Gabriela V.; ZAPATA, Pedro D.; RODRÍGUEZ, María D.	
PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA XILANASA RECOMBINANTE PROVENIENTE DE <i>TRICHODERMA ATROVIRIDE</i> LBM 117	75
MOLINA, M. A.; SGROPPO S.C., MILDE, L.B.; ZAPATA P. D.; Fonseca, M. I.	

DESARROLLO DE ANTIVIRALES CONTRA VP4 DE ROTAVIRUS MEDIANTE CRIBADO VIRTUAL SCHRODER, Melanie J.; SALVATIERRA, Karina , LIOTTA, Domingo J., TRAGLIA Germán; MIÑO, Samuel	77
NANOBIOTECNOLOGÍA	79
TÉCNICAS DE INMOVILIZACIÓN ENZIMÁTICA PARA EL DESARROLLO DE BIONANOCATALIZADORES KRAMER, Gustavo R. ; BRUERA, Florencia A.; SADAÑOSKI, Marcela A.; VELÁZQUEZ, Juan E.; FONSECA, María I.; ZAPATA, Pedro D.; ARES, Alicia E.	80
INMOVILIZACIÓN DE ESTERASAS PRODUCIDAS POR <i>PENICILLIUM RUBENS</i> EN NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS MIGUEL, Nicolás A.; RODRÍGUEZ, María D.; ORTELLADO, Laura E; ZAPATA, Pedro D.; VILLALBA, Laura L.	82
ELECTRODOS MODIFICADOS CON ÓXIDO DE ALUMINIO ANÓDICO PARA SU APLICACIÓN COMO BIONANOSENSORES ROMERO RÍOS, Florencia D. ;BRUERA, Florencia A.; KRAMER, Gustavo R.; RODRÍGUEZ, María D.; ARES, Alicia E.; ZAPATA, Pedro D.	84
BIOMEDICINA	85
SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE ROTAVIRUS GRUPO A: ANÁLISIS DE 3 GENES ESTRUCTURALES AGUILERA, Jonathan N.; SALVATIERRA, Karina A.; MIÑO, O. Samuel	87
EXPRESIÓN DE LOS GENES <i>CPEB</i> DURANTE EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA BENEGAS, Paula A.; RIVERO, Donovan; ZAPATA Pedro D.; LARRIPA Irene B.; FERRI, Cristian	89
HUÉSPEDES, GENOTIPOS Y CONSTELACIONES DE RVA: DISTRIBUCIÓN EN EL MUNDO ANIMAL DÍAZ ALARCÓN, Ricardo G.; SALVATIERRA, Karina A.; LIOTTA, Domingo J.; MIÑO, Samuel	91
EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ARMS-PCR PARA EL ESTUDIO DE VARIANTES GENÉTICAS ESNARRIAGA, María S.; MASCHERONI, María B.; ZAPATA, Pedro D.; ACOSTA, Karina B.	93
ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD NUCLEOTÍDICA DE PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES DE ROTAVIRUS GRUPO A GOMEZ QUINTERO, Emiliano L.; SALVATIERRA, Karina A.; MIÑO, Samuel	95
LA EOSINOFILIA DUODENAL DE BAJO GRADO SE ASOCIA CON CAGA EN LA DISPEPSIA RELACIONADA CON <i>HELICOBACTER PYLORI</i> SANCHEZ, Nicolas; CARONIA, Virginia; ELIZONDO, Karina; JORDA. Graciela; SCHNEIDER, Adolfo; ZAPATA, Pedro D.; BARREYRO, Fernando J.	97
INFECCIÓN POR <i>HELICOBACTER PYLORI</i> E HÍGADO GRASO EN EL NORDESTE ARGENTINO: ESTUDIO MULTICÉNTRICO SANCHEZ, Nicolas; MAIORANA, Facundo; CARONIA, Virginia; ELIZONDO, Karina; JORDA, Graciela; SCHNEIDER, Adolfo; ZAPATA, Pedro D.; BARREYRO, Fernando J.	99
INFECCIÓN POR <i>HELICOBACTER PYLORI</i> EN EL NORDESTE ARGENTINO: ESTUDIO MULTICÉNTRICO	101

SANCHEZ, Nicolas; CARONIA, Virginia; ELIZONDO, Karina; JORDA, Graciela; SCHNEIDER, Adolfo; ZAPATA, Pedro D.; BARREYRO, Fernando J.

EXPRESIÓN DEL GEN PTEN EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II Y CÁNCER.

103

RIVERO, Donovan A; BENEGAS, Paula; TOMSICH, Jacqueline L.; FORMICHELA, María M., MASCHERONI, Betania; MENDEZ, Elizabet; ZAPATA, Pedro D.; FERRI, Cristian A.

LA UTILIDAD DE LA DATACIÓN MOLECULAR EN DIFERENTES MODELOS BIOLÓGICOS

105

TOTARO, María E.; VERA CANDIA, Gabriel A.; CAVIGLIA, Eloisa; PERESON, Matias J.; DI LELLO, Federico A.; CULASSO, Carlos A.C.; RAVARINO, Paula N.; FRUTOS BOTTEGA, Dayana; CUTÓ, Fernando S.; LIOTTA, Domingo J.; BADANO, Ines



PRESENTACIONES ORALES



MARCADORES MOLECULARES EN CÁNCER DE MAMA

ACOSTA, Karina B. ^{a, b}; MASCHERONI, María B. ^c; ESNARRIAGA, María S. ^a; RIVERO,

Donovan^{a, b}, TISCORNIA, María M. ^a; FERRI, Cristian A. ^a; ZAPATA, Pedro D. ^{a, b}.

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*

c) *Centro de Medicina Preventiva (PREDIGMA).*

acostakb@fceqyn.unam.edu.ar

En Argentina, el cáncer de mama (CM) es la primera causa de muerte por tumores en mujeres y es responsable de aproximadamente el 25% (147/691) del total de defunciones causadas por tumores en las mujeres misioneras. Por lo cual, constituye una importante causa de morbilidad tanto a nivel nacional como provincial.

Es importante destacar que si bien la predisposición hereditaria es un factor que aumenta el riesgo de tener cáncer de mama, más del 80% de las mujeres afectadas por esta enfermedad no tiene antecedentes familiares y se asocian a un cáncer de tipo esporádico.

La susceptibilidad al cáncer de mama esporádico frecuentemente se asocia a variantes genéticas en genes de baja penetrancia, que si bien confieren un riesgo reducido, son más frecuentes en la población general y por lo tanto, podrían explicar una fracción importante de la susceptibilidad cuando son consideradas en conjunto. En este contexto, nuestro grupo de investigación tiene larga trayectoria en el estudio y caracterización de variantes genéticas con potencial utilidad como marcadores genéticos para la identificación de individuos con una susceptibilidad diferencial de desarrollar cáncer de mama esporádico. Aportando información de relevancia sobre la biología molecular y epidemiología genética de esta neoplasia en Misiones.

Particularmente, en estudios de caso-control realizados por nuestro grupo, se ha descrito el rol modificador del riesgo de las variantes genéticas rs121913279 (*PIK3CA*) [OR=21,14; 95% IC=2,67-167,4; p=0,0001]; rs4645878 (*BAX*) [OR=0,2; 95% IC=0,08-0,51; p=0,0002] y rs2279115 (*BCL2*) [OR=1,69; 95% IC=1,13-2,54; p=0,0134], en la susceptibilidad de desarrollar CM esporádico en la población general (Acosta *et al.*, 2016). La asociación detectada pone de manifiesto su utilidad como potenciales marcadores genéticos de susceptibilidad.

En los últimos 10 años se ha evidenciado un incremento gradual en la incidencia del CM en mujeres jóvenes (con edad \leq 50 años). Si bien, la edad temprana de presentación del CM suele estar ligado a mutaciones en genes de alta penetrancia (CM hereditario y/o familiar), recientes estudios han mostrado un alto número de pacientes jóvenes que resultan negativas para estas pruebas genéticas convencionales (paneles genéticos), sugiriendo que existen otros genes adicionales implicados en el inicio temprano de CM. Sin embargo, en comparación con las

pacientes postmenopáusicas, los datos genéticos y genómicos para este grupo de pacientes, son escasos.

Atendiendo a esta demanda; nuestro grupo actualmente trabaja en el estudio de variantes genéticas y perfiles de expresión de genes "*target*" que podrían estar asociados al desarrollo y evolución del CM en mujeres dentro de este estrato etario particular (30-50 años). El objetivo general del trabajo es caracterizar los aspectos clínico-patológicos y moleculares en un grupo de mujeres jóvenes (edad \leq 50 años) diagnosticadas con CM de la provincia de Misiones, para las cuales no existen datos reportados.

El impacto de este trabajo, tanto a nivel local como global, radicará en el conocimiento científico generado a partir de la caracterización del grupo de estudio y en la identificación de nuevos marcadores genéticos que permitan una mejor comprensión de los procesos moleculares implicados en la carcinogénesis temprana.

CÁNCER DE MAMA; MARCADORES GENÉTICOS; EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA

VPH: EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL CÁNCER DE CUELLO UTERINO

BADANO, Ines ^{a,b}; TOTARO, María E. ^a; LIOTTA, Domingo J. ^{a,c}

- a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.*
- b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
- c) *Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT) ANLIS "Dr. Carlos Malbrán".
inesbadano@gmail.com*

Los Virus Papiloma Humano Alpha-A9 (HPV) son los principales responsables del desarrollo de cáncer de cuello uterino (CCU). En conjunto se encuentran en el 72% de los CCU a nivel mundial y el 5% de la población femenina sana. Sin embargo, el desarrollo de CCU responde a un modelo multifactorial que involucra no solo la infección por HPV, sino también factores socioculturales y predisposición genética del paciente. En este contexto, nuestro grupo realiza investigaciones para: (i) describir la epidemiología molecular de la infección por HPV en Misiones; (ii) caracterizar marcadores genéticos humanos y virales potencialmente involucrados en el desarrollo del CCU y; (iii) proponer escenarios posibles de origen y dispersión de los linajes virales en la región. Esta información permitirá identificar marcadores de progresión y el diseño de estrategias de monitoreo de la infección en las etapas pre y post vacunación.

Resultados de las principales líneas en curso:

- 1) Epidemiología: el grupo fue pionero estudios epidemiológicos en poblaciones urbanas (Tonon et al., 1999; Badano et al., 2011) y pueblos originarios Mbya Guaraní de la Provincia (Tonon et al., 2003; 2004, 2007; Badano et al., 2015) y actualmente colabora con la Red Nacional de Papilomavirus en el monitoreo del impacto de la vacunación en la Provincia de Misiones. Con respecto a este último, los resultados obtenidos, indican que la vacunación ha resultado en una disminución de la prevalencia de infección por HPV16/18 de más de un 93% en jóvenes sexualmente activas de 15 a 17 años (Gonzalez et al., 2020; 2021).
- 2) Genética: actualmente, se trabaja en la identificación de marcadores genéticos virales (oncogenes E6 y E7 y la proteína de la cápside L1) y humanos (citoquinas, ADN mitocondrial) en el desarrollo del CCU. También se realiza la secuenciación de genomas completos para el análisis simultáneo de todas las proteínas virales, para comprender su función biológica en el proceso de oncogénesis y/o evolutiva. De particular interés, nuestro grupo ha descrito que la variante de riesgo HPV16 E6 350G resulta en un incremento del riesgo de desarrollo de lesiones de alto grado del OR de 19,41 (4,95–76,10) en mujeres de Misiones y pone de manifiesto su rol como marcador de riesgo para la región (Totaro et al., 2022).

3) Evolución: análisis filogenéticos y filogeográficos para comprender el origen y evolución de las variantes virales en la Provincia de Misiones y el estudio de la infección por papilomavirus en nuevos huéspedes. El grupo ha realizado el primer reporte de la infección por papilomavirus en primates *Sapajus* y *Alouatta* de la Argentina (Sanchez Fernandez *et al.*, 2021). Este descubrimiento amplía el rango de huéspedes previamente descrito para estos virus y pone de manifiesto la necesidad de ampliar los estudios a otras especies de primates.

Conclusiones: El LaBiMAp ha consolidado un espacio de trabajo que permite generar conocimiento novel en epidemiología molecular para la región y contribuyen a la formación de RRHH y desarrollo en CyT de la Universidad.

HPV; PAPILOMAVIRUS; EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR; CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO; EVOLUCIÓN VIRAL

HONGOS NATIVOS DEL ORDEN HYPOCREALES UTILIZADOS EN CONTROL BIOLÓGICO

BICH, Gustavo A.^{a,b}; CASTRILLO, Maria L.^{a,b}; BARENGO, Marcela P.^{a,b}; AMERIO, Natalia S.^{a,b}; PEDROZO Tania T.^a; ROTHARMEL Florencia^a; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}; VILLALBA, Laura L.^a

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
gustavobich@gmail.com

La agricultura y el sector forestal son dos de las principales actividades económicas de nuestra provincia. Estos cultivos, al presentarse como monocultivos en grandes extensiones suelen ser afectados por diversas plagas y enfermedades, por lo que tradicionalmente se aplican diversos pesticidas y fertilizantes químicos. Actualmente existe una preocupación general por la contaminación y efectos perjudiciales secundarios de estos pesticidas químicos, por lo que se están buscando nuevas estrategias sustentables de control de plagas. En este contexto se destaca la posibilidad del uso de la tecnología del control biológico. En este tipo de estrategias de control de plagas se utilizan organismos con capacidad natural de controlar plagas de la agricultura y el sector forestal primario. Los hongos poseen cualidades únicas de parasitar, matar y multiplicarse en poblaciones de organismos plaga. Además, nuestra provincia es una ecoregión de Argentina con una vasta biodiversidad donde se puede realizar una bioprospección de microorganismos nativos para su uso en control biológico. Dentro del orden Hypocreales, los hongos micoparásitos generalistas, entre los cuales se encuentran los géneros *Trichoderma* y *Clonostachys*, tienen un amplio rango de hospedadores y se utilizan principalmente para el control biológico directo de patógenos de plantas. Por otro lado, existen micoparásitos especializados, como los pertenecientes al género *Escovopsis*, que son altamente selectivos y se pueden emplear para el control biológico indirecto de hormigas cortadoras de hojas de la tribu Attini (Hymenoptera, Insecta). Asimismo, dentro del mismo orden taxonómico, los hongos entomopatógenos tienen la capacidad natural de parasitar a diferentes grupos de insectos y otros artrópodos, causando la muerte de los mismos por la producción de enzimas o la colonización del organismo. Los géneros de hongos entomopatógenos más estudiados para el control biológico de insectos plaga son *Metarhizium*, *Beauveria* y *Paecilomyces*. En nuestro grupo de trabajo se han aislado cepas de diferentes especies nativas pertenecientes a estos géneros fúngicos. Se han realizado trabajos de identificación morfológica y molecular de estas cepas. Además, se han realizado trabajos de caracterización de la secreción de enzimas de

interés biotecnológico en varias de estas cepas. También se han iniciado trabajos de caracterización de la capacidad biocontroladora de estos hongos frente a diversas plagas y enfermedades en condiciones de laboratorio. También se han realizado ensayos de biocompatibilidad, bioseguridad y cocultivo entre estas cepas de interés biotecnológico. Asimismo, estas cepas han sido ingresadas y resguardadas en el cepario de interés biotecnológico del InBioMis para posteriormente profundizar el conocimiento de estas cepas nativas y su posible uso biotecnológico. Como perspectivas de trabajo se debería profundizar en estudios relacionados a los genes involucrados en estos procesos de biocontrol así como estudios ecológicos para la implementación de mejoras en posibles bioproductos.

BIOCONTROL; HONGOS ENTOMOPATÓGENOS; HONGOS MICOPARÁSITOS

APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LA INMOVILIZACIÓN ENZIMÁTICA SOBRE SOPORTES NANOESTRUCTURADOS DE ÓXIDO DE ALUMINIO

BRUERA, Florencia A.^{a, b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

brueraflorencia@gmail.com

A través de la inmovilización enzimática es posible confinar a las enzimas en un soporte específico, permitiendo que puedan usarse repetida y continuamente sin una disminución significativa de la actividad catalítica. Asimismo, la inmovilización tiene como ventaja adicional la fácil separación enzima/producto, y, además, se puede incrementar la estabilidad de la enzima mediante su interacción con un soporte adecuado. Estos avances biotecnológicos, por un lado, permiten ampliar el campo de aplicación de los biocatalizadores, y por otro, producen mejoras notables en el rendimiento técnico-económico de los procesos industriales actuales. Con esta perspectiva y en pos de generar soluciones a las problemáticas ambientales locales, en el Instituto de Biotecnología Misiones (INBIOMIS), con colaboración del Instituto de Materiales de Misiones (IMAM), se están desarrollando dos líneas de investigación relacionadas con la inmovilización enzimática de Lacasas sobre soportes nanoestructurados de óxido de aluminio anódico: 1) bionanocatalizadores para el tratamiento de efluentes provenientes de las industrias papeleras y 2) bionanosensores para el monitoreo de pesticidas en aguas superficiales de manera rápida, efectiva y económica. En esta disertación se analizarán los avances recientes relacionados con esta temática y los resultados logrados por el equipo de trabajo.

BIONANOCATALIZADORES; BIONANOSENSORES; LACASA; MEMBRANAS Y RECUBRIMIENTOS NANOPOROSOS

GENES, CONIDIAS Y PRODUCTOS METABÓLICOS DE *TRICHODERMA* IMPLICADOS EN BIOCONTROL

CASTRILLO, Maria L.^{a,b}; AMERIO Natalia S.^{a,b}; BARENGO, Marcela P.^{a,b}; PEDROZO
Tania T.^a; SOAREZ Julieta N.^a; ROTHÄRMEL Florencia^a; BICH, Gustavo A.^{a,b};
VILLALBA Laura L.^a; ZAPATA Pedro D.^{a,b}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
mlc_827@hotmail.com*

La forma tradicional para el control de las enfermedades en cultivos agrícolas y forestales es la aplicación masiva de productos químicos, pero debido a su composición y uso inadecuado pueden resultar tóxicos e inespecíficos. La actividad de los fungicidas químicos puede afectar a otras entidades biológicas no blanco, directa e indirectamente, por su capacidad de bioacumulación, su inespecificidad y persistencia en el ambiente, alterando de esta manera diversas interacciones ecológicas. Actualmente existe una tendencia internacional por disminuir o erradicar el uso de estos fungicidas a nivel mundial. El uso de antagonistas microbianos multifuncionales y sus productos biológicos que potencien el resguardo frente a patógenos y/o plagas, sean menos perjudiciales para el medio ambiente, puedan actuar como potenciales recuperadores del suelo y fomenten el crecimiento de los cultivos, son una de las alternativas más prometedoras hacia una agricultura sustentable.

Desde hace varios años, nuestro grupo de trabajo viene investigando la selección y aplicación de cepas fúngicas multifuncionales que presenten capacidad biocontroladora y bioestimulante, además de ser capaces de producir antibióticos y enzimas, poseer gran versatilidad metabólica y fuerte capacidad de competencia, inducir resistencia sistémica en plantas, parasitar hongos fitopatógenos e insectos plaga, y resistir las condiciones de acidez del suelo y las elevadas temperaturas ambientales. Ya que todo este proceso permitirá avanzar en la generación de un bioproducto a base de un consorcio de microorganismos multifuncionales nativos de Misiones, que se encuentre más adaptado a las condiciones edafo-climáticas de nuestra región.

Particularmente, nuestro grupo de trabajo propone validar mediante tecnologías –ómicas y microbiológicas la capacidad biocontroladora y bioestimulante de aislamientos fúngicos multifuncionales del orden Hypocreales nativos de Misiones y ha seleccionado aislamientos del género *Trichoderma* con dichas características. Se secuenció su genoma y se determinó que estos aislamientos son portadores en su genoma de genes que codifican enzimas implicadas en procesos de biocontrol y

bioestimulación. A partir de la anotación y caracterización estructural y funcional de estos genes, se localizaron las regiones reguladoras de los mismos y se determinó la existencia de elementos de respuesta implicados en el control de activación de la síntesis de estas enzimas. Todo este procedimiento permitió determinar las fuentes de carbono y nitrógeno y condiciones físico-químicas que optimizaron la secreción de las enzimas implicadas en el proceso de control biológico en condiciones de laboratorio; y se logró obtener un formulado enzimático y de conidias de *Trichoderma* con actividad biocontroladora, bioprotectora y bioestimulante.

El advenimiento de la visión -ómica en conjunción con los datos aportados por la selección y optimización bioquímica, generó avances en la comprensión de las bases genéticas y moleculares del proceso implicado en el control de la activación de la síntesis de enzimas involucradas en el biocontrol de plagas, en la bioprotección de semillas y en la bioestimulación de plantaciones de interés agronómico y forestal. Estos resultados se presentan como una alternativa sustentable, orgánica, innovadora, ecoamigable y aplicable que impactarán en el ámbito económico y ambiental en respuesta a que incitarán a reducir el uso de agroquímicos.

TECNOLOGÍAS -ÓMICAS; ENZIMAS; OPTIMIZACIÓN

**ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN EN DIAGNÓSTICO,
EPIDEMIOLOGÍA Y ANÁLISIS DE PATÓGENOS VETERINARIOS CON EL ENFOQUE
“UNA SALUD”**

MIÑO, Samuel ^{a, b}; DA LUZ, Miguel ^a; LIOTTA, Domingo J. ^{b, c}

a) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Cerro Azul.

b) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.

*c) Instituto Nacional de Medicina Tropical, ANLIS “Dr. Carlos G Malbrán”. Puerto Iguazú, Misiones, Argentina.
mino.samuel@inta.gob.ar*

Las enfermedades infecciosas y las parasitosis producidas por vermes constituyen uno de los problemas constantes en salud animal. Además, se plantea un desafío necesario para abordar estas patologías desde la perspectiva de “Una Salud”. Donde la interdependencia de la salud humana y animal con los ecosistemas en los cuales coexisten juega un rol central.

Así, el diagnóstico, prevención y tratamiento de estas enfermedades son un punto de inflexión clave el cual debe ser abordado en el ámbito local, con el pequeño productor, como a nivel provincial y nacional promoviendo y potenciando esta práctica.

En este contexto, el equipo de trabajo de “Salud Animal y Una Salud” de la EEA Cerro Azul aborda el diagnóstico, prevención, control y tratamiento de enfermedades animales, así como también el sistema silvopastoril, parte constitutiva del ecosistema productivo. Para esto, las actividades dentro de proyectos y redes nacionales, como ser: “Desarrollo de tecnologías diagnósticas y estudios epidemiológicos para el control de enfermedades que afectan la producción animal y la salud pública”, “Patógenos animales: su interacción con el hospedador y el medio ambiente en el marco Una Salud”, “Estudios para el control de enfermedades subtropicales y/o transmitidas por vectores”, “Red de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario” y “Sistemas Silvopastoriles integrados: hacia un manejo sustentable”.

Como complemento de estas actividades, y considerando la necesidad de integración de las instituciones en pos de la generación de conocimiento, tecnologías y formación de recursos humanos, recientemente entre el INTA y la UNaM formalizaron un Convenio de Cooperación Científica para trabajar de forma conjunta en temas de interés local que requieren de investigación, desarrollo y transferencia al sector demandante. Entre ellos se destacan las siguientes líneas: “Estudio de la resistencia a antihelmínticos de uso frecuente en rumiantes menores”, el “Diagnóstico de enfermedades veterinarias”, la “Evaluación del potencial de la tecnología Maldi-Tof MS en la identificación de vectores con impacto sanitario”, los

“Estudios de evolución y dispersión de patógenos virales utilizando herramientas bioinformáticas” y el “Desarrollo de herramientas de detección de Adenovirus y Rotavirus como indicadores de calidad de agua del Río Paraná”.

Por otro lado, el grupo también participa en la construcción de alianzas estratégicas y políticas públicas, siendo parte de la “Red de Diplomacia Científica para América Latina y el Caribe”, de la “Plataforma Contribución para la Formulación y Gestión de Políticas Públicas” y la plataforma de “Prospectiva y Observatorios Tecnológicos”. Así, el investigador se constituye en representante y vinculador de instituciones, en donde se realiza asistencia técnica en ámbitos de definición de problemas y participa en la evaluación y construcción de políticas públicas relacionadas al sector.

EEA CERRO AZUL; SALUD ANIMAL; DIPLOMACIA CIENTÍFICA; PROYECTOS INTA

CONTRIBUCIÓN DEL LABIMAP-UNAM A ESTUDIOS ECOEPIDEMIOLÓGICOS DE LAS LEISHMANIASIS EN ARGENTINA.

MOYA, Sofía L.^{a,b}; ACARDI, Soraya^d; GIULIANI, Magalí G.^a; SALOMÓN, Oscar D.^{a,b};

LIOTTA, Domingo J.^{a, c}

a) Instituto Nacional de Medicina Tropical, ANLIS “Dr. Carlos G Malbrán”. Puerto Iguazú, Misiones, Argentina.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

c) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.

d) Instituto Universitario de Ciencias de la Salud. Fundación H.A. Barceló. Santo Tomé Corrientes, Argentina.

sofialorian@gmail.com

Las leishmaniasis son un conjunto de enfermedades de etiología causada por la infección de parásitos del género *Leishmania* que se transmiten a través de la picadura de flebótomos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). En Argentina, la forma más leve de la enfermedad es la Leishmaniasis Cutánea (LC) con ocurrencia de brotes esporádicos generalmente asociados a procesos de deforestación rurales. Por otro lado, la Leishmaniasis Visceral (LV) es la forma más grave de la noxa y se presenta en escenarios de transmisión rurales y urbanos, siendo el perro doméstico el reservorio definido. Estos escenarios de transmisión son diversos, con distintas especies involucradas, tanto de parásitos como de flebótomos vectores. En este contexto, para la prevención y el control de la enfermedad es importante identificar los escenarios y describirlos definiendo el papel de cada uno de los eslabones que componen la cadena de transmisión. El LaBiMAp ha contribuido en esta tarea desde el año 2010, con trabajos de detección e identificación de parásitos del género *Leishmania* tanto en reservorios como en vectores. A tal efecto se ajustaron y evaluaron distintos protocolos de PCR, RFLP y secuenciación. Entre los trabajos publicados, destaca la descripción del primer caso autóctono de LV en el país, ocurrido en 2006 en la ciudad de Posadas, Misiones, con detección e identificación de *L. infantum* en su vector principal *Lu. longipalpis* y el perro (*Canis familiaris*) como reservorio. A partir de este evento, y en sinergia con proyectos colaborativos en la Red de Investigación de las Leishmaniasis de Argentina (REDILA) y el Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT-ANLIS “Dr. Carlos Malbrán”), se realizaron detecciones de ADN de *Leishmania* en distintas especies de flebótomos capturados en distintos estudios de foco, aportando así a su incriminación vectorial. Sin embargo, el estudio de los flebótomos vectores es un desafío en sí mismo dada la diversidad de especies existentes, la ocurrencia de especies crípticas, la diversidad de sus nichos ecológicos, su heterogeneidad en espacio y tiempo y la dificultad en sus determinaciones taxonómicas que requiere de entomólogos especialistas en la

familia Phlebotominae. Ésta última situación propuso el desafío de evaluar distintos marcadores moleculares para complementar y validar las determinaciones taxonómicas de los vectores; fue así como se inició y evaluó la aplicabilidad de una biblioteca de códigos de barra genéticos (*Barcoding*) que hasta el momento cuenta con 135 secuencias de 19 especies de flebótomos, incluyendo las cinco especies incriminadas en la transmisión de *Leishmania* spp en Argentina. Estas herramientas también permiten la asociación vector-parásito a partir del análisis de una misma muestra biológica, dando certeza a la identidad de los elementos de la cadena de transmisión epidemiológica, información necesaria para definir escenarios y adecuar cada intervención al contexto epidemiológico local, fortaleciendo así las acciones que se llevan a cabo para la vigilancia y control de las leishmaniasis en el marco del Programa Nacional de Leishmaniasis.

PHLEBOTOMINAE; LEISHMANIA; PCR-RFLP; BARCODING

MICORREMEDIACIÓN PARA EL FUTURO

SADAÑOSKI, Marcela A.^{a, b}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
marcelasadanoski@fceqyn.unam.edu.ar

Los metales pesados y los compuestos orgánicos constituyen los compuestos químicos mayormente encontrados en suelos y sedimentos, como resultado de la actividad antropogénica. Estos compuestos poseen características químicas que le permiten migrar a través del suelo y contaminar los cursos de agua produciendo biomagnificación, lo cual acarrea preocupantes problemas en el ambiente y en la salud de los seres humanos.

Actualmente la búsqueda y desarrollo de nuevas estrategias y tecnologías para tratar los sitios contaminados se centra en la utilización de organismos con capacidad de biodegradación y detoxificación, que se adapten a la matriz contaminada, se desarrollen en consorcios microbianos, sean tolerantes y dispongan de mecanismos enzimáticos eficientes. La micorremediación es una rama de la biorremediación que utiliza hongos, sus enzimas y/o metabolitos para remediar sitios contaminados. Esta tecnología posee ventajas sobre otros métodos convencionales de tratamiento, y se presenta como una alternativa rentable, ecológica, y eficaz.

La provincia de Misiones se caracteriza por poseer diversas especies fúngicas que crecen sujetas a altas temperaturas y humedad, y que representan una fuente invaluable de metabolitos y/o enzimas. Los ensayos de biorremediación realizados con estas cepas, aisladas de la provincia, pusieron en evidencia su capacidad para tolerar y degradar altas concentraciones de bifenilos policlorados (PCBs) en medio de cultivo líquido y en suelo. La aplicación de tratamientos de micorremediación permitió restablecer los niveles de toxicidad del suelo similares al suelo en ausencia de contaminación. Se determinó la presencia de enzimas hidrolíticas y oxidativas durante el proceso de remediación, lo cual podría estar relacionada a degradación de contaminantes. En este sentido, los resultados obtenidos de los trabajos de investigación indican que los hongos aislados de Misiones poseen potencial biotecnológico para la mitigación de problemas ambientales. Los estudios a futuro estarán centrados en la evaluación de estas cepas en estrategias combinadas, inmovilizadas en soportes lignocelulósicos para tratar sitios contaminados con metales pesados y compuestos orgánicos persistentes.

CO-PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS DE ALTO VALOR AGREGADO COMO ESTRATEGIA PARA EL APROVECHAMIENTO DE EFLUENTES DE INDUSTRIA CITRÍCOLA

VELÁZQUEZ, Juan E. ^{a, b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

*b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
juane.velazquez314@gmail.com*

Desde el punto de vista del significado de co-producir cómo “producir junto con...”, se observa la posibilidad de revalorizar y extender la cadena de valor de los procesos industriales como ser el perteneciente al complejo citrícola industrial. Este complejo abarca principalmente la producción y comercialización de distintas calidades de frutas cítricas para mercados internos y externos, la producción de jugos concentrados, la producción de aceites esenciales y el d-limoneno, y la producción de alimentos balanceados. Pero junto con estos productos, se generan elevadas proporciones de efluentes sólidos y líquidos que deben ser tratados en plantas de tratamientos para tal fin, y su operación debe ser costeadada por la misma comercialización de los productos, intensificando así la presión sobre los precios y los márgenes gananciales. Por otra parte, las deficiencias en los tratamientos pueden afectar la calidad del aire y malestares en residentes de las zonas aledañas a las plantas de tratamiento.

En este sentido, el aprovechamiento integral de la materia prima, por reproceso y comercialización de co-productos, no sólo revaloriza los efluentes apalancando los resultados financieros de las industrias en general, sino también reducen la generación de cargas destinadas a la planta de tratamiento, incrementando sus eficiencias y reduciendo sus costos operativos.

Los efluentes de la industria citrícola se caracterizan por poseer un pH ácido variable (2,5 a 3,5), líquidos con 10 a 30 % de sólidos sedimentables, sólidos con 60 a 80 % de humedad, coloración intensa, elevadas DQO y DBO, presencia de carotenoides, vitaminas, pectinas y compuestos terpénicos. Particularmente, los terpenos residuales pueden presentar elevada actividad biocida y deshidratante, reduciendo la actividad microbiana susceptible de degradarla.

Por tanto, a la capacidad de degradación de la materia orgánica de los hongos, se requieren sumar otras aptitudes como ser, elevada tolerancia a compuestos terpénicos, elevada velocidad de crecimiento, elevada actividad enzimática para lograr procesos de bioconversión, y selectividad sobre la generación de sustancias susceptibles de otorgar mayor valor agregado a la cadena de valor.

Es así que a través de estudios de micoprospección, tolerancia, optimización, identificación de metabolitos secundarios y co-productos, estudios de escalamiento

y rendimiento financiero potencial, se evidenció la capacidad de una serie de hongos ascomicetes pertenecientes a la colección de hongos del Laboratorio de Biotecnología Molecular, de ser aplicados en el desarrollo de una tecnología que permita viabilizar el aprovechamiento integral buscado.

Todo esto, conlleva ciertas perspectivas a futuro, desafíos y oportunidades, que abarcan desde los estudios de toxicidad hasta la protección de la propiedad intelectual.

HONGOS; HIDROCARBUROS TERPÉNICOS; BIOCATÁLISIS; REVALORIZACIÓN; BIOCONVERSIÓN



AGROBIOTECNOLOGÍA



CONDICIONES ÓPTIMAS DE TEMPERATURA Y PH PARA ENZIMAS MICOLÍTICAS SECRETADAS POR *TRICHODERMA KONINGIOPSIS* POS7

AMERIO Natalia S^{a,b}; BARENGO Marcela P.^{a,b}; BICH Gustavo A.^{a,b}; ZAPATA Pedro D.^{a,b};
VILLALBA Laura L.^a y CASTRILLO María L.^{a,b}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
natymort@hotmail.com*

Las enzimas hidrolíticas como ser quitinasas, β -1,3 glucanasas y proteasas, se han sugerido que son esenciales para la acción micoparásita de diversas especies de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos. El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones óptimas de temperatura y pH de reacción de quitinasas, β -1,3-glucanasas y proteasas, en un formulado enzimáticos a base de *Trichoderma koningiopsis* POS7, potencial biocontrolador de hongos fitopatógenos.

Se utilizó un diseño de optimización de un factor a la vez, utilizando como pH iniciales los indicados en los protocolos estandarizados para estas enzimas: método del ácido dinitrosalicílico para la cuantificación de quitinasas y β -1,3-glucanasas; y método de la azocaseína, para la cuantificación de proteasas. El efecto de la temperatura sobre la actividad de las quitinasas se evaluó incubando las mezclas de reacción a 25, 37, 45, 55 y 65 °C, en un pH 4.8; para las β -1,3-glucanasas las mezclas de reacción se incubaron a 30, 40, 50, 60 y 70 °C, en un pH 5; y para las proteasas se evaluó incubando las mezclas de reacción a 25, 37, 45, 55, 65 °C, en un pH 7.4. El efecto del pH se determinó incubando las mezclas de reacción a la temperatura óptima obtenida, utilizando diferentes buffers para variar el pH de la reacción; para quitinasas se ensayaron pHs 3, 4, 4.8, 6 y 7; para las β -1,3-glucanasas se ensayaron pHs 3, 4, 5, 6 y 7; y para proteasas se ensayaron pHs 5, 6, 7.4, 8 y 9. Las demás condiciones de reacción se mantuvieron constantes y todos los ensayos se realizaron por duplicado. Los datos se analizaron usando el software Statgraphics Centurion XVI.I. Se utilizó la prueba de Tukey para evaluar y seleccionar las variables que tuvieran un efecto significativo sobre la actividad enzimática. La actividad enzimática se expresó en U/L. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de diferencia entre medias, con un nivel de confianza del 95,0 %.

En cuanto a la actividad quitinasa, la máxima actividad (22,217 U/L) se observó a 45 °C con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) con respecto a las demás temperaturas, y en relación a los pHs, 3, 4 y 4.8 no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre ellos. Para la actividad β -1,3-glucanasa, la máxima actividad (1091,68 U/L) se obtuvo a 60 °C y pH 5, con diferencia significativa ($p < 0,05$) con respecto a las demás condiciones. Para la

actividad proteasa, la máxima actividad (897,33 U/L) se observó a 45 °C y pH 7.4 con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) con respecto a las demás condiciones.

Estos resultados permitieron establecer las condiciones óptimas de temperatura y pH de las enzimas micolíticas presentes en el formulado enzimático optimizado de *T. koningiopsis* POS7. La presente caracterización bioquímica representa un factor importante para la aplicación eficiente de estas enzimas en el control biológico de fitopatógenos.

QUITINASAS; B-1,3 GLUCANASAS, PROTEASAS; CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA; AISLAMIENTO MICOPARÁSITO

MICOPARASITISMO DE *ESCOVOPSIS* HMP9, PROMISORIO PARA BIOCONTROL DE HORMIGAS CORTADORAS DE HOJAS

BARENGO, Marcela P.^{a,b}; ALZAGA, Ernesto E.^{a,b}; BICH, Gustavo A.^{a,b}; AMERIO, Natalia
S.^{a,b}; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}; CASTRILLO, María L.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
barengomarcela@gmail.com

En la provincia de Misiones, una de las principales plagas que afecta el sector forestal primario son las hormigas cortadoras de hojas. Su actividad forrajera consiste en cortar y transportar hasta su nido material vegetal fresco, sobre el cual crece el hongo *Leucoagaricus gongylophorus* (Basidiomycota: Agaricales), que es su principal fuente de alimento. Los hongos del género *Escovopsis* (Ascomycota: Hipocreales), se consideran parásitos especialistas de *L. gongylophorus* y por ende se presentan como potenciales biocontroladores indirectos de las hormigas cortadoras de hojas. Establecer los mecanismos de acción involucrados en el micoparasitismo es un factor relevante en el desarrollo y la aplicación de agentes de biocontrol, por tanto en este trabajo se realizaron enfrentamientos en microcultivos, con la finalidad de observar la interacción y los mecanismos estructurales existentes entre las cepas de *Escovopsis* HMP9 y *L. gongylophorus* 173COR durante el proceso de micoparasitismo. Cada ensayo se realizó en cámara húmeda, compuesta por una caja de Petri, conteniendo dos portaobjetos cruzados y un fragmento de algodón humedecido con agua destilada estéril. Todos los componentes fueron esterilizados en autoclave a 121°C y 1 atm de presión superior a la normal durante 15 minutos. Una vez estéril, se adicionó una fina lámina de medio de cultivo agar agua estéril sobre el portaobjetos superior y se dejó solidificar. Sobre el mismo, se inoculó un fragmento micelial de 173COR previamente reactivado y se incubó a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ en oscuridad, durante 7 días. Posteriormente se inoculó el aislamiento de HMP9 previamente reactivado, y se incubaron bajo las mismas condiciones. Los ensayos se evaluaron periódicamente hasta detectar la interacción micelial entre ambos aislamientos mediante microscopía óptica convencional, utilizando la técnica de montaje con lactofenol azul de algodón.

En los microcultivos controles, ambos hongos presentaron un crecimiento típico, 173COR con hifas carentes de fíbula y la formación de gongilidios y HMP9 de conidióforos ramificados, vesiculados y fiálides ampuliformes. En los enfrentamientos, se observaron diferencias entre ambos hongos. Las hifas de HMP9 presentaron mayor número de septos y ramificaciones, en comparación con 173COR. Si bien, no se observaron diferencias notables en el diámetro de sus hifas, en ciertos puntos de cercanía entre ambos hongos, las hifas de *Escovopsis* HMP9 se

encontraban entrelazadas como incrementando su diámetro. Con respecto a 173COR, no se detectó la presencia de gongilidios, es decir que la presencia del micoparásito puede haber impedido la formación de estas estructuras características. Por otra parte, se observó un enrollamiento por parte de las hifas de 173COR, sobre las hifas entrelazadas de HMP9, como llevando a cabo un mecanismo de defensa. En todas las réplicas de los enfrentamientos se observó una degradación de las hifas de 173COR, tanto en puntos de contacto con HMP9 como en áreas contiguas pero sin contacto entre las hifas, denotando la secreción de enzimas que degradan la pared celular del huésped.

Estos resultados indicaron que *Escovopsis* HMP9 actuó como un micoparásito necrotrófico de contacto empleando conjuntamente mecanismos físicos y químicos para ocasionar la destrucción de las hifas de *L. gonglophorus* 173COR.

MICROCULTIVOS; *L. GONGLOPHORUS*; MICROSCOPIO ÓPTICO

EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE VIABILIDAD DE CEPAS NATIVAS DE *METARHIZIUM*

BICH, Gustavo A. ^{a,b}; CASTRILLO, Maria L. ^{a,b}; KRAMER, Fernando L. ^a; VILLALBA,
Laura L. ^a; ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
gustavobich@gmail.com*

Los hongos entomopatógenos son un grupo de microorganismos que tienen la particularidad de parasitar a diferentes grupos de insectos y otros artrópodos, como las arañas y los ácaros. La caracterización de los hongos, tanto a nivel morfológico, fisiológico y molecular, es considerada una etapa esencial para la selección de especies fúngicas biocontroladoras promisorias. Una de las características de importancia al momento de seleccionar un agente biocontrolador es evaluar su capacidad de conservación en un cepario para futuras pruebas y procesos de producción. En la evaluación de condiciones de conservación adecuadas para cepas fúngicas promisorias se utilizaron dos cepas nativas de hongos entomopatógenos (HEP) pertenecientes al género *Metarhizium* aisladas de muestras de suelo e insectos colectados en campañas de bioprospección. Estas cepas fueron codificadas como HEP2 y HEP14. Se evaluaron tres condiciones de cultivo, dispuestos en tubos plásticos de 1,5 mL, para cada una de las cepas fúngicas: medio de cultivo papa dextrosa agar 3,9%; granos de arroz estéril; y agua destilada estéril. Las cepas fueron inoculadas en cada uno de los tubos de los tratamientos colocando un disco de la colonia fúngica, e incubándose a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 7 a 10 días. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada cepa. Estos tubos fueron conservados a 4°C hasta el momento de su evaluación. Transcurrido el periodo de 12 y 24 meses, se determinó la viabilidad y pureza de cada una de las cepas fúngicas en placas de Petri de 60 mm de diámetro con medio de cultivo PDA. La viabilidad se evaluó en el microscopio óptico como el número de conidias germinadas en el número total de conidias contabilizadas; la pureza fue evaluada como la presencia de contaminación microbiana. El análisis de varianza (ANOVA) se realizó mediante el programa Statgraphics Centurion XV, el cual también fue utilizado para aplicar el método de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel de 95% de confianza. En base a las condiciones de experimentación evaluadas, se observó que ambas cepas fúngicas de *Metarhizium* conservadas en tubos con PDA y en agua destilada estéril presentaron un porcentaje de viabilidad media de las conidias cercanas al 80% a los 12 meses de almacenamiento y de 70% a los 24 meses de almacenamiento. En líneas generales, la conservación de las cepas fúngicas de *Metarhizium* en tubos con PDA o agua destilada estéril no

presentó diferencias estadísticamente significativas para periodos de tiempo de almacenamiento similares. Sin embargo, se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas cuando estas cepas fúngicas fueron almacenadas en granos de arroz estéril. Asimismo, en ninguno de los métodos de conservación empleados se observó la contaminación de los tubos con ácaros, que es uno de los agentes contaminantes recurrentes en cultivos fúngicos. Además, las cepas fúngicas evaluadas no presentaron contaminaciones con otros hongos por lo cual las técnicas evaluadas fueron adecuadas en relación a su pureza.

CONTROL BIOLÓGICO; PRESERVACIÓN *IN VITRO* DE CEPAS; HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

GENES INVOLUCRADOS EN MECANISMOS DE BIOCONTROL DE *TRICHODERMA KONINGIOPSIS* POS7

CASTRILLO, Maria L. ^{a,b}; AMERIO, Natalia S. ^{a,b}; BARENGO, Marcela P. ^{a,b}; BICH, Gustavo A. ^{a,b}; VILLALBA, Laura L. ^a; SAPARRAT, Carlos M. N. ^{b,c,d,e}; ZAPATA, Pedro D.

^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Instituto de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

d) Instituto de Botánica Carlos Spegazzini, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

e) Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

mlc_827@hotmail.com

La capacidad de producir antibióticos y enzimas, inducir resistencia sistémica en plantas y parasitar hongos fitopatógenos, junto con una gran versatilidad metabólica y la fuerte capacidad de competencia, hacen que diversos aislados de *Trichoderma* spp. puedan resultar interesantes, promisorios, efectivos e innovadores en su uso como biofertilizantes y bioplaguicidas. El advenimiento de la visión -ómica en conjunción con otras herramientas moleculares ha acelerado la capacidad de descubrir, identificar, localizar y caracterizar genes de importancia biológica y tecnológica y a su vez conocer los promotores génicos con potencial aplicación en el control de la activación de la síntesis de enzimas blanco. En trabajos previos nuestro grupo de trabajo ha seleccionado un aislamiento de *Trichoderma koningiopsis* POS7, nativo de Misiones, por presentar amplia capacidad biocontroladora *in vitro* y ha secuenciado su genoma mediante la tecnología Illumina. El análisis de los datos aportados por la secuenciación del genoma de este hongo, mejorará nuestra comprensión sobre las bases genéticas y moleculares del proceso implicado en el control de la activación de la síntesis de enzimas involucradas en el biocontrol de plagas que atacan plantaciones de interés agronómico y forestal, lo que impactará en el ámbito económico y ambiental en respuesta a que incitará a reducir el uso de agroquímicos.

Se generó una base de datos interna de genes y potenciales inductores implicados en la regulación de la síntesis de enzimas involucradas en el ataque a plagas de impacto agro-forestal. Este procedimiento permitió determinar que la cepa *T. koningiopsis* POS7 es portadora en su genoma de genes que codifican enzimas quitinasas, β -1,3-glucanasas y proteasas, implicadas en procesos de biocontrol. A partir de la anotación y caracterización estructural y funcional de estos genes, se

realizó un exhaustivo análisis a fin de localizar las regiones reguladoras de los mismos y determinar la existencia de elementos de respuesta implicados en el control de activación de la síntesis de las enzimas de interés. Este procedimiento permitió determinar que en la región reguladora de todos los genes de interés se localizaban secuencias reguladoras como ser cajas TATA, cajas CAAT y CAAT invertidas, además de varios elementos de respuesta como ser elemento de respuesta al estrés fisiológico (STRE), relacionados a la represión catabólica por carbono (Cre1, CreA), relacionados a la represión catabólica por nitrógeno (AreA), sitios de unión para el factor de la conidiación (AbaA) y sitios de unión putativos para proteínas con funciones reguladoras durante el micoparasitismo (MYC1, MYC2, MYC3 y MYC4).

Todo este procedimiento permitió determinar que evaluar diferentes concentraciones de determinadas fuentes de carbono y nitrógeno permitirán optimizar la secreción de las enzimas implicadas en el proceso de control biológico (proteasas, quitinasas y β -1,3-glucanasas) por el aislamiento de *T. koningiopsis* POS7 en condiciones de laboratorio.

TECNOLOGÍAS -ÓMICAS; REGIÓN ESTRUCTURAL Y REGULADORA; ELEMENTOS DE RESPUESTA

EFFECTO BIOFERTILIZANTE DE *BACILLUS ALTITUDINIS* EN PLANTINES DE YERBA MATE EN VIVERO.

CORTESE, Ileana J.^{a,b}; BOYCHO, Marisa E.^a; ONETTO, Andrea L.^{a,b}; CASTRILLO, Maria L.^{a,b}; LACZESKI, Margarita E.^{a,b,c}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Dpto. de Microbiología. Cátedra de Bacteriología.
cortesejulieta@gmail.com

El cultivo de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) es una actividad económica de gran impacto regional. En los últimos años se ha reportado un aumento de los cultivos de yerba mate degradados, como resultado del sistema de monocultivo, erosión, compactación del suelo y pérdida de nutrientes, combinada con la poca o nula fertilización. Estos antecedentes orientan la investigación y generación de nuevas tecnologías para su producción. Una alternativa sustentable es el uso de biofertilizantes que proporcionan efectos benéficos en el crecimiento y desarrollo de los cultivos. En estudios previos el grupo de trabajo seleccionó dos cepas de *Bacillus altitudinis*, aisladas de plantines de yerba mate en la provincia de Misiones, por sus propiedades para estimular el crecimiento vegetal *in vitro* y en vivero. El presente trabajo tuvo como objetivo validar el efecto biofertilizante de *B. altitudinis* T5S-T4 y *B. altitudinis* 19RS3 en plantines de yerba mate inoculados bajo condiciones de vivero. Para ello se utilizaron 200 plantines orgánicos de yerba mate que fueron mantenidos en el vivero del Jardín Botánico Municipal de la ciudad de Posadas, durante todo el ensayo. Para la preparación del inóculo primario se sembraron las cepas bacterianas, previamente recuperadas, en 30 ml de caldo nutritivo estéril y se incubaron a 28 °C durante 24 h. A partir de este inóculo se realizó una suspensión en agua corriente hasta la concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC ml⁻¹. Se aplicaron cuatro tratamientos que consistieron en la inoculación de los plantines con *B. altitudinis* T5S-T4, *B. altitudinis* 19RS3, la combinación de ambas cepas y un control negativo, regado con agua. Se trabajó con 50 plantines por tratamiento y se realizaron 3 inoculaciones cada 15 días. Se midieron los parámetros de crecimiento, altura, número de hojas, diámetro del cuello e índice de clorofila cada 15 días durante 4 meses. Se analizaron las mediciones obtenidas mediante un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa Statgraphics Centurion XV.II para Windows. El mismo programa se utilizó para aplicar el método de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel de 95,0% de confianza, y una prueba de múltiples rangos para determinar la existencia de diferencias significativas entre los

tratamientos. Como resultado, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), con un nivel de confianza del 95 %, para los parámetros de crecimiento altura, diámetro del cuello e índice de clorofila de los plantines inoculados con la combinación de ambas cepas. Además, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con un nivel de confianza del 95 %, para el parámetro de crecimiento número de hojas, de los plantines inoculados con *B. altitudinis* 19RS3. En base a los resultados obtenidos, se verificó el efecto bioinoculante de las cepas *B. altitudinis* T5S-T4 y *B. altitudinis* 19RS3 a partir del incremento de los parámetros de crecimiento altura, número de hojas, diámetro de cuello, e índice de clorofila en plantines de yerba mate inoculados bajo condiciones de vivero. Estas propiedades convierten a *B. altitudinis* T5S-T4 y *B. altitudinis* 19RS3 en excelentes candidatas para la formulación de un bioinoculante para yerba mate.

BIOFERTILIZANTES; BACILLUS; YERBA MATE

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTIHELMÍNTICO EN OVINOS Y CAPRINOS DE MISIONES

DÍAZ Aylen R.^a; DÍAZ ALARCÓN Ricardo^{a, b}; MIÑO Cristian^c; DA LUZ Miguel^d; LIOTTA Domingo J.^{a, e}; MIÑO Samuel^{a, d}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Instituto de Fomento Agro Industrial (IFAI) de Misiones.

d) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Cerro Azul.

*e) Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT) ANLIS "Dr. Carlos Malbrán".
mino.samuel@inta.gob.ar*

Las infestaciones por nematodos gastrointestinales (NGI) tienen un costo elevado en el sector agropecuario a través de las pérdidas productivas, como también gastos asociados a su control en insumos y atención médica. El closantel (salicilanilidas), fenbendazol (benzimidazol) e ivermectina (lactona macrocíclica) son compuestos químicos nematodocidas de amplio espectro de uso frecuentes en rumiantes tanto en Argentina como en la provincia de Misiones.

El desarrollo de resistencia antihelmíntica (RA) es un proceso de selección en el cual los nematodos con genes de resistencia sobreviven al tratamiento, aumentando por ende la frecuencia de parásitos resistentes en las poblaciones después de la aplicación.

Conocer el estatus sanitario de una región permite implementar medidas de control adecuadas. Sin embargo, el estatus de los NGI no está determinado en la Cuenca Ovino-Caprina (COC) de la Zona Sur de la Provincia de Misiones. Por consiguiente, el objetivo de este estudio fue determinar el estatus sanitario de las gastroenteritis verminosas causadas por nematodos gastrointestinales en la COC de la Zona Sur de la Provincia de Misiones.

Se seleccionaron 5 campos de la COC ubicados en Profundidad (n1= 280 cabras, n2=150 ovejas, n3=150 ovejas, n4=17 cabras y n5=150 cabras) en base a su proximidad y/o a solicitud del propietario. Se realizó una encuesta para determinar las condiciones del manejo general y se tomaron muestras de materia fecal (MF) para su estudio.

Las muestras fueron analizadas al efecto de determinar la cantidad de huevos por gramo de materia fecal (HPG) de cada animal. Ante la situación de alta infestación, se realizó el test de resistencia. Brevemente, se conformaron 4 grupos (no tratado, closantel, fenbendazol, ivermectina) de 10 animales cada uno seleccionados aleatoriamente. La dosis se determinó según el peso de los animales. Se tomaron

muestras de MF en los tiempos 0, 14 y 28 días post tratamiento. De cada muestra se determinó el nivel de HPG y se evaluó el porcentaje de reducción de parásitos a los 14 días y a los 28 días.

De los 5 campos analizados el 60% contaba con un programa de manejo antiparasitario adecuado. El 20% recién se iniciaba en la actividad y el propietario solicitó conocer el estado. Mientras que un 20% no presentaba un programa de manejo adecuado, manifestando desparasitaciones frecuentes con el mismo principio activo.

Los campos 1, 2, 3 y 4 presentaron una carga parasitaria baja. En el campo 5 se observó un nivel alto de carga parasitaria por lo cual se realizó el test de resistencia. Los resultados del test evidenciaron que el compuesto closantel tuvo una eficacia del 94,2%, mientras que el fenbendazol 39,3% e Ivermectina 9,7%.

En los campos con buen manejo general se detectó una carga parasitaria baja; mientras que el campo sin un programa de manejo, tuvo una alta infestación y solo el closantel tuvo eficacia antihelmíntica.

Esto pone de manifiesto que el monitoreo regular de salud de un rodeo y el buen uso de los compuestos antihelmínticos son cruciales para evitar el desarrollo de RA.

HELMINTOS; RESISTENCIA; RUMIANTES

EFFECTO *IN VITRO* DE PESTICIDAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE *BEAUVERIA BASSIANA*

Iriarte Agustina M.^a; Silva Marilyn^{a,b}; Sadañoski Marcela A.^{a,b}; Fonseca María I.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
agustina.iriarte.m@gmail.com

El empleo de medios biológicos como parasitoides, depredadores y antagonistas han sido alternativas para la problemática de las aplicaciones indebidas e indiscriminadas de plaguicidas. En este sentido, el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* es uno de los principales micoinsecticidas debido a su distribución cosmopolita y su potencial para controlar insectos que atacan cultivos de importancia económica. Evaluar la compatibilidad de agentes de control biológico de hongos con pesticidas sintéticos resulta necesario a la hora de incorporarlos al programa de manejo integrado de plagas. En este contexto, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de los pesticidas, dimetoato (O,O-dimetil-S-metilcarbamoilmetil fosforoditioato), carbaryl (1-naftil metilcarbamato) y clorpirifos (0,0-dietil 0-3,5,6 tricloro-2-piridil fosforotioato) utilizados en el cultivo de yerba mate sobre el crecimiento micelial de *B. bassiana in vitro*. Para ello, se utilizó la cepa fúngica *B. bassiana* HEP MSO2, previamente reactivada en medio de cultivo sólido MEA (extracto de malta 12,7 g L⁻¹) y agar (17 g L⁻¹) durante 7 días. Se obtuvo una suspensión de conidias con agua destilada estéril con Tween 80 (0,1%), cuya concentración se ajustó a 1x10⁷ conidias mL⁻¹, utilizando la cámara de Neubauer. Se inoculó una alícuota de 10 µL de la suspensión de esporas en un pocillo realizado en el centro de una caja de Petri de 90 mm conteniendo MEA suplementado con carbaryl, dimetoato y clorpirifos a una concentración de 2 mg L⁻¹, 0,0005 mg L⁻¹ y 2 mg L⁻¹ respectivamente. Luego se incubaron las placas en estufa 28±1°C en oscuridad, durante 6 días. Se midió el diámetro de crecimiento micelial cada 48 h utilizando calibre digital. Los controles se realizaron utilizando el mismo procedimiento en ausencia de pesticidas. El cálculo del porcentaje de inhibición para cada pesticida resultó del promedio de los datos del área de crecimiento fúngico en comparación con el control. Dichos valores se clasificaron dentro de cuatro niveles de inhibición: 1 = inofensivo (< 25%), 2 = levemente dañino (25-35%), 3 = moderadamente dañino (36-50%) y 4 = dañino (> 50%). El presente estudio demostró que la presencia de los tres pesticidas en el medio de cultivo tuvieron un efecto inofensivo (< 25%) en el crecimiento micelial de *B. bassiana*. Se concluye que la utilización de carbaryl, dimetoato y clorpirifos son compatibles con el uso de micopesticida *B. bassiana* en las dosis evaluadas. Los resultados obtenidos en el presente trabajo son de importancia para aquellos

sistemas de producción que requieren la utilización conjunta de pesticidas químicos y micoinsecticidas de *B. bassiana* para controlar enfermedades específicas, apuntando a la realización de prácticas sostenibles y ecológicas.

BEAUVERIA BASSIANA; MICOINSECTICIDA; PESTICIDAS; COMPATIBILIDAD

AUTOMATIZACIÓN EN GERMINACIÓN DE CULTIVOS HIDROPÓNICOS

KURTZ, Olga M.

Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

myriam.kurtz@gmail.com

El cultivo y mejoramiento de productos alimenticios ha sido el motor del desarrollo de la sociedad, ha sido la base de la economía, de los desarrollos tanto culturales como tecnológicos. Se desarrollaron técnicas de mejoramiento en los cultivos, como los sistemas hidropónicos, que son cultivos que no utilizan suelo y, los nutrientes que necesita la planta para crecer son provistos a través del agua. Algunas de las ventajas que presenta esta técnica de cultivo son, la reducción del requerimiento de espacio, la higiene de los cultivos, la producción en lugares donde no hay tierra o es de mala calidad, la producción en climas variados y la optimización del uso del agua.

Para este trabajo, se utilizó el sistema "Raíz Flotante", que es una técnica donde las plantas se encuentran sostenidas por alguna estructura flotante, (en nuestro estudio se utiliza placas de telgopor perforadas), que se encuentran sobre la solución nutritiva con sus raíces inmersas en los nutrientes. Este tipo de sistema se adapta para hortalizas de hoja. La hortaliza seleccionada para este trabajo es la lechuga, conocida científicamente como *Lactuca Sativa*. El cultivo de la lechuga se realiza a partir de sus semillas. El proceso de producción observado consta de dos etapas. La primera, comprende la siembra de las semillas y el desarrollo de los plantines hasta que estén disponibles para su trasplante. La segunda parte, se refiere al sistema de cultivo hidropónico en donde se depositan los plantines hasta su desarrollo.

Este trabajo se enfoca en la etapa de germinación del cultivo hidropónico. El problema a resolver es cómo diseñar la automatización de la germinación de cultivos hidropónicos, el objetivo general es diseñar y construir un sistema de control para el proceso de germinación de semillas para el consumo humano. Como objetivo específico, se planteó modelar un sistema de control de variables como la humedad y la temperatura con la finalidad de automatizar la germinación para monitorear las condiciones ambientales de manera remota. La metodología utilizada para el control de las variables de estudio en el prototipo diseñado de cajas germinadoras, es la experimentación controlada, como método de trabajo se manipularon las variables seleccionadas de forma cuantitativa para generar datos que sean estadísticamente analizables. En cada una de las etapas del Sistema de Control se implementó el método instruccional ADDIE (análisis, diseño, desarrollo, implementación y evaluación), para la recopilación y análisis de la información. Como resultado se construyeron 3 prototipos de cajas de germinación y, se diseñó y

contruyó el sistema de control de variables para automatizar el proceso de germinación de cultivos hidropónicos.

Conclusiones e importancia del trabajo: El trabajo con cultivos hidropónicos automatizados en su etapa de germinación, permite el manejo inteligente de nutrientes y condiciones ambientales que en muchas ocasiones resultan inmanejables en cultivos en tierra, además requieren una mayor exigencia en la aplicación de los protocolos de germinación y crecimiento de las especies, como así también requieren de una mínima intervención humana.

HIDROPONÍA; GERMINACIÓN; AUTOMATIZACIÓN; CONTROL

PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN PLANTAS YERBA MATE INOCULADAS CON *TRICHODERMA* SPP.

LÓPEZ Ana C.^{a,b}; ZAPATA Pedro D.^{a,b}; LUNA María F.^c; ALVARENGA Adriana E.^{a,b}

- a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.
- b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
- c) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), CCT-La Plata CONICET, CIC-PBA, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 115 y 50 N° 227, C.P. 1900, Buenos Aires, Argentina
ani.lop88@gmail.com

La producción de yerba mate es una actividad agroeconómica muy importante en la provincia de Misiones. Para el óptimo desarrollo de las plantas y protegerlas del ataque de patógenos y plagas, se utilizan productos de síntesis química que contaminan el medio ambiente y son perjudiciales para la salud de los seres vivos. Una estrategia biotecnológica –amigable con el medio ambiente y seres vivos– para disminuir el uso de estos productos es la aplicación de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal o PGPM (de sus siglas en inglés). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto promotor del crecimiento vegetal de *Trichoderma* spp. –endófitos de raíz de yerba mate con propiedades como PGPM *in vitro*– sobre plantas de yerba mate en el vivero de la Fundación Alberto Roth, Santo Pipó, Misiones. El ensayo se llevó a cabo en el período marzo – julio de 2018 y se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado. Se realizaron 5 tratamientos diferentes: *T. asperelloides* LBM193, *T. asperelloides* LBM204, *T. asperelloides* LBM206, *Trichoderma* sp. LBM202 y un control. Se utilizaron 30 plantas sanas de yerba mate por tratamiento y se inocularon con 5 ml de una suspensión de 10⁷ conidios/ml al inicio del ensayo, a los 15 y 45 días de comenzado el ensayo. Se midieron los siguientes parámetros de crecimiento de las plantas a diferentes tiempos: altura, clorofila y lesiones, y al finalizar el ensayo se determinó el peso seco de las plantas. En líneas generales se observó que todas las plantas de yerba mate presentaron un mejor desarrollo que las plantas control. Los resultados evidenciaron un incremento en la altura de las plantas tratadas con las cepas de *Trichoderma* spp. hacia el final del ensayo. Además, las plantas inoculadas con *T. asperelloides* LBM193 y *Trichoderma* sp. LBM202 presentaron mayor contenido de clorofila en comparación a las plantas inoculadas con los demás tratamientos. Las plantas de yerba mate inoculadas con *Trichoderma* spp. mostraron mayor peso seco total y de raíz con diferencias estadísticamente significativas en comparación al control. Las plantas tratadas con *T. asperelloides* LBM193 presentaron el mayor peso seco de raíz, parte aérea y planta entera, con diferencias estadísticamente significativas respecto a los demás tratamientos, e incluso duplicó los valores del control. En

general, las plantas de yerba mate inoculadas con *Trichoderma* spp. presentaron más vigor y se vieron menos afectadas por ataque de insectos/microorganismos patógenos —observado por un menor porcentaje de incidencia— que los controles. De estos resultados se concluyó que *T. asperelloides* LBM193 presentó la mayor capacidad de promover el crecimiento *in vivo*; y *Trichoderma* sp. LBM202 fue el que presentó un menor grado de incidencia en plantas de yerba mate en condiciones de vivero. Como conclusión general del trabajo las cepas de *Trichoderma* spp. endófitas de yerba mate son capaces de promover el crecimiento de plantas de yerba mate en etapa de vivero, contribuyendo a la sustentabilidad del cultivo y abriendo la posibilidad de su uso como bioinsumos que minimicen el uso de agroquímicos.

BIOINSUMO; PGPM; YERBA MATE; *TRICHODERMA*

SEVERIDAD DE AISLAMIENTOS FÚNGICOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN RADICULAR EN *MANIHOT ESCULENTA*

MARTÍNEZ, Sebastián. A^a; MADRASSI, Lucas M.^{a,b}; MÓNACO, Cecilia I.^c; ZAPATA,
Pedro D.^{a,b}; ALVARENGA, Adriana E.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) CIDEFI, FCAyF, UNLP

seba.martinez58@gmail.com

La mandioca es una especie de planta dicotiledónea, perteneciente a la familia Euphorbiaceae. Es nativa de sudamérica y posee tubérculos ricos en almidón. Ya que representa una buena fuente de carbohidratos de calidad, es cultivada y utilizada como alimento en gran parte del continente así como en otras partes del mundo. En Misiones es uno de los cultivos más importantes ya que se encuentra arraigada culturalmente en el consumo regional. Cerca de la mitad del cultivo en esta provincia se destina al autoconsumo, mientras que el resto se distribuye para abastecer la demanda en fresco e industrial. Uno de los principales problemas que acarrea su cultivo es la pudrición radicular producida por hongos fitopatógenos. Entre los géneros causales de esta enfermedad se reconoce a *Fusarium* spp. como el principal agente etiológico. Sin embargo, se conoce poco de la virulencia de los hongos presentes en plantaciones locales. El objetivo de este trabajo fue determinar la virulencia de diferentes hongos aislados de raíces de mandioca con síntomas de pudrición radicular procedentes de diferentes plantaciones de la provincia de Misiones. Para ello, se realizaron pruebas de patogenicidad *in vitro* con aislamientos de *Fusarium* spp. (1.12, 1.1, 1.16, 1.9A, 4F, 1.1, M32A y 13F) y de *Lasiodiplodia* spp. (PM5, 1.14). El ensayo se llevó a cabo a partir de tubérculos frescos de mandioca. Estos fueron lavados utilizando agua corriente y luego desinfectados. Posteriormente, se tomaron bocados de 4 mm de diámetro por 10 mm de profundidad, con 40 mm de espacio entre cada uno. La inoculación fue realizada en cámara de flujo laminar, utilizando como inóculo, bocados de 4 mm de diámetro de colonias fúngicas con 10 días de crecimiento en PDA a 28 °C \pm 2 °C. Posteriormente, cada tubérculo se colocó en una bolsa plástica cerrada y trasladado a una cámara de cultivo a 25 °C \pm 2 °C por 10 días. Tras la incubación, se midió en cada inóculo la colonización superficial y la pudrición en la pulpa con calibre digital. Con los valores obtenidos se calculó el índice de severidad como el porcentaje de tejido radicular en la pulpa infectado [(tejido medular infectado/tejido radicular total)*100]. En las pruebas realizadas, todas las cepas evaluadas fueron capaces de crecer en la superficie del tubérculo. Respecto a la pudrición en la pulpa, los aislamientos de *Lasiodiplodia* spp. PM5 y 1.14 mostraron los mayores valores promedio de severidad

53% y 44%, respectivamente. Entre las cepas de *Fusarium* spp. 1.12 mostró el mayor índice de severidad (33%). Los resultados obtenidos mostraron que las cepas autóctonas de *Lasiodiplodia* spp. y *Fusarium* spp. son capaces de colonizar la superficie de las raíces de mandioca y de producir pudrición en ellas. Más aún, los valores de colonización superficial y de severidad de la pudrición indicarían que esta capacidad depende principalmente de la cepa evaluada. Estos resultados son importantes ya que representarían un paso hacia la identificación de los agentes causales de pudrición radicular en mandioca en la provincia de Misiones.

MANDIOCA; HONGOS FITOPATÓGENOS; *FUSARIUM* SPP.; *LASIODIPLODIA* SPP

ALTURA Y NÚMERO DE HOJAS COMO ESTIMADORES DEL CRECIMIENTO DE *ILEX PARAGUARIENSIS*

ONETTO, Andrea L.^{a,b}; CORTESE, Iliana J.^{a,b}; CASTRILLO, María L.^{a,b}; LACZESKI, Margarita E.^{a,b,c}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Dpto. de Microbiología. Cátedra de Bacteriología.

melaczeski@fceqyn.unam.edu.ar

La determinación de parámetros relativos al tamaño de plantas en el vivero es necesaria para validar tratamientos de interés biotecnológico como la aplicación de biofertilizantes. En particular, para *Ilex paraguariensis* (yerba mate), es de interés obtener en esta etapa plantines robustos que sean capaces de resistir las condiciones adversas que encontrarán al momento de pasar al campo. En la literatura es frecuente encontrar reportados parámetros como área foliar y peso seco de parte aérea como estimadores del crecimiento vegetal frente a tratamientos con bioinoculantes, pero se trata de procesos laboriosos que requieren sacrificar las plantas bajo estudio, por lo que no es posible determinarlas para una misma planta al inicio y al final del ensayo. Se propuso como objetivo evaluar si existe correlación entre área foliar y peso seco de hojas de plantines de *I. paraguariensis*, con altura y número de hojas (parámetros no destructivos fácilmente medibles en el vivero).

Se trabajó con datos de 451 plantines de *I. paraguariensis* de siete meses. A cada planta se le midió altura, y se contó el número de hojas. Se tomaron fotografías de las hojas para la determinación del área foliar. Las hojas se secaron en estufa a 40 °C para determinación del peso seco. Las fotografías fueron analizadas empleando el applet en línea ImageJ. Las correlaciones se realizaron calculando el coeficiente de correlación de Pearson empleando el Software Infostat.

Se observó buena correlación entre los parámetros destructivos (área foliar y peso seco de hojas) con un coeficiente de Pearson de 0,98 (p-valor < 0,0001). Al graficar ambos en un diagrama de dispersión se observó que los puntos se distribuyeron de forma prácticamente lineal. El análisis entre área foliar y altura, y entre área foliar y número de hojas, arrojó coeficientes de correlación de 0,77 (p-valor < 0,0001) y 0,60 (p-valor < 0,0001), respectivamente. Gráficamente, en ambos casos las nubes de puntos fueron difusas. Al observar el gráfico de dispersión para la altura pareciera existir una dependencia lineal con el área foliar, pero la misma se pierde sobre valores cercanos a 150 cm² (correspondiente con plantas de más de 15 cm de altura). Las correlaciones entre peso seco de hojas y altura, y entre peso seco y número de hojas, arrojaron coeficientes de correlación de 0,74 (p-valor < 0,0001) y

0,58 ($p\text{-valor} < 0,0001$), respectivamente. Los gráficos de dispersión fueron similares a los observados para el caso del área foliar.

Los coeficientes de correlación obtenidos, sumados a los gráficos de dispersión, sugieren que altura y número de hojas como tales no resultarían buenos estimadores del área foliar y del peso seco de hojas para las plantas en etapa de vivero, especialmente para las plantas de más de 15 cm de altura. Los resultados obtenidos sugieren la posibilidad de combinar ambas mediciones (y posiblemente otra medición no destructiva) a fin de obtener a partir de éstas, un estimador que presente una mejor correlación con área foliar y altura, que facilite el seguimiento de los ensayos sin los inconvenientes operativos que éstas presentan.

YERBA MATE; ÁREA FOLIAR; ALTURA; HOJAS; CORRELACIÓN

EFFECTO MICOPARASITICO DE *TRICHODERMA KONINGIOPSIS* POS7 SOBRE *ALTERNARIA ALTERNATA*

ROTHARMEL, Florencia I.^a ; AMERIO, Natalia S.^{a,b} ; BICH, Gustavo A.^{a,b}; CASTRILLO,
María L.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
florenciarotharmel@gmail.com

Durante muchos años el control de enfermedades se basó casi exclusivamente en el uso del control químico. A lo largo del tiempo se demostró que el uso indiscriminado de productos químicos trae aparejado numerosos problemas, lo que llevó a la sustitución total o parcial del control químico por métodos alternativos. En la actualidad, numerosos hongos aislados del suelo se emplean como agentes de control biológico, especialmente aquellos del género *Trichoderma*. El micoparasitismo implica el ataque directo de un aislamiento fúngico sobre otro y es uno de los mecanismos antagónicos más importantes expresados por *Trichoderma*. Diferentes interacciones hifales están involucradas en el micoparasitismo, tales como: enrollamiento, penetración, vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis. En el parasitismo a nivel microscópico no todas estas interacciones son siempre observadas, pues al parecer dependen del aislamiento de *Trichoderma*, del patógeno y de las condiciones del ambiente. El presente trabajo tuvo como objetivo dilucidar el mecanismo de control micoparasitico de *Trichoderma koningiopsis* POS7 sobre *Alternaria alternata*. Para ello, se evaluó la interacción entre ambos aislamientos, colocándose dos portaobjetos a 90° uno del otro dentro de una placa de Petri, y se adicionó una fina lámina de medio de cultivo estéril sobre el portaobjetos superior y se dejó solidificar. En esta técnica sobre un extremo del portaobjeto se sembró un disco de micelio de *T. koningiopsis* POS7 y sobre el otro extremo un disco de micelio de *A. alternata*. Se incubaron a $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y luz constante hasta tomar contacto entre ambos micelios. Para las observaciones microscópicas se presionó de forma suave con el lado adhesivo de una cinta transparente sobre la superficie de las colonias en la región donde se observó contacto entre *T. koningiopsis* POS7 y *A. alternata*, recogiendo una porción del micelio aéreo. Posteriormente se colocó la cinta sobre una gota de lactofenol azul de algodón dispuesta sobre la superficie de un portaobjetos. Finalmente se observó la muestra en un microscopio óptico con aumentos de 40X y 100X. Como resultado, se pudo determinar que dentro de las formas típicas de parasitismo, *T. koningiopsis* POS7 microscópicamente presentó penetración de hifas, estructuras semejantes a ganchos y enrollamientos de hifas alrededor del patógeno *A. alternata*. En base a los resultados obtenidos, se determinó que *T. koningiopsis* POS7 ejerce efecto

inhibitorio sobre *A. alternata* mediante diferentes formas de micoparasitismo por lo que se pudo identificar y profundizar estos mecanismos de control biológico en este aislamiento. En estudios posteriores en el genoma de *T. koningiopsis* POS7, se profundizará en los posibles genes asociados a estos mecanismos.

CONTROL BIOLÓGICO; ANTAGONISMO; MICROCULTIVO

TRICHODERMA SPP. COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE LA PUDRICIÓN RADICULAR EN MANDIOCA

VARGAS, Adriana D.^a; MADRASSI, Lucas M.^{a,b}; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}; MÓNACO, Cecilia I.^c; ALVARENGA, Adriana E.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

^c) CIDEFI, FCAyF, UNLP.

adrydenvargas@gmail.com

En la provincia de Misiones los cultivos de mandioca son de gran importancia agroeconómica. Uno de los principales problemas fitosanitarios que afectan al cultivo es la pudrición radicular causada por hongos edáficos. Uno de los géneros más frecuentemente asociados a esta enfermedad es *Lasiodiplodia* spp. Esta afección produce daños en los cultivos y pérdidas económicas. En los últimos años se ha investigado cómo combatir la pudrición radicular utilizando biocontroladores del género *Trichoderma*. El mismo presenta diferentes mecanismos de acción que le permiten controlar el desarrollo de los fitopatógenos, entre los que podemos mencionar la competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, entre otros. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial antagonista de aislamientos de *Trichoderma* spp. como posibles agentes de biocontrol en la pudrición radicular en *Manihot esculenta*. Para este trabajo se utilizaron como antagonistas cuatro aislamientos de *Trichoderma* spp. (Tob6, Tob2, Td1 y LMB193). Como patógenos, se utilizaron dos cepas de *Lasiodiplodia* spp. (PM5 y 1.14) obtenidas de raíces de mandioca con síntomas clásicos de pudrición y seleccionadas mediante pruebas de patogenicidad *in vitro*. Para evaluar la capacidad antagonica se realizaron pruebas de co-cultivo y pruebas de metabolitos volátiles *in vitro* entre el antagonista y el patógeno. Se llevó a cabo la determinación del tipo de interacción celular mediante pruebas de microcultivo. Todos los aislamientos de *Trichoderma* spp. fueron capaces de inhibir a PM5 y 1.14 en porcentajes mayores al 65% en las pruebas de co-cultivo. Asimismo, los antagonistas inhibieron al menos un 39% el desarrollo de los patógenos en las pruebas de metabolitos volátiles. LMB193 inhibe en un 85% a PM5, mientras que Td1 lo inhibe en un 68%. Tob2 inhibe el crecimiento de 1.14 en un 75% y LMB193 en un 73%. Se logró observar micoparasitismo de *Trichoderma* spp. hacia *Lasiodiplodia* spp. lo que resultó en un deterioro de las colonias patógenas y sobrecrecimiento del antagonista sobre las mismas. A partir de los resultados obtenidos se concluye que los aislamientos de *Trichoderma* spp. utilizados en este trabajo podrían tener un gran potencial como biocontroladores de la pudrición radicular en *Manihot esculenta* causada por hongos fitopatógenos del género *Lasiodiplodia*.

ANTAGONISMO; *LASIODIPLODIA* SPP.; *MANIHOT ESCULENTA*

ALTERNATIVAS DE CONTROL PARA EL TIZÓN DEL HILO BLANCO EN *ILEX PARAGUARIENSIS*

VERESCHUK, Manuela L. ^{a,b}; DOMINGUEZ, Facundo G. ^{a,b}; ALVARENGA, Adriana E. ^{a,b};
ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
manuelavereschuk@gmail.com

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) es una especie nativa de las regiones subtropicales y templadas de América del Sur con gran importancia agroeconómica en Misiones, Argentina. La enfermedad del mal de la tela o tizón del hilo blanco afecta severamente el cultivo de yerba mate reduciendo su calidad y productividad. El estudio de los hongos fitopatógenos lleva a profundizar el conocimiento de las enfermedades y el rol funcional del agente patógeno en el agroecosistema, lo cual permite plantear una estrategia de manejo sustentable para controlar las enfermedades que afectan este cultivo. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de tres fungicidas químicos comerciales utilizados para el control de enfermedades en el cultivo de yerba mate; y evaluar cualitativa y semi-cuantitativamente el potencial de antagonismo de dos cepas de *Trichoderma* endófitas LBM193 y LBM202 frente a seis aislamientos de hongos asociados al mal de la tela obtenidos a campo, denominados como: AKD2p, APC1, ASD4, ACB1, ACJ2, AFE1. Mediante la técnica de cultivo suplementado se estimó el valor EC_{50} (concentración efectiva media que inhibe el 50 % del desarrollo micelial) a partir de curvas de dosis-respuesta, con el fin de evaluar la eficacia de tres antifúngicos sintéticos: Captan, Carbendazim y sulfato de cobre pentahidratado. Además, se determinó su capacidad fungistática - fungicida frente a los aislamientos asociados al tizón del hilo blanco. Para evaluar cualitativa y semi-cuantitativamente la capacidad antagónica de *Trichoderma* contra los aislamientos fúngicos, se realizó un ensayo *in vitro* de cultivo dual en placa, donde se midió el radio de crecimiento del aislamiento frente al antagonista. A partir de los resultados obtenidos, se encontró que los aislamientos asociados al tizón del hilo blanco son sensibles a los fungicidas comerciales Captan, Carbendazim y sulfato de cobre pentahidratado. Sin embargo, los valores de EC_{50} fueron significativamente inferiores a las concentraciones sugeridas para el control de enfermedades fúngicas a campo. Para estos seis aislamientos el Captan actúa como fungistático a una concentración de 1000 µg/mL; mientras que el sulfato de cobre pentahidratado actúa como fungicida a la misma concentración. Sólo los aislamientos AKD2p y ASD4 lograron desarrollarse en medio suplementado con Carbendazim a una concentración de 1000 µg/mL, siendo para todos los demás aislamientos un químico fungicida a

menores concentraciones. Por otra parte, se observó que las cepas de *Trichoderma* LBM193 y LBM202 fueron capaces de invadir y reducir el crecimiento de los aislamientos fúngicos seleccionados. Si bien la capacidad biocontroladora de *Trichoderma asperelloides* LBM193 y *Trichoderma* sp. LBM202 depende del patógeno al que es expuesto, se sugiere que el control biológico de la enfermedad es posible como una alternativa agrosostenible frente a los fungicidas sintéticos.

YERBA MATE; ANTAGONISMO; BIOCONTROL; AGROQUÍMICOS; FUNGICIDA

IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTO FÚNGICO DEL GÉNERO *BEAUVERIA* NATIVA DE LA PROVINCIA DE MISIONES

SILVA, Marilyn RV^{a,b}; ORTELLADO, Laura E^{a,b}; BICH, Gustavo Á^{a,b}; CASTRILLO María L^{a,b}; FONSECA, María I^{a,b}; ZAPATA, Pedro D^{a,b}; VILLALBA, Laura L^{a,b}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
momi_rv04@hotmail.com

La identificación de especies de hongos patógenos de insectos se encuentra en el corazón de los estudios que buscan alternativas al uso de control químico de insectos en las grandes extensiones de cultivo. Los centros de biotecnología aplicada en Argentina y el mundo son una grandiosa fuente de diversos materiales de referencia y desarrollo microbiológico, sin embargo los aislamientos allí conservados primariamente se han identificado morfológicamente para determinar su género.

Los hongos entomopatógenos afectan a un gran grupo de insectos de interés sanitario. Hay numerosos estudios y artículos sobre *Beauveria bassiana* en el mundo, que indican potencial para el control biológico de insectos. Es por ello, que el objetivo de este trabajo fue identificar el aislamiento fúngico del género *Beauveria* denominado HEP 32 nativo de la Provincia de Misiones a partir de su macro y micromorfología.

En plantaciones de yerba mate orgánicas de la provincia de Misiones, a partir de la observación y recolección de insectos parasitados tanto en suelo como en las hojas de las plantas, se colectaron insectos con pinzas y se depositaron en frascos cónicos de plástico desinfectado y rotulado, para ser transportados al laboratorio. Bajo flujo laminar, los insectos se desinfectaron con alcohol 70%, y por siembra directa con ansa aguja a partir de la superficie de los insectos, se repicaron a placas de Petri conteniendo agar papa dextrosa (PDA 3,9% Britania Lab) como medio de cultivo. Las placas se incubaron a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ en oscuridad por 10 días.

A partir de la cepa aislada y pura se analizaron las estructuras vegetativas y reproductivas, para la caracterización macro y microscópica, utilizando la técnica de la cinta adhesiva con la técnica de montaje con lactofenol azul de algodón se pudo observar fiálides con la región basal ensanchada en zigzag, organizadas en conidióforos y conidios globosos o subglobosos con una longitud de 2 a 3,5 μm y un ancho de 2 a 3 μm . Macroscópicamente se observó crecimiento de colonias redondeadas, algodonosas color blanco con reverso ligeramente color crema-amarillento. Se concluye que estas características permitieron identificar al aislamiento como *Beauveria bassiana*. A este tipo de aislamientos se les puede

medir su potencialidad patogénica a partir de ensayos con insectos en laboratorio y posteriormente a escala vivero/campo sobre las plantas afectadas.

CONTROL BIOLÓGICO; HONGOS ENTOMOPATÓGENOS; *BEAUVERIA*



BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL



ANÁLISIS DEL SITIO CATALÍTICO EN LACASAS: CLAVES MOLECULARES DEL ACOPLAMIENTO CON LIGANDOS

AYALA SCHIMPF, Alan R.^{a,b} GAMARRA, Marcelo D.^{a,b}; FONSECA, María I.^{a,b};

ZAPATA, Pedro D.^{a,b}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
schimpfalan92@gmail.com

Los estudios estructurales de las enzimas lacasas revelaron que las mismas poseen centros de iones de cobre (Cu) conservados y una topología general, dada por un centro de cobre mononuclear (Cu T1) y un centro trinuclear (TNC) compuesto por un cobre T2 y dos cobres T3, conformando su sitio catalítico. Las mismas son capaces de catalizar la oxidación de una amplia gama de sustratos. En este contexto, las lacasas de basidiomicetos de pudrición blanca resultan excelentes candidatos biotecnológicos para biodegradar y monitorear compuestos del entorno, sin embargo, son escasos los estudios bioinformáticos relevantes en biotecnología ambiental haciendo uso de los mismos. Las simulaciones de Docking Molecular son una estrategia eficiente para la predicción del acoplamiento proteína-ligando, estando reportado que al disponer de información de sitios ideales (farmacofóricos) del receptor, se mejora considerablemente el *docking* en términos de precisión y energía. Por ello resulta necesario profundizar las particularidades de la interacción con los distintos sustratos en el sitio activo de la lacasa. El objetivo del trabajo fue evaluar cinco lacasas fúngicas provenientes de *Pleurotus pulmonarius* (lac I-III) y *Phlebia brevispora* (lac IV-V), a partir de la caracterización y análisis de los sitios de interacción más probable en cada caso, verificando las conformaciones resultantes del acoplamiento con ABTS.

En primer lugar, se llevó a cabo el modelado por homología de cada enzima mediante el software libre *Phyre2*, utilizando la estructura de la lacasa de *Trametes versicolor* (PDBID: 1GYC) como templatado. Posteriormente se contrastaron los modelos con estructuras disponibles cocristalizadas de la enzima con algún ligando, utilizando como referencia la lacasa de *Bacillus subtilis* (PDBID: 3ZDW) para la caracterización del ambiente aminoacídico de cada modelo. Se realizó el cálculo de los sitios farmacofóricos haciendo uso del módulo *ideal_sites.py* de AutoDockTools disponible dentro del paquete MGLTools1.5.7. Luego se definió un *mask* de aminoácidos del potencial sitio activo obtenido en los cálculos mediante *CASTp 3.0* y *DoGSiteScorer*. Los resultados fueron comparados contra el cristal de 3ZDW conteniendo ABTS co cristalizado.

El sitio de unión al ABTS cristalizado se correspondió perfectamente con uno de los *pockets* calculados con diferentes predictores. Se obtuvo que todas las lacasas mostraron el mismo sitio aceptor de electrones presente en interacción con una de las histidinas que coordina el Cu. Tres de ellas (lac I, II y V) presentaron una región hidrofóbica dentro del bolsillo muy cercano al sitio T1 indicando una fuerte interacción con un grupo hidrofóbico o aromático del ligando. En lac III y IV se identificaron sitios aceptores extras, mostrando tener un ambiente polar capaz de estabilizar la unión de grupos polares. Las lacasas IV y V poseen un sitio aromático en la entrada del *pocket* mostrando su diferencia con las demás lacasas, siendo éstas de la misma especie. Al utilizar estos sesgos se generó el re-docking en 3ZDW y se obtuvo mayores energías de afinidad para lac II y IV (9.91 y 9.41 kcal/mol respectivamente). Éstos resultados sientan las bases para la identificación de rasgos estructurales determinantes de la afinidad en estas lacasas fúngicas con el fin de mejorar su capacidad de unión a sustratos.

LACASA; SITIOS IDEALES; DOCKING MOLECULAR

PERFIL PROTEICO Y MORFOLOGÍA DE *ACTINOMUCOR ELEGANS* LBM 239 CULTIVADO CON CARBENDAZIM

BELARDITA, Agustín A^a; BAUMANN, Alicia J.^a; DÍAZ, Gabriela V.^{a,b}; ARGÜELLO, Beatriz V.^c; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.
agusbelardita@gmail.com

El Carbendazim es un fungicida sistémico utilizado para controlar enfermedades fúngicas en los cultivos. Su uso creciente y sus efectos tóxicos sobre los seres vivos se consideran una amenaza para el medio ambiente. La capacidad de tolerancia de los hongos puede ser aprovechada en estrategias biotecnológicas para mitigar sus efectos ambientales. Previamente, el grupo de investigación aisló 28 cepas fúngicas de muestras de suelo hortícola de Misiones, los cuales se ensayaron en función de su tolerancia frente a los fungicidas Carbendazim, Captan y Zineb a diferentes concentraciones. Como resultado se destacó el aislamiento LBM 239 que presentó la mayor tolerancia al Carbendazim a 100 ppm, siendo identificado mediante métodos moleculares como *Actinomucor elegans*.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar los efectos tóxicos del Carbendazim sobre el perfil proteico y la morfología de *A. elegans* LBM 239.

Las proteínas se obtuvieron de los sobrenadantes de *A. elegans* cultivado en medio Czapek suplementado con (g L⁻¹) peptona de carne 2, bagazo de caña 15 y extracto de levadura 2. Al ensayo se adicionó un volumen de Carbendazim con una concentración igual a 100 ppm. Como control, el hongo se cultivó sin el fungicida. Se incubaron a 28 °C durante diez días en condiciones estáticas. Los sobrenadantes, libres de micelio, se obtuvieron por filtración al vacío, centrifugación y clarificación. De cada muestra se utilizó un volumen de sobrenadante que contenga 40 µg de proteínas para continuar con su reducción-alquilación y precipitación con acetona. Los precipitados proteicos se enviaron a analizar por espectrometría de masa al Centro de Estudios Químicos y Biológicos por Espectrometría de Masa (UBA).

Se identificaron un total de 30 proteínas, destacándose la presencia de proteínas involucradas en la respuesta al estrés oxidativo únicamente en la muestra del hongo en crecimiento con Carbendazim, como la Cu/Zn superóxido dismutasa (SOD) y la subunidad beta de proteína G.

Para estudiar el efecto del Carbendazim sobre la morfología macro y microscópica, el hongo se cultivó en medio extracto de malta líquido con y sin el fungicida durante

catorce días. Se evaluaron los cambios en el micelio fúngico mediante observación visual directa y por microscopía electrónica de barrido. Como resultado, a nivel macroscópico, se observó una inhibición del crecimiento del micelio en presencia de Carbendazim, mientras que el análisis estadístico sobre las imágenes obtenidas por microscopía electrónica, permitió determinar que las hifas expuestas al medio con Carbendazim presentaron un diámetro significativamente menor que las hifas del control ($p < 0,05$). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en el diámetro de esporas.

A pesar de la tolerancia del hongo, se evidenciaron los efectos tóxicos del fungicida en su perfil proteico resultado del estrés oxidativo con la detección de proteínas antioxidantes y en su morfología con un menor desarrollo micelial.

La capacidad de *A. elegans* LBM 239 para desarrollarse en presencia de Carbendazim y el esclarecimiento de los mecanismos involucrados en esta tolerancia constituyen un primer paso para la evaluación de su potencial como biorremediador de suelos contaminados con este fungicida.

MUCORALES; PROTEÍNAS; MACROMORFOLOGÍA; MICROMORFOLOGÍA;
TOLERANCIA A FUNGICIDAS

EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE RESIDUOS AGRO INDUSTRIALES UTILIZANDO ENZIMAS FÚNGICAS

BORDAQUIEVICH, Mayra F.^a; DÍAZ, Gabriela V.^{a, b}; CONIGLIO, Romina O.^a; FONSECA, María I.^{a, b}; ZAPATA, Pedro D.^{a, b}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). mayborda@gmail.com*

Resulta un desafío extraer compuestos fenólicos a partir de biomasa sin alterar sus estructuras como sucede con los métodos térmicos, físicos o solventes tóxicos. La extracción asistida por enzimas (EAE) es una alternativa que utiliza enzimas cuya alta selectividad, especificidad y poder catalítico provee eficiencia y nula toxicidad, asegurando la extracción limpia de los compuestos fenólicos. Los hongos se pueden cultivar con diferentes residuos agroindustriales para producir cócteles enzimáticos útiles en esta extracción. El objetivo de este trabajo fue optimizar la extracción de compuestos fenólicos a partir de cáscara de jabuticaba con el cóctel enzimático producido por *Auricularia fuscusuccinea* LBM 244. Para lograr el objetivo se utilizó un Diseño Compuesto Central (DCC) diseñado y analizado con el programa Stagraphics Centurion XVI.I (StatPoint, Inc. versión 15.2.05). Se evaluaron las siguientes condiciones de incubación en los siguientes niveles: pH 3,3; 4; 5; 6 y 6,6; de temperatura (°C) 23, 30, 40, 50, 56 y de tiempo (h) a 1,3, 6, 9 y 11 h en 16 tratamientos experimentales. Previo a la incubación, a todos los tratamientos se les adicionó el cóctel enzimático producido por *A. fuscusuccinea* LBM 244 en una dosis de 6 UPF mL⁻¹. Asimismo, a todas las reacciones se les agregó 0,2% de azida sódica para inhibir el crecimiento microbiano. Luego de la incubación, se ajustó el pH a 9,5 con NaOH 2 N y nuevamente se incubó a 45 °C y 50 rpm por 30 min. Los sobrenadantes obtenidos se utilizaron para determinar el contenido de fenoles totales (CFT) con el método de Folin/Ciocalteu y se expresó en mg equivalentes de ácido gálico mL⁻¹ contra una curva estándar. El programa predijo una respuesta óptima de 94 mg mL⁻¹ de fenoles totales bajo las siguientes condiciones: pH 4,6, 56 °C y 11. La validación del DCC se realizó por cuadruplicado y se encontró concordancia entre la respuesta óptima predicha por el programa y el valor experimental de la validación, 88 mg mL⁻¹ aproximadamente.

AURICULARIA FUSCOSUCCINEA; COCTELES ENZIMÁTICOS; SUPERFICIE DE RESPUESTA; FENOLES TOTALES

RESPUESTA TRANSCRIPCIONAL DE *PLEUROTUS PULMONARIUS* LBM105 DURANTE LA DEGRADACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS

CHELALICHE, A. S.^{a.b.}; ALVARENGA, A. E.^{a.b.}; ZAPATA, P. D.^{a.b.}; FONSECA, M. I.^{a.b.}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
sebachelaliche@gmail.com*

Los bifenilos policlorados, también conocidos como PCBs, son compuestos químicos sintéticos compuestos de una molécula de bifenilo conteniendo de 1 a 10 sustituciones de cloro. Si bien, a mediados de los años 70 su producción ha sido prohibida a nivel mundial la contaminación ambiental producto de su distribución todavía persiste. Debido a su baja biodegradabilidad y alta lipofilia, estos compuestos son propensos a bioacumularse en los tejidos, derivando en una biomagnificación de la cadena alimenticia, posicionándose en la lista de prioridad de compuestos peligrosos propuesta por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. Entre los diferentes organismos con capacidad de tolerar y remover estos compuestos recalcitrantes, los hongos de pudrición blanca han demostrado una capacidad de alcanzar altas tasas de remoción debido a su capacidad de producir un arreglo de potentes enzimas oxidativas caracterizadas por una baja especificidad al sustrato. Dentro de este grupo de organismos, la cepa *Pleurotus pulmonarius* LBM 105 ha demostrado que es capaz de alcanzar altos porcentajes de degradación en medio líquido. Si bien su capacidad de degradación ha sido estudiada en profundidad, los mecanismos de respuesta y las vías metabólicas implicadas en la degradación aún faltan por ser dilucidadas. Es por ello que se plantea en este trabajo un estudio de la respuesta transcripcional de la cepa *P. pulmonarius* LBM 105 en presencia de los PCBs, buscando encontrar genes expresados diferencialmente que permitan dilucidar los mecanismos moleculares llevados a cabo en las células fúngicas durante la degradación de los contaminantes. Para ello, se desarrolló la cepa LBM 105 en un medio mínimo de glucosa-asparagina por 21 días en presencia y ausencia de una mezcla compleja de PCBs, comparando con el control en ausencia del mismo. Luego, el micelio fue cosechado y disgregado con nitrógeno líquido para obtener el ARN, seguido de un protocolo de purificación con Fenol:Cloroformo. El ARN fue secuenciado en una plataforma Novaseq-PE150 (Illumina). El transcriptoma luego fue ensamblado utilizando el programa Geneious V 8.1 utilizando la referencia GCA_012979565.1. El análisis de expresión diferencial fue realizado en un entorno de R utilizando el programa EdgeR. A partir de este estudio se observó una gran inducción del metabolismo oxidativo con enzimas como las citocromo P450, reductasas de cadena corta, aldo/ceto reductasas, lacasas y peroxidasas viéndose sobrerrepresentadas en presencia del contaminante. Así también, enzimas con un

rol activo en el metabolismo de los xenobióticos como ser las diene lacton hidrolasas y glutatión-S-transferasa fueron sobreexpresadas. Esto indica no solo la inducción de una serie de enzimas involucradas en la transformación de contaminantes, sino de un aumento del estrés oxidativo debido a las cantidades de especies reactivas del oxígeno que se producen dada la acción de estas enzimas. El entendimiento del rol de estas proteínas permitiría el desarrollo de futuras estrategias de biorremediación optimizadas para el uso de estas enzimas para la remoción de matrices contaminadas con PCBs.

TRANSCRIPTOMA; BIORREMEDIACIÓN; HONGOS DE PUDRICIÓN BLANCA

D-LIMONENO COMO INDUCTOR DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA LIPASA EN *PENICILLIUM CITRINUM*

ESQUIVEL Rocio B.^a; VELAZQUEZ Juan E.^{a,b}; SADAÑOSKI Marcela A.^{a,b}; FONSECA
María I.^{a,b}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
esquivel.rocio96@gmail.com

Las enzimas lipasas (triacilglicerol-lipasa; EC 3.1.1.3) fúngicas pueden catalizar reacciones de esterificación y transesterificación en procesos de producción de bioaromas, e hidrólisis de triacilglicéridos y reacciones de esterificación, transesterificación e interesterificación de lípidos en medios no acuosos, por lo cual su biosíntesis resulta de gran importancia en la producción de sustancias de interés alimenticio, ambiental, cosmético y medicinal. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de d-limoneno sobre biomasa, pH y la actividad enzimática lipasa, de tres cepas de *Penicillium citrinum* (LBM150, LBM151 y LBM154). Por cada cepa, se inocularon 1,25 mL de solución de 2×10^7 esporas mL⁻¹ en Erlenmeyers conteniendo 40 mL de medio de cultivo compuesto de extracto de malta (10,0 g L⁻¹), extracto de levadura (0,5 g L⁻¹), peptona bacteriológica (0,5 g L⁻¹), glucosa (10,0 g L⁻¹) y Tween 80 (0,1 g L⁻¹) en solución buffer fosfato pH 6,2 y se incubó a 28°C en condiciones estáticas. Luego de 5 días, se adicionaron 951 µL de d-limoneno (20,0 g L⁻¹) a cada medio de cultivo y se realizaron controles en ausencia de d-limoneno, y en presencia de 876 µL aceite de oliva (20,0 g L⁻¹) como control positivo de la producción de enzimas lipasas. Se tomaron muestras destructivas a los 7 días de incubación y se separó el micelio del sobrenadante mediante centrifugación a 2500 rpm durante 15 min. La biomasa se determinó por gravimetría y en fase acuosa de cultivos (sobrenadante), se determinó el pH, y la actividad enzimática lipasa por espectrofotometría a 400 nm, utilizando p-nitrofenol palmitato (p-NPP) como sustrato. A partir de la cuantificación de las actividades enzimáticas y las biomاسas, se establecieron razones de proporcionalidad a fin de comparar sus actividades específicas. Tanto el aceite de oliva como el d-limoneno, tuvieron efectos estadísticamente significativos ($p < 0,05$) sobre la biomasa, observándose una inducción en el desarrollo de la misma respecto al control en presencia de aceite de oliva y una inhibición respecto a la presencia de d-limoneno, con medias mayores para la cepa LBM150. Así también, se observó efectos significativos sobre el pH, con medias menores control. Los valores medios de pH más ácidos se registraron en cultivos con aceite de oliva para las tres cepas (5,66; 5,72 y 5,70). Todas las cepas mostraron actividad lipolítica en presencia de aceite de oliva y d-limoneno, pero no

así en ausencia de ambos. En presencia de oliva, la mayor actividad enzimática se obtuvo en la cepa LBM150. Mientras que en los medios suplementados con d-limoneno se observó mayor actividad para LBM150 y LBM154. A partir de los cocientes de proporcionalidad, se evidenció que la actividad lipolítica por unidad de biomasa para LBM150 y LBM154 (250,6 y 297,7 U mL⁻¹ g⁻¹, respectivamente), fue mayor en presencia de d-limoneno que en presencia de aceite de oliva. La inoculación de 20,0 g L⁻¹ de d-limoneno como suplemento en medios de cultivos de las cepas *Penicillium citrinum* LBM150, LBM151 y LBM154, indujo la actividad lipolítica de las mismas e incrementó la actividad enzimática específica para las cepas LBM150 y LBM154. Sumado a esto, el desarrollo significativo de la biomasa de la cepa *Penicillium citrinum* LBM150 en aceite de oliva, la convierte en un potencial seleccionado para aplicación en catálisis de bioaromas de ésteres terpénicos.

ASCOMICETOS; ACEITE DE OLIVA; TERPENOS MONOCÍCLICOS; ACTIVIDAD LIPOLÍTICA; BIOAROMAS

PRESENCIA DE GENOTIPOS TOXIGÉNICOS EN FLORACIONES DE CIANOBACTERIAS EN LA CIUDAD DE POSADAS, MISIONES.

KOLMAN, Maria A. ^{a,b}; KUNZ, Isaías E. ^a; MIÑO, Maria L. ^{a,b}; ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*

angeleskolman@gmail.com

Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos oxigénicos que frente a condiciones nutricionales y climáticas favorables pueden crecer de manera exponencial dando lugar a floraciones. Las floraciones de cianobacterias representan un riesgo cuando se producen en cuerpos de agua destinados al consumo o a la recreación debido a que algunos géneros son capaces de producir toxinas que afectan la salud. La identificación de especies y la determinación de la presencia de genotipos toxigénicos son fundamentales para la gestión de riesgos, siendo una herramienta eficaz para generar un sistema de alerta temprana. Durante los meses de noviembre 2019 a febrero de 2022 se han detectado floraciones en la ciudad de Posadas, Misiones, tanto en la zona costera del río Paraná, con episodios esporádicos de aparición de manchas verdes, como en los arroyos Zaimán y Mártires, que se encuentran en la zona urbana, donde las floraciones fueron muy intensas. Los sitios donde se detectó acumulación de cianobacterias son lugares destinados principalmente a la recreación y a la pesca artesanal, por lo que existe riesgo inminente para la población expuesta. El objetivo de este trabajo fue identificar la especie predominante en las floraciones, determinar la presencia de toxinas y monitorear mediante imágenes satelitales la progresión de las mismas. Las muestras superficiales fueron tomadas en noviembre de 2020 y diciembre de 2021 en la zona costera del río Paraná; en marzo de 2021 y febrero de 2022 en el arroyo Zaimán y en febrero y marzo de 2022 en el arroyo Mártires. Mediante microscopía óptica se lograron identificar colonias de *Microcystis* spp. en todas las muestras colectadas. La extracción de ADN ambiental mediante lisis enzimática fue realizada a partir de muestras filtradas previamente que habían sido conservadas a -20°C. A continuación se realizó la amplificación por PCR de *cpcBA*, región entre los genes *cpcB* y *cpcA* codificantes de subunidades de ficocianina, un pigmento exclusivo de las cianobacterias. Esto permite estandarizar la cantidad de ADN ambiental necesario para la amplificación positiva de las muestras. El siguiente paso fue la amplificación por PCR de una región conservada del gen *mcyE* que codifica la proteína McyE, responsable de la incorporación de D-glutamato al grupo Adda, típico de las microcistinas. Los análisis moleculares fueron positivos para la presencia de genes codificantes de microcistinas en todas las muestras colectadas. En el análisis

de las imágenes satelitales se pudo observar que las floraciones en el río Paraná no fueron de gran intensidad, en el caso del arroyo Zaimán parece haber una estacionalidad en la presencia de floraciones que abarca los meses de noviembre a abril. Finalmente, en el arroyo Mártires las floraciones fueron detectables tanto visualmente como por imágenes satelitales durante el mes de febrero. En conclusión, pudimos determinar que en los tres cuerpos de agua las floraciones fueron producidas predominantemente por la especie *Microcystis* sp., que además existe potencial producción de microcistinas, lo cual representan un riesgo para la población.

FLORACIONES; MICROCYSTIS; MICROCISTINAS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROALGAS NATIVAS CON POTENCIAL APLICACIÓN BIOTECNOLÓGICA

MIÑO, María L.^{a,b}; KOLMAN, María A.^{a,b}, ZAPATA, Pedro D.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

*b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
marialaurami92@gmail.com*

Las microalgas son un conjunto de microorganismos fotosintéticos oxigénicos que habitan en una amplia variedad de ambientes tanto acuáticos como terrestres y que utilizan CO₂ para producir biomasa, generando O₂. En los últimos años, ha aumentado el interés en el uso de microalgas para la explotación biotecnológica, siendo una de las principales ventajas los bajos requerimientos nutricionales para su cultivo. Muchas especies de microalgas son capaces de producir diferentes tipos de biocompuestos como antioxidantes, carotenoides, polímeros enzimáticos, lípidos, colorantes naturales, ácidos grasos poliinsaturados, péptidos, toxinas y esteroides, que se utilizan en varios productos industriales. Dada su versatilidad metabólica tienen un gran potencial de aplicación en diversas aplicaciones como la producción de biodiesel, la obtención de productos destinados a la industria cosmética y farmacéutica, el uso como suplementos alimentarios y, en términos ambientales, son útiles para la biorremediación de aguas residuales. El objetivo de este trabajo fue coleccionar, aislar e identificar cepas de microalgas nativas de diversas localidades de Misiones y Corrientes para el posterior estudio de compuestos con potencial aplicación biotecnológica. Durante los años 2019-2021, se obtuvieron muestras de distintos ambientes, tanto acuáticos como terrestres, de las localidades de Posadas, Garupá, San Ignacio, Santo Pipó, Comandante Andresito en la provincia de Misiones y de la localidad de Ituzaingó, Corrientes. Las muestras obtenidas fueron cultivadas en medio BG11 y posteriormente se realizó el aislamiento de las microalgas por dilución de estría en medio BG11 sólido. Las colonias aisladas a partir de estas placas fueron analizadas por microscopía óptica para verificar la ausencia de más de una especie. Fueron obtenidos un total de 20 cultivos monoalgales a los cuales se le realizó la extracción de ADN genómico, para la posterior amplificación por PCR utilizando los cebadores para la región ribosomal comprendida entre ITS1-5.8S-ITS2. Los fragmentos amplificados fueron enviados a secuenciar a un servicio externo (Macrogen, Korea). Posteriormente, luego de verificar la calidad de las secuencias y realizar la edición para obtener los fragmentos consenso, se realizó una búsqueda de secuencias utilizando la herramienta BLAST de la página del NCBI y se seleccionaron las 10 secuencias con mayor identidad para cada consenso, seguidamente se realizó el alineamiento de múltiples secuencias utilizando el paquete ClustalW del software MEGA, utilizando la herramienta Block Mapping and

Gathering of Entropy se seleccionaron las regiones filogenéticas informativas. Finalmente, se determinó el árbol óptimo de acuerdo a los datos del alineamiento utilizando el programa MEGA. Se identificaron molecularmente un total de 16 aislamientos de los géneros *Eustigmatos*, *Graesiella*, *Chlamydomonas*, *Coelastrella*, *Desmodesmus*, *Chlorococcum*, *Sphaeropleales*, *Chlamydropodium* Y *Coelastrum*. A partir de estos cultivos monoalgales, se calculó la tasa específica de crecimiento pudiéndose identificar 12 cepas de crecimiento rápido, una de las principales características de relevancia para aplicaciones biotecnológicas y 4 de crecimiento intermedio. Este trabajo nos permitió establecer el primer banco de microalgas nativas de la provincia de Misiones que resulta de vital relevancia para iniciar la bioprospección de productos de interés biotecnológico.

MICROALGAS; BIOCOMPUESTOS; IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

CARACTERIZACIÓN DE LIPASAS PRESENTES EN *PENICILLIUM* SP. DE LA PROVINCIA DE MISIONES

ORTELLADO, Laura E.^{a,b}; VILLALBA, Laura L.^{a,b}; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}; FONSECA, Maria I.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
ortelladolauraes@gmail.com

Grandes cantidades de aguas residuales (industriales, agrícolas y domésticas) son vertidas a las cuencas sin un tratamiento previo generando un exceso de contaminantes en las mismas. Es conocido que un exceso en lípidos causa serios problemas ambientales como la obstrucción de la línea de alcantarillado y la generación de una capa aceitosa en la superficie del agua que evita la penetración del oxígeno y la luz solar afectando la vida acuática. Los métodos de tratamiento físico-químico existentes para las aguas residuales ricas en lípidos son costosos, no son ecológicos y plantean un problema secundario de contaminación. El empleo de enzimas en diversos sectores industriales está en auge, debido a que su capacidad catalítica ha sido superior a la de numerosos catalizadores químicos o la necesidad cada vez mayor de emplear métodos que sean menos perjudiciales al ambiente. Estas enzimas se han obtenido de distintas fuentes: plantas, animales y microorganismos. Siendo estos últimos los de mayor importancia. La biorremediación mediada por lipasa (E.C. 3.1.1.3) microbiana presenta un enfoque alternativo atractivo para superar estos problemas. Teniendo en cuenta este contexto este trabajo se centró en la caracterización de lipasas producidas por aislamientos del género *Penicillium* de la provincia de Misiones. Para ello en primera instancia, se realizó un *screening* semicuantitativo utilizando métodos fluorométricos el cual permitió la selección de siete aislamientos del género *Penicillium* con capacidad lipolítica de manera rápida y eficiente. Estos fueron identificados a nivel de especie empleando herramientas moleculares. Posteriormente se evaluó la actividad lipasa en presencia de aceite de oliva eligiéndose a *Penicillium rubens* LBM 081 por presentar los mayores niveles de actividad lipasa. La actividad lipasa de *P. rubens* LBM 081, al igual que otras lipasas fúngicas, dependió en gran medida de las fuentes de carbono y de nitrógeno presentes en el medio. La máxima actividad enzimática (2780 U/mL) se logró cuando el hongo creció en el medio de cultivo optimizado suplementado con peptona 2%, aceite de oliva 4% y se inoculó con una concentración de esporas 1×10^6 e incubó a 30°C y 140 rpm. *P. rubens* LBM 081 presentó una enzima de 42 kDa en el medio optimizado. La actividad óptima de la lipasa estuvo dentro del rango encontrado para la mayoría de las lipasas fúngicas, su termoestabilidad fue mayor a 30°C disminuyendo a temperaturas más elevadas probablemente por

desnaturalización de la estructura enzimática. El pH óptimo de la lipasa de *P. rubens* LBM 081 también estuvo dentro del rango encontrado para las lipasas fúngicas de 7. El secretoma del medio optimizado de *P. rubens* LBM 081 presentó una expresión diferencial de las enzimas implicadas en degradar los compuestos lipídicos presentes en el medio y demostró un incremento en la cantidad de enzimas lipolíticas secretadas.

LIPASA; ACTIVIDAD ENZIMÁTICA; *PENICILLIUM RUBENS* LBM 081

EFFECTO DEL CR(VI) SOBRE EL CRECIMIENTO FÚNGICO Y LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS DE DOS HONGOS AISLADOS DE LA PROVINCIA DE MISIONES

TATARIN, Ana S.^{a, b}; ARANGUIZ, Camila^{a, b}; SADAÑOSKI., Marcela A.^{a, b}; POLTI, Marta A.^{c, b}; FONSECA, M.I.^{a, b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET).
anasilvia2705@gmail.com

El Cr(VI) es motivo de estudio recurrente debido a los efectos adversos que provoca tanto en la salud humana como en el ambiente. La capacidad de las cepas fúngicas para crecer en presencia de contaminantes como el Cr(VI) está relacionada con la habilidad del hongo de desarrollar mecanismos que le confieran adaptación siendo crucial para su aplicación en biorremediación. El objetivo de este trabajo fue determinar la biomasa, analizar la morfología macroscópica y cuantificar la concentración de proteínas extracelulares de *Trichoderma koningiopsis* LBM 253 y *Penicillium brasilianum* LBM 260 en medio de cultivo líquido contaminado con Cr(VI). Para ello se emplearon Erlenmeyers de 100 mL con 20 mL de medio de cultivo Lee modificado esterilizado en autoclave a 105°C durante 20 min y suplementado con 200 mg L⁻¹ de Cr(VI). Para la obtención del inóculo se utilizaron placas de MEA previamente activadas y se resuspendieron las esporas en Tween 80 al 0,1%. Los Erlenmeyers se inocularon con 1 mL de suspensión de esporas ($2,4 \times 10^4$), se incubaron a 28°C y se tomaron muestras destructivas al día 4, 8 y 12 de incubación. Se realizaron controles de medio de cultivo: con el hongo sin Cr(VI) y con Cr(VI) sin el hongo. Luego de la extracción de cada muestra, el micelio se separó del sobrenadante por centrifugación y se utilizó para la determinación de biomasa. La biomasa de ambos hongos se determinó mediante gravimetría y para la concentración de proteínas extracelulares se empleó el método de Lowry *et al.* (1951) utilizando una curva de calibración a partir de albúmina de suero bovino (BSA). Todos los ensayos fueron realizados por triplicado y los datos se evaluaron mediante Análisis de Varianza. Ambas cepas estudiadas demostraron ser capaces de crecer en presencia del metal, observándose un crecimiento de biomasa diferente entre ellas. *T. koningiopsis* LBM 253 registró el mayor crecimiento de biomasa al día 8 de cultivo en presencia y en ausencia de Cr(VI) ($p < 0,05$). *P. brasilianum* LBM 260 no presentó diferencia significativa entre los tres días analizados tanto en ausencia como en presencia de Cr(VI) ($p > 0,05$). En cuanto a la observación del micelio a nivel macroscópico se observaron cambios en ambas cepas, siendo más prominente la alteración sobre el micelio de *P. brasilianum* LBM 260. La concentración de proteínas extracelulares se incrementó en presencia de Cr(VI), para ambos casos,

observándose un aumento significativo al día 12 para *T. koningiopsis* LBM 253 y *P. brasilianum* LBM 260 con valores de 0,022 mg L⁻¹ y 0,042 mg L⁻¹ respectivamente (p<0,05). *T. koningiopsis* LBM 253 y *P. brasilianum* LBM 260 fueron capaces de crecer en presencia de 200 mg L⁻¹ de Cr(VI) y la adición de Cr(VI) modificó el crecimiento de ambas cepas, con disminución en los valores de biomasa y alteraciones en el aspecto macroscópico de las colonias. Esta característica podría ser indicativa del nivel de toxicidad del contaminante. Además, la concentración de proteínas extracelulares se incrementó en presencia del contaminante lo cual podría deberse al efecto de las enzimas extracelulares sobre la detoxificación del contaminante.

CROMO; BIOMASA; PROTEÍNAS

AGARICOMYCETES INMOVILIZADOS EN ESPONJA VEGETAL PARA TRATAMIENTO DE UN EFLUENTE CITRÍCOLA

SAGUCHI, Evelin Y. ^a; BENITEZ, Silvana F. ^{a,b}; ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}; LEVIN, Laura N. ^c;
FONSECA, María I. ^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Laboratorio de Micología Experimental, INMIBO-CONICET.
akemisaguchi96@gmail.com

La industria citrícola genera grandes volúmenes de aguas residuales durante el procesamiento de la fruta. La gran cantidad de materia orgánica presente en estos efluentes y la variabilidad de sus características físico-químicas representan un desafío para su tratamiento considerando factores económicos y ambientales. Para minimizar su impacto y el costo asociado al tratamiento, diferentes estrategias físico-químicas y biológicas han sido estudiadas. En este sentido el biotratamiento mediante la inmovilización de Agaricomycetes en residuos lignocelulósicos ha cobrado relevancia en los últimos tiempos. En el presente trabajo se evaluaron las cepas *Phlebia brevispora* LBM 036 y *Pleurotus pulmonarius* LBM 105 inmovilizadas en esponja vegetal (*Luffa cylindrica*), para el tratamiento de un efluente citrícola, tomando la demanda química de oxígeno (DQO; APHA, 1992) como variable respuesta. Para ello, la esponja vegetal se acondicionó mediante lavado y secado, y se cortó en cubos de 1 cm³. La inmovilización se llevó a cabo en Erlenmeyers de 250 mL con 1 g de esponja vegetal, cuya humedad inicial se ajustó al 75 % p p⁻¹ con medio Czapek (en g L⁻¹, sacarosa 30; K₂HPO₄ 1; KCl 0,5; MgSO₄ 7H₂O 0,5; NaNO₃ 20). Cada Erlenmeyer se inoculó con 3 tacos de 7 mm de diámetro de hongo cultivado en medio MEA (en g L⁻¹, extracto de malta 12,7; agar 17) y se incubó a 28 ± 1 °C en oscuridad. Luego del periodo de incubación, se agregó 50 mL de efluente puro sin esterilizar (inicio del tratamiento). Se evaluaron distintos tiempos de cultivo (0, 3, 6, 9 y 12 días) y distintos tiempos de tratamiento tomando muestras destructivas cada 48 h por 10 días a fin de establecer y comparar la remoción para cada tiempo. Los tratamientos se llevaron a cabo por triplicado. El sobrenadante se obtuvo por centrifugación a 4400 x g y la variación de DQO se calculó como:

$$\% DQO = \frac{(A-B)}{A} * 100$$

Donde A es la DQO inicial y B corresponde a la DQO del efluente después del tratamiento. Se evidenció una disminución significativa de la DQO para ambas cepas. Para el caso de *P. brevispora* LBM 036, se observó una disminución para

todas las condiciones ensayadas, siendo más eficiente el tratamiento de 10 días sin incubación previa alcanzando un $83,01 \pm 1,81$ % de reducción de la DQO. Por otro lado, para *P. pulmonarius* LBM 105 con 9 días de incubación, se observó una disminución del $88,51 \pm 1,02$ % y $94,26 \pm 4,31$ % luego de 6 y 10 días de tratamiento, respectivamente. Así también, se determinó una reducción del $92,82 \pm 5,18$ % luego de 10 días de tratamiento sin incubación previa. No hubo diferencia significativa entre estas últimas dos condiciones ($p > 0,05$). Sin embargo, considerando el tiempo total de tratamiento si se tiene en cuenta el período de incubación, se pudo determinar que la condición óptima para el tratamiento del efluente fue el tratamiento por 10 días con *P. pulmonarius* LBM 105 sin incubación previa.

De esta manera, estos resultados evidencian la capacidad de las cepas inmovilizadas para la biorremediación de efluentes industriales reales.

AGARICOMYCETES; INMOVILIZACIÓN; EFLUENTE CITRÍCOLA



INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA



ESTUDIO PRELIMINAR DE TOXICIDAD DE UNA NUEVA ENZIMA FIBRINOLÍTICA FÚNGICA

ACOSTA, Gabriela A.^{a,b}; FONSECA; María I.^{a,b}; FARIÑA, Julia I.^c; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Laboratorio de Micodiversidad & Micoprospección. PROIMI-CONICET. Tucumán, Argentina.

gaby_acosta@hotmail.com

Las enzimas fibrinolíticas fúngicas son reconocidas como importantes agentes trombolíticos debido a su capacidad para disolver los coágulos sanguíneos. Nuestro grupo optimizó los parámetros de producción y purificación de una nueva enzima fibrinolítica secretada por *Hornodermoporus martius* LBM 224. El objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad del sobrenadante de cultivo y de la enzima fibrinolítica purificada de *H. martius* LBM 224. Se realizó el ensayo de letalidad de 24 h en microplacas utilizando *Artemia* spp. como organismo de prueba. Los huevos de *Artemia* spp. se incubaron en agua de mar estéril con aireación constante a 25 ± 1 °C durante 48 h. Los nauplios fototrópicos maduros se recogieron y se colocaron de 10 a 15 organismos en cada pocillo de una microplaca de 96 pocillos con 100 µL de agua de mar. A cada pocillo se le agregaron por separado 100 µL del sobrenadante de cultivo y de la enzima purificada en *buffer* tris-HCl 50 mM pH 7,4. Como controles se utilizó: agua de mar estéril, agua destilada estéril, medio de cultivo sin el hongo, sobrenadante de cultivo desnaturalizado por calor, *buffer* acetato de sodio 50 mM pH 3,6 y 4,8, *buffer* fosfato de sodio 50 mM pH 5,6 y 6,7, *buffer* tris HCl 50 mM pH 7,4. Además, se ensayaron el sobrenadante de cultivo y el medio de cultivo sin el hongo, ajustados a pH 7 con NaOH concentrado. La placa se incubó a 25 ± 1 °C durante 24 h. Luego se examinó con una lupa y se contó el número de nauplios muertos (no móviles). Finalmente se añadieron 100 µL de metanol a cada pocillo y después de 15 min, se contó el número total de nauplios muertos. Los ensayos se llevaron a cabo por quintuplicado y los resultados se expresaron como el porcentaje de mortalidad (%) para las diferentes condiciones ensayadas.

Se demostró que la enzima purificada no exhibió toxicidad (0 % de mortalidad), mientras que el sobrenadante de cultivo mostró ser tóxico (100 % de mortalidad). Se comprobó que dicha toxicidad puede deberse no solo al pH sino también, a enzimas o compuestos termolábiles, debido a que al calentar el sobrenadante de cultivo ajustado a pH 7, la mortalidad se redujo del 73 % al 2 %. Además, se ensayaron diferentes *buffers* para evaluar el efecto del pH sobre la mortalidad de las Artemias y se comprobó que el pH del medio influye directamente sobre esta, ya que a medida que este disminuyó, aumentó la tasa de mortalidad. Finalmente se ensayó el medio

de cultivo, que contenía 35 g/L de glucosa, y se observó un 100 % de mortalidad, demostrando la influencia de la isotonicidad del medio sobre la mortalidad.

La prueba de *Artemia* spp. se considera una herramienta útil para la evaluación inicial de la toxicidad de micotoxinas, extractos y metabolitos fúngicos. Este método proporcionó datos preliminares que demostraron la ausencia de toxicidad de la enzima fibrinolítica purificada de *H. martius* LBM 224, los cuales deben ser respaldados por bioensayos más específicos.

AGARYCOMICETE; *HORNODERMOPORUS MARTIUS*; *ARTEMIA* SPP.

ENSAYO Y SELECCIÓN DE INDUCTORES DE LACASAS EN CEPAS DE *AURICULARIA FUSCOSUCCINEA*

BARUA, Celeste^{a,b}; TURIKE, Ileana^a; CONIGLIO, Romina^{a,b}, FONSECA, María^{a,b}.

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
baruaceleste@gmail.com*

Las lacasas (EC 1.10.3.2) son enzimas oxidativas versátiles aptas para ser incorporadas en distintas aplicaciones biotecnológicas. En este sentido resultan interesantes para la industria citrícola ya que pueden ser utilizadas en procesos de clarificación de jugos para mejorar el rendimiento y calidad de los mismos. Se puede obtener lacasas a partir de organismos como los hongos comestibles, sobre todo en presencia de CuSO_4 , reconocido por actuar como inductor de esta enzima. Sin embargo, este compuesto no es compatible con aplicaciones relacionadas a la Industria Alimentaria y de esta manera surge la necesidad de encontrar inductores alternativos compatibles con la misma. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue investigar distintos compuestos compatibles con la Industria Alimentaria que actúen como inductores de lacasas y permitan obtener una producción enzimática similar a la obtenida en presencia de CuSO_4 . Para esto se realizó la cuantificación de enzimas (U/L) producidas por dos aislados de *Auricularia fuscossuccinea* (LBM 243 y LBM 244) en medio de cultivo líquido extracto de malta (ME) suplementado con 6 compuestos a una concentración de 0,5mM (FeCl_2 , ZnCl_2 , KCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CaCO_3 y vainillina) como alternativa al CuSO_4 (control positivo). Discos cubiertos de micelio se inocularon en matraces conteniendo ME más compuestos como suplementos incubados de manera estática en estufa durante 32 días a 28 °C. Durante este periodo se tomaron alícuotas de sobrenadante cada 4 días, realizando un total de 8 tomas de muestras. Los ensayos se realizaron por duplicado para ambos hongos y cada compuesto. La cuantificación de enzimas lacasas se realizó empleando la técnica descrita por Field y col., (1993) con 2,6- dimetoxifenol 5 mM como sustrato. Se midió la absorbancia de la reacción en espectrofotómetro a 469 nm durante los minutos 1, 3 y 5. La actividad enzimática se expresó en Unidades (U) enzimáticas, donde 1 U es equivalente a 1 μM /min de producto a 30°C. Con los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico ANOVA simple y comparación de múltiples muestras mediante el software Statgraphics 19 y de datos agrupados Two-way ANOVA y post-test de Bonferroni mediante el software GraphPadPrism 8. Teniendo en cuenta los compuestos ensayados la mayor actividad enzimática se obtuvo en presencia del FeCl_2 ($p < 0,001$) para ambos hongos siendo 71,82 U/L producidas por LBM243 y 115,62 U/L producidas por LBM244, sin embargo, no

alcanzó la actividad enzimática (2308,9 U/L para LBM243 y 2013,24 U/L para LBM244) obtenida en presencia del CuSO_4 ($p < 0,001$).

Se concluye que si bien en las condiciones ensayadas el FeCl_2 no alcanzó los niveles de actividad obtenidos en presencia de CuSO_4 , puede ser viable su utilización para la optimización del medio de cultivo variando sus concentraciones y adicionando fuentes de carbono y nitrógeno que induzcan de manera sinérgica una mayor producción de enzimas lacasas por los aislados LBM243 y LBM244 de *Auricularia fuscusuccinea*.

ENZIMAS OXIDATIVAS; HONGOS COMESTIBLES; INDUSTRIA ALIMENTARIA;
CLARIFICACIÓN; FeCl_2 ; CuSO_4

TRATAMIENTO FÚNGICO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

MARMILICH, Iván; RODRÍGUEZ, Susana C.^a; DÍAZ, Gabriela V.^{a,b}; ZAPATA, Pedro D.^{a,b};
RODRÍGUEZ, María D.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

*b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
ivanmarmilich@gmail.com*

El reemplazo a gran escala de combustibles derivados del petróleo por biocombustibles, tales como el bioetanol obtenido a partir de material lignocelulósico, se presenta como un enfoque poderoso para satisfacer las crecientes demandas energéticas. El objetivo del trabajo fue disminuir el contenido sólido de residuos agroindustriales por acción enzimática de la cepa fúngica LBM 055, aislada en Misiones. Para llevar a cabo el experimento se realizó un diseño 2⁶ con 5 puntos centrales, donde los factores evaluados fueron: concentración de inóculo, extracto de levadura, peptona, urea, asparagina y residuo agroindustrial sólido. Se prepararon 31 frascos Erlenmeyer de 50 mL con los factores en sus diferentes niveles siguiendo el esquema de la matriz de diseño del experimento. Los mismos se autoclavaron a 1,5 atm y 121 °C por 15 min. El inóculo se contabilizó usando la cámara de Neubauer y luego se añadió a los frascos Erlenmeyers en campana de flujo laminar. Posteriormente, se incubaron los mismos durante 7 días a 24°C en estufa. Transcurrido el tiempo de cultivo, se agregaron 20 mL de buffer acetato de sodio pH 5 0,1 M con Tween 80 al 0,1 % a cada Erlenmeyer y se llevaron a shaker por 10 min a 150 rpm. Luego se filtraron y los sólidos recuperados fueron secados a 40 °C. Se determinó el peso seco por gravimetría y se analizaron los resultados utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI. Los resultados arrojaron que el factor asparagina influye negativamente en la disminución de peso seco de biomasa, mientras que el incremento de extracto de levadura tiene el efecto inverso en la variable respuesta (favorece la reducción del peso seco de biomasa). La mejor respuesta fue una reducción de peso seco del 42%.

DISEÑO EXPERIMENTAL, BIOETANOL, BIOMASA

PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA XILANASA RECOMBINANTE PROVENIENTE DE *Trichoderma atroviride* LBM 117

MOLINA, Maria A.^{a,b}, SGROPPO Sonia C.^c, MILDE Laura B.^d, ZAPATA Pedro D.^{a,b},
FONSECA, Maria I.^{a,b}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

c) Laboratorio de Tecnología Química y Bromatología. FACENA-UNNE.

d) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Módulo de Farmacia y Bioquímica. Laboratorio 204. antonella.molina.lesiw@gmail.com

Las endo-1,4- β -D-xilanasas (EC 3.2.1.8), son enzimas claves en el sistema xilanolítico fúngico. Estas hidrolizan aleatoriamente los enlaces β -1,4 glucosídicos de xilano para producir xilooligómeros de diferentes longitudes. Las xilanasas tienen diferentes aplicaciones a nivel industrial (alimentos, blanqueo de la pulpa y papel, tintes decolorantes, biocombustibles). Sin embargo, para su utilización, deben ser obtenidas en un corto periodo de tiempo, lo cual es uno de los principales factores que determinan la economía del proceso. En este sentido, las proteínas recombinantes ofrecen una alternativa en la generación de estos productos de manera rápida.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes compuestos adicionados al medio de cultivo, sobre la actividad de una xilanasa recombinante obtenida a partir del *Trichoderma atroviride* LBM 117, (expresada en la levadura GRAS *Kluyveromyces lactis*), y realizar la caracterización bioquímica de la xilanasa recombinante presente en el sobrenadante.

Para estudiar el efecto de diferentes compuestos sobre la actividad de la enzima xilanasas, al medio YPGal (20% extracto levadura, 10% peptona, 20% galactosa) se adicionaron soluciones de dextrosa, zinc, glicina, magnesio, hierro y potasio a concentraciones de 0,5 1 y 1,5 mmol L⁻¹ en un volumen final de 20 mL, incubado durante seis días a 28°C a 150 rpm. La caracterización bioquímica de la actividad xilanolítica se realizó a partir del medio que mostró mayor actividad enzimática; se centrifugó durante 10 minutos a 6000 g y el sobrenadante se utilizó para realizar la caracterización.

Para determinar la actividad xilanolítica se tomaron alícuotas de 100 μ l de xilano de beechwood (Sigma-Aldrich, USA) soluble 1% (p/v) en buffer acetato de sodio 50 mM pH 4,8 incubado con 100 μ l del extracto enzimático durante 5 min a 50°C. Los azúcares reductores liberados se midieron por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) en espectrofotómetro (Mapada® UV-3300) a 540 nm.

Para definir el pH óptimo se evaluó la actividad enzimática en un rango de pH de 3,6 a 9. Para la estimación de la temperatura óptima, se incubó el sobrenadante con xilano de beechwood a diferentes temperaturas en un rango de 20 a 80°C manteniendo constante el pH óptimo. Para evaluar la termoestabilidad enzimática, se incubó el sobrenadante en un rango de 20 a 80°C a pH 4,8. Los sobrenadantes se retiraron a distintos intervalos de tiempo. Para determinar la estabilidad enzimática en función del pH, el sobrenadante se incubó a diferentes pH (3,6 a 9) a una temperatura constante de 50°C durante diferentes intervalos. Los valores se expresaron en porcentaje, estableciendo como 100% al mayor nivel de actividad xilanolítica detectado.

La mayor actividad fue de 19284,889 U/L obtenida en presencia de 1 mmol L⁻¹ de dextrosa.

El pH óptimo de la enzima fue de 5,8 y la temperatura óptima 50°C. La termoestabilidad a 50°C se mantuvo en 60% hasta las 12 h de incubación. La estabilidad enzimática a pH 4,8 mantuvo niveles de actividad superiores al 50% hasta las 12 h.

El incremento en la actividad xilanolítica y la caracterización del sobrenadante, posibilitarán su aplicación en diferentes procesos regionales y sustentables, sentando las bases para futuras aplicaciones de la proteína.

ENDO-1,4-B-D-XILANASAS RECOMBINATE; CARACTERIZACIÓN; SOBRENADANTE; TEMPERATURA; PH

DESARROLLO DE ANTIVIRALES CONTRA VP4 DE ROTAVIRUS MEDIANTE CRIBADO VIRTUAL

SCHRODER, Melanie J.^a; SALVATIERRA, Karina^{a,b}, LIOTTA, Domingo J.^{a,c}, TRAGLIA Germán^d, MIÑO, Samuel^{a,e}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.*

b) *Instituto de Materiales de Misiones (IMAM), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones (UNaM).*

c) *Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMET), ANLIS "Dr. Carlos Malbrán".*

d) *Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.*

e) *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Cerro Azul, Misiones. schroder.melaniee@gmail.com / mino.samuel@inta.gob.ar*

Rotavirus grupo A (RVA) constituye uno de los principales causantes de gastroenteritis aguda en una amplia gama de especies de mamíferos y aves. Ingresa a los enterocitos mediante interacciones establecidas por la proteína VP4 que determina el tropismo celular. VP4 posee alta variabilidad, distinguiéndose actualmente 57 genotipos con un amplio rango de hospedadores. La espícula consiste en un homotrímero de VP4, cada una de las cuales es clivada proteolíticamente para completar la maduración, resultando en dos dominios que permanecen asociados no covalentemente: VP8* y VP5*. Los dominios de VP8* (dímero) forman la parte distal de la espícula y establecen el primer contacto virus-célula. Actualmente se postulan a los antígenos de grupo sanguíneos como posibles receptores para RVA, presumiblemente uniéndose a la porción externa de VP8*; sin embargo, se desconoce la región de VP8* que interactúa con dichos receptores.

Los análisis de estructuras 3D junto con el análisis de cribado virtual (CV), permiten identificar moléculas capaces de interactuar establemente con la región analizada. El CV constituye una técnica *in silico* ampliamente utilizada en el descubrimiento de fármacos. Permite identificar a partir de bibliotecas de moléculas, aquellas con mayores probabilidades de unirse a un objetivo farmacológico, devolviendo un número manejable de compuestos para su síntesis y puesta a prueba, reduciendo así el tiempo y los costos asociados.

El objetivo de este trabajo ha sido analizar el bolsillo formado por la unión de los dominios de VP8*, el cual podría jugar un rol clave en el reconocimiento y unión a receptores celulares.

Se obtuvieron las secuencias traducidas a aminoácidos de los 57 genotipos de VP4 de la base de datos GenBank y se realizó el clivado de los dominios VP8* y VP5*. Se obtuvieron modelos tridimensionales de cada dominio mediante modelado por

homología en I-TASSER y se seleccionó el modelo mejor puntuado. Se compuso la estructura final de cada espícula ensamblando los dominios VP8* y VP5* en UCSF Chimera y se refinaron los bucles que conforman el bolsillo utilizando MODELLER. En una segunda instancia, el CV se realizará mediante acoplamiento molecular entre la biblioteca de ligandos (base de datos ZINC) y el bolsillo de VP4, empleando la interfaz gráfica Raccoon de AutoDock. Se seleccionarán aquellos compuestos con mejor puntuación de interacción en el bolsillo, y se caracterizará la interacción utilizando LIGPLOT, que evalúa la actividad biológica mediante modelos QSAR, como así también se indagarán los farmacóforos en PharmaGist. Los resultados serán verificados mediante cribado inverso en idTarget y PharmMapper.

Se obtuvieron los modelos tridimensionales de los dominios VP8* y VP5* para los 57 genotipos de VP4. Se ensamblaron las espículas (VP5*+VP8*). Se seleccionaron los modelos de importancia en humanos (P[4] y P[8]) y se refinó el bolsillo de unión. Se descargó e instaló la biblioteca de ligandos ZINC necesaria para iniciar el CV. Los compuestos resultantes, se presentarán como candidatos con potencial acción antiviral (terapéutica), ya que se espera que interfirieran la interacción virus-célula, disminuyendo así la infección.

ROTAVIRUS; VP4; ANTIVIRAL; CRIBADO VIRTUAL



NANOBIOTECNOLOGÍA



TÉCNICAS DE INMOVILIZACIÓN ENZIMÁTICA PARA EL DESARROLLO DE BIONANOCATALIZADORES

KRAMER, Gustavo R. ^a; BRUERA, Florencia A. ^{b, c}; SADAÑOSKI, Marcela A. ^{b, c}; VELÁZQUEZ, Juan E. ^{b, c}; FONSECA, María I. ^{b, c}; ZAPATA, Pedro D. ^{b, c}; ARES, Alicia E. ^a

a) Universidad Nacional de Misiones. CONICET. Instituto de Materiales Misiones (IMAM). Programa de Materiales y Fisicoquímica (ProMyF).

b) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

*c) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
guskramer@gmail.com*

La inmovilización enzimática está a la vanguardia de la biocatálisis heterogénea, permitiendo la separación y reutilización de biocatalizadores en los procesos industriales. A su vez, los avances en la nanotecnología han permitido el surgimiento de nuevos diseños y conformaciones de soportes enzimáticos nanométricos con capacidad de albergar mayor cantidad de enzimas y mejorar su actividad y estabilidad como el óxido de aluminio anódico (OAA). Existe una amplia variedad de métodos de inmovilización enzimática, que pueden utilizarse y adecuarse para desarrollar bionanocatalizadores de interés industrial. Las enzimas Lacasas catalizan la oxidación de una gran variedad de compuestos fenólicos con aplicaciones prometedoras en la decoloración de tintes y degradación de xenobióticos para el tratamiento de aguas residuales. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue comparar cuatro métodos de inmovilización de Lacasas sobre OAA, a fin de desarrollar bionanocatalizadores oxidativos con elevada actividad y estabilidad enzimática. Para ello, se sintetizaron mediante oxidación anódica recubrimientos de OAA a partir de la aleación AA1050 durante 1 h a 30 V, empleando como electrolito ácido oxálico 0,3 M a 40°C y se produjo extracto enzimático crudo de Lacasa (EELac) a partir del cultivo de la cepa *Phlebia brevispora* BAFC 633 y posterior precipitación del sobrenadante con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 51.6 % (mv^{-1}). A continuación, se inmovilizó Lacasa sobre los recubrimientos de OAA por triplicado durante 1 h utilizando una solución de EELac + buffer acetato de sodio (pH 4,4) de concentración 1058 UL^{-1} , mediante: a) adsorción física, sumergiendo los soportes en solución de EELac + buffer con agitación; b) unión covalente, haciendo reaccionar primero el soporte con 3 - amino - propiltrietoxisilano y trietanolamina en acetonitrilo seco (ACN), luego con N,N - carbonildiimidazol en ACN y finalmente sumergiendo los soportes activados con la solución de EE + buffer; c) atrapamiento con quitosano, sumergiendo los soportes en una solución de EELac + buffer + quitosano y luego aplicando un recubrimiento protector de quitosano; d) atrapamiento con alginato de sodio, sumergiendo los soportes en una solución de EELac + buffer + alginato de

sodio, con posterior inmersión en solución de CaCl_2 . La determinación de la actividad específica Lacasa (AELac) se realizó en un espectrofotómetro UV - visible a 469 nm con 2,6 - dimetoxifenol 5 mM en buffer acetato de sodio 0,1 M (pH 3,6). Se detectó $3,5 \text{ Ucm}^{-2}$ de actividad Lacasa en los recubrimientos de OAA con unión covalente, mientras que los métodos de inmovilización por atrapamiento con quitosano y adsorción física arrojaron $2,5 \text{ Ucm}^{-2}$. En contraposición, no se detectó actividad enzimática en los soportes tratados con alginato de sodio. Se concluye que, de los cuatro métodos de inmovilización ensayados sobre los soportes de OAA, el enlace covalente resultó ser el más efectivo. Esto podría estar relacionado a un menor desprendimiento de la enzima Lacasa durante la reacción, lo que representa una mejora en la productividad y eficiencia económica de los procesos catalíticos, principalmente en la aplicación de bionanocatalizadores para el tratamiento de efluentes en continuo.

CATALIZADORES ENZIMÁTICOS; LACASA; ÓXIDO DE ALUMINIO ANÓDICO NANOPOROSO

INMOVILIZACIÓN DE ESTERASAS PRODUCIDAS POR *PENICILLIUM RUBENS* EN NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

MIGUEL, Nicolás A.^a; RODRÍGUEZ, María D.^{a,b}; ORTELLADO, Laura E.^{a,b}; ZAPATA, Pedro D.^{a,b}; VILLALBA, Laura L.^a

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). nico.mmiguel@gmail.com*

La inmovilización de enzimas producidas por hongos nativos abre las puertas a bioprospecciones concretas, tanto en lo que se refiere a los procesos productivos como al tratamiento de efluentes que contienen grasas y aceites, siendo los efectos de la inmovilización enzimática la estabilización del biocatalizador, la reutilización bajo las condiciones del procedimiento y la purificación del producto, que de manera general mejoran la economía de un proceso. El objetivo del presente trabajo fue inmovilizar esterases (EC. 3.1.1.3) producidas por la cepa *P. rubens* LBM81 en nanopartículas magnéticas. La cepa *P. rubens* LBM81, nativa de la provincia de Misiones, fue activada en medio MEA y, luego de un periodo de crecimiento de 7 días, utilizada en la preparación de una suspensión de esporas de concentración igual a $1,2 \times 10^6$ esporas/mL para la inoculación de 6 Erlenmeyer de 100 mL conteniendo cada uno 20 mL de medio de cultivo compuesto por peptona de carne (2% p/v) y aceite de oliva (4% p/v). Los Erlenmeyer inoculados se sometieron a agitación constante durante 6 días, a una temperatura de 30 °C y a una velocidad de 140 rpm, finalizado este período se filtró el contenido para obtener el extracto enzimático y, a partir de este, se efectuó la primera determinación de actividad esterasa. Las nanopartículas de ferrita de cobalto (CoFe_2O_4) se obtuvieron a partir de soluciones en relaciones estequiométricas de sales de hierro y cobalto, las cuales fueron mezcladas y colocadas en un embudo para ser goteadas en una solución de NaOH bajo agitación constante. Para finalizar la síntesis de nanopartículas, se efectuaron tres ciclos de centrifugado, separando y descartando el sobrenadante. Las nanopartículas sintetizadas se dispersaron para su funcionalización con APTES (3-aminopropiltrietoxisilano), luego fueron recogidas mediante un campo magnético externo y se lavaron con agua desionizada y etanol. La inmovilización de esterases se llevó adelante agregando glutaraldehído 25% a las nanopartículas magnéticas funcionalizadas, seguidamente se mantuvo la mezcla durante 2 h bajo agitación constante, se lavaron las nanopartículas y se mezclaron con 2,5 mL de *buffer* fosfato 0,1 M pH 7 y 2,5 mL de extracto enzimático de 962 ± 128 U/mL. La mezcla se mantuvo durante 2 h bajo agitación, se recuperó el precipitado y se lavó con *buffer* fosfato 0,1 M pH 7 varias veces para ser utilizado directamente en las mediciones de

actividad esterasa. La actividad esterasa de las enzimas inmovilizadas en las nanopartículas magnéticas se determinó mediante espectrofotometría a 405 nm utilizando como sustrato el p-nitrofenil palmitato. Los resultados obtenidos nos permitieron observar que las nanopartículas de ferrita de cobalto sintetizadas, y funcionalizadas con APTES, inmovilizaron a las enzimas producidas, obteniéndose 10 ± 3 U/g de actividad esterasa.

PENICILLIUM RUBENS; ESTERASAS; FERRITA DE COBALTO; APTES;
INMOVILIZACIÓN

ELECTRODOS MODIFICADOS CON ÓXIDO DE ALUMINIO ANÓDICO PARA SU APLICACIÓN COMO BIONANOSENSORES

ROMERO RÍOS, Florencia D. ^{a,b}, BRUERA, Florencia A. ^{a,b}, KRAMER, Gustavo R. ^{b,c},
RODRÍGUEZ, María D. ^{a,b}, ARES, Alicia E. ^{b,c}, ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

*c) Universidad Nacional de Misiones – CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Instituto de Materiales de Misiones (IMAM), Programa de Materiales y Fisicoquímica (ProMyF). Misiones, Argentina.
florencia.romero.rios@hotmail.com*

El monitoreo de agroquímicos en aguas superficiales se ha vuelto cada vez más relevante en los últimos años para mitigar el daño ambiental y favorecer la realización de buenas prácticas agrícolas. Los métodos convencionales para la detección y cuantificación de estos compuestos consumen mucho tiempo y son costosos, por lo que resulta necesario generar alternativas de detección rápidas que permitan el monitoreo *in situ* de estos contaminantes. Los biosensores representan una solución viable a esta problemática ambiental, dado que a través de la inmovilización de enzimas es posible desarrollar dispositivos de detección rápidos, de elevada selectividad y sensibilidad. Asimismo, las membranas nanoporosas de óxido de aluminio anódico (OAA) pueden aplicarse como soporte enzimático para la creación de nanobiosensores amperométricos, debido a sus propiedades fácilmente ajustables, gran área superficial y poros estrechamente empaquetados. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo consistió en sintetizar membranas de OAA con diferentes morfologías que actúen como soporte enzimático para funcionalizar electrodos serigrafiados (ES) que puedan aplicarse en el desarrollo de biosensores. Para ello, se sintetizaron mediante oxidación anódica recubrimientos de OAA a partir de la aleación AA1050 durante 2, 3 y 4 h a 30 V, empleando como electrolito ácido oxálico 0,3 M a 40°C. La obtención de membranas de OAA implicó la eliminación del sustrato y la capa barrera de óxido para lograr la apertura completa de los poros. Para ello, se realizó una separación electroquímica de la película aplicando 15 V por encima del voltaje de anodización en solución 70% m/m de HClO₄. Una vez separado el óxido, se realizó la apertura de los poros en solución 5% m/m de H₃PO₄ durante 5 min. El diámetro de poro (dp) de las membranas obtenidas se determinó mediante microscopía electrónica de barrido y el espesor (e) mediante microscopía óptica. A continuación, se funcionalizaron los ES adhiriendo la membrana, con un adhesivo conductor de plata, sobre el electrodo de trabajo. Por último, se caracterizaron electroquímicamente los ES libre (L), con adhesivo (L + A) y con membrana (L + A + OAA) mediante espectroscopía de impedancia en buffer Na₂PO₄ 0,1 M pH 7 y NaCl

0,9 % m/v, utilizando un potenciostato Palm Sense 4 con una amplitud de potencial de 10 mV y con un barrido de frecuencia desde 100.000 Hz a 0,05 Hz. Las membranas de OAA sintetizadas a diferentes tiempos de anodización presentaron zonas de poro abierto y cerrados de igual tamaño ($d_p = 31$ nm), indicando que el método de apertura aplicado no fue lo suficientemente efectivo para abrir completamente los poros en toda la superficie. Por otra parte, se observó un aumento proporcional del espesor con el tiempo de anodización entre 26-55 μm . Los espectros de impedancia obtenidos para los diferentes electrodos ensayados pudieron ajustarse satisfactoriamente con un mismo circuito eléctrico equivalente. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas entre los valores de los parámetros electroquímicos descritos por el circuito eléctrico equivalente, significando esto que cualquier configuración de electrodo es viable para utilizarse en la construcción del biosensor.

BIOSENSORES; MEMBRANAS NANOPOROSAS; ESPECTROSCOPÍA DE IMPEDANCIA ELECTROQUÍMICA



BIOMEDICINA



SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE ROTAVIRUS GRUPO A: ANÁLISIS DE 3 GENES ESTRUCTURALES

AGUILERA, Jonathan N. ^a; SALVATIERRA, Karina A. ^b; MIÑO, Samuel O. ^{a,c}

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.

b) Universidad Nacional de Misiones – CONICET. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Materiales de Misiones (IMAM). Misiones, Argentina.

c) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Cerro Azul. Misiones, Argentina.

shony.aguilera@gmail.com / mino.samuel@inta.gob.ar

Los Rotavirus grupo A (RVA), son los principales agentes etiológicos responsables de gastroenteritis agudas en niños menores de cinco años y, mamíferos y aves juveniles. El virión completo de RVA es una partícula icosaédrica, compuesta de tres capas concéntricas de proteínas que envuelven 11 segmentos de ARN doble cadena (ARNdc) que codifican 6 proteínas estructurales (VP1-VP4, VP6 y VP7) y cinco o seis proteínas no estructurales (NSP1-NSP5/6). VP7 y VP4 forman la capa externa del virión. VP4 forma las espículas capaces de unirse a los receptores celulares para promover la entrada, es sensible a proteasas y determina el genotipo "P". VP7 es una glucoproteína, determina el genotipo "G", y junto con VP4, está implicada en la respuesta inmunitaria al virus. VP6, forma la capa media del virión, es la proteína antigénica. VP6 determina la especie de Rotavirus (A - J) y, dentro de RVA determina el genotipo "I". En 2008 se implementó un sistema de clasificación basado en el genoma completo de RVA. Este sistema asigna un genotipo específico a cada uno de los once segmentos de acuerdo con valores de distancia genética establecidos. Así, el genoma completo de una cepa se describe como: Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx para los genes VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6, respectivamente. Donde la "x" representa el número de genotipo. Desde su implementación, la cantidad de genotipos ha aumentado sustancialmente. Dentro de las proteínas estructurales VP7 paso de G19 a G36, VP4 de P[27] a P[51] y VP6 de I11 a I26.

El objetivo de este trabajo fue analizar la variabilidad genética de las proteínas estructurales VP4, VP6 y VP7 y revisar la asignación de genotipos según los valores de corte establecidos.

Se obtuvieron todas secuencias nucleotídicas con al menos el 95% de los genes de VP6 (n=2463), VP4 (n=2771) y VP7 (n=3172) de RVA presentes en la base de datos Genbank. Matrices de alineamientos múltiples fueron construidas y se realizaron matrices de distancias genéticas para cada gen. Además, se realizaron análisis filogenéticos de Máxima Verosimilitud.

Las distancias genéticas mostraron que la mayoría de las cepas se agrupan correctamente en los genotipos determinados a priori. No obstante, se encontraron cepas en 4 genotipos de VP4, 3 en VP6 y 5 en VP7 que no cumplían con los criterios para ser incluidos en los genotipos en los que se encontraban. El sistema de clasificación es flexible respecto a cómo tratar las secuencias que caen por debajo de los valores de corte, o que se encuentran en una zona de distancia intermedia entre dos genotipos. Nuevos valores de corte o nuevos criterios de agrupamiento (rango de huéspedes, geografía y/o constelaciones genómicas) para la asignación de genotipos podrían solucionar estos conflictos y fortalecer el sistema de clasificación actual. Este trabajo destaca nuestro conocimiento actual sobre la variabilidad genética de las principales proteínas antigénicas de RVA, avala el uso del actual sistema de clasificación y propone sugerencias para fortalecer el mismo. Además, destaca la necesidad de que se mantenga el trabajo continuo del RCWG.

ROTAVIRUS GRUPO A; BIOINFORMÁTICA; TAXONOMÍA

EXPRESIÓN DE LOS GENES *CPEB* DURANTE EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

BENEGAS, Paula A^{a,b}; RIVERO, Donovan^{a,b}; ZAPATA Pedro D^{a,b}, LARRIPA Irene B^c,
FERRI, Cristian^a.

- a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*
 - b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
 - c) *Laboratorio de Genética Hematológica, IMEX, CONICET-Academia Nacional de Medicina.*
- paulabenegas0@gmail.com*

La Leucemia Mieloide Crónica (LMC) es una neoplasia mieloproliferativa caracterizada por el oncogén de fusión *BCR-ABL1*, cuya proteína quimérica resultante posee actividad tirosina quinasa constitutiva. Se han descrito numerosos mecanismos de resistencia a la terapia con inhibidores de tirosina quinasas (ITKs) independientes de *BCR-ABL1*, entre los cuales se han identificado varios genes responsables de conferir resistencia al tratamiento. En la búsqueda de nuevos genes marcadores de resistencia a los ITKs, la familia de genes *CPEB* aparecen como candidatos a ser investigados y aún no han sido explorados en la LMC. Los *CPEB* (del inglés *Cytoplasmic Polyadenylation Element Binding Protein*) son una familia de 4 proteínas (*CPEB1*, 2, 3 y 4) de unión al ARN que actúan regulando la traducción. Reconocen la secuencia consenso de poliadenilación citoplasmática presente en la región 3' no traducida de algunos ARNm y reclutan las maquinarias de represión o de activación de la traducción, regulando de este modo indirectamente la longitud de la cola de poli(A) de sus ARNm *targets*. Al reconocer a una variedad de transcritos y participar en diversos procesos biológicos en el organismo adulto, varios estudios han reportado que los cambios en la expresión de estos genes indican funciones regulatorias diferenciales en el desarrollo de varios tipos de tumores sólidos. En este trabajo se analizó la expresión de la familia de genes *CPEB* (*CPEB1*, *CPEB2*, *CPBE3* y *CPBE4*) en pacientes bajo tratamiento con ITKs durante más de 2 años. Las muestras fueron reclutadas en la Academia Nacional de Medicina y se componen de 31 pacientes con LMC y 20 donantes sanos (IS) como grupo control. En total se analizaron 136 muestras correspondientes a diferentes tiempos de control de seguimiento de la enfermedad. Cada paciente incluido en el estudio presentaba entre 4 a 7 muestras controles, clasificados según su respuesta a la terapia en respondedores óptimos (RO-LMC) n=17 y resistentes (R-LMC) n=14. La cuantificación relativa de los transcritos de *CPEB1*, *CPEB2*, *CPEB3* y *CPEB4* se analizó por PCR en Tiempo Real. El resultado indicó que existen diferencias

estadísticamente significativas en los valores de expresión de los genes CPEB entre los diferentes grupos analizados ($p < 0,0001$). La media de los valores de expresión de los genes CPEB1, CPEB3 y CPEB4 difirió entre los pacientes R-LMC y RO-LMC con respecto a los IS ($p < 0,0001$), sin embargo, frente a los valores de CPEB2, las diferencias se encontraron en el grupo de pacientes R-LMC en comparación con los IS ($p < 0,0141$). Teniendo en cuenta los grupos de pacientes R-LMC vs RO-LMC, solamente se observó diferencias estadísticamente significativas en los valores de expresión de los genes CPEB2 y CPEB3 ($p = 0,0141$ y $p = 0,0190$ respectivamente). Las diferencias en la expresión de los CPEB halladas entre los diferentes grupos, podrían proporcionar información útil en relación en la expresión de estos genes en los pacientes tratados con ITKs. Debido a que es la primera vez que se analizan estos genes en LMC, para poder arribar a resultados más concluyentes, se requiere de un análisis más exhaustivo y una mayor cantidad de pacientes en el estudio.

LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA; RESISTENCIA; EXPRESIÓN GÉNICA

HUÉSPEDES, GENOTIPOS Y CONSTELACIONES DE RVA: DISTRIBUCIÓN EN EL MUNDO ANIMAL

DÍAZ ALARCÓN, Ricardo G. ^a; SALVATIERRA, Karina A. ^{a,b}; LIOTTA, Domingo J. ^{a,c};
MIÑO, Samuel O. ^{a,d}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.

b) Universidad Nacional de Misiones – CONICET. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Materiales de Misiones (IMAM). Misiones, Argentina.

c) Instituto Nacional de Medicina Tropical, ANLIS - "Dr. Carlos Malbrán", Puerto Iguazú, Misiones, Argentina.

d) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Cerro Azul. Misiones, Argentina.

licengenetica@gmail.com / mino.samuel@inta.gob.ar

Los rotavirus grupo A (RVA) constituyen patógenos que infectan principalmente a niños menores de 5 años y neonatos de mamíferos y aves. La infección produce diarrea, que en animales de cría y centros de producción pecuarios causa grandes pérdidas económicas. Los RVA se describen principalmente informando el tipo de las VP7 (G-tipo) y VP4 (P-tipo) de forma similar a la nomenclatura de Influenza. Sin embargo, desde 2008 se utiliza el genoma completo (11 genes) para describir a una cepa RVA. La descripción de todos los genes se denomina Constelación Genómica. Se han descrito brotes de diarrea en zoológicos, en roedores y en animales de compañía y, la descripción de sus constelaciones genómicas mostró que los mismos estaban relacionados con los virus detectados en humanos. Por esta razón esta es una enfermedad zoonótica con potencial impacto en Salud Pública. El enfoque "Una Salud", considera la salud de humanos y animales interdependientes y ligados a la salud del ecosistema en el que coexisten, siendo el 75% de las enfermedades humanas emergentes de origen animal. Por tanto es importante estudiar las enfermedades no solo desde una mirada antropocéntrica sino desde una mirada amplia.

El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión del estado del arte de los huéspedes animales descritos de RVA. Además, comparamos todas las constelaciones genómicas detectadas.

Se realizó una búsqueda amplia en bases de datos de secuencias nucleotídicas y de artículos científicos. El conjunto de información se organizó según método de detección del virus, hospedero, genotipos, constelación completa o combinación de las proteínas VP7-VP4.

En total, RVA fue descrito en 86 especies animales por al menos una técnica (Microscopía electrónica, serología, electroferotipos, genotipificación). El 52% (45/86) de las especies reportadas no cuentan con datos genéticos; los artículos donde se describen esos casos fueron publicados en torno a los `80 y los `90 (1978 - 1996). Por otra parte, el 48% (41/86) si contaban con secuencias génicas de RVA (9.222 secuencias recabadas). De estas 28% fueron porcinas, 27% bovinas, 12% equinas y las restantes de diversos animales. Asimismo, el 78% (32/41) de los huéspedes con secuencias de RVA reportadas contaban con la constelación genómica. Sus proteínas taxonómicas principales (VP7-VP4) presentaron patrones propios de RVA en grupos tales como aves, animales domésticos y artiodáctilos. En murciélagos observamos constelaciones que no se repiten en otros grupos y a su vez presentan variaciones geográficas. El estudio pone de manifiesto la capacidad de RVA de infectar un amplio rango de especies, donde los genotipos (incluso constelaciones enteras) propios de una especie pueden ser descritos en otras, mostrando la capacidad zoonótica de RVA y sugiriendo un potencial de desarrollo de variantes virulentas que podrían ser transmitidas a humanos generando brotes de la enfermedad. En este contexto, la vigilancia desde la perspectiva “Una Salud” tanto en humanos como en animales es relevante para conocer el estatus sanitario de cada región.

ROTAVIRUS; HOSPEDEROS; ZOONOSIS; CONSTELACIONES

EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ARMS-PCR PARA EL ESTUDIO DE VARIANTES GENÉTICAS

ESNARRIAGA, María S. ^a; MASCHERONI, María B. ^b; ZAPATA, Pedro D. ^{a,c}; ACOSTA, Karina B. ^{a,c}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.

b) Centro de Medicina Preventiva (PREDIGMA). Posadas, Misiones, Argentina.

*c) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
sabinaesnarriaga@live.com.ar*

El cáncer de mama (CM) es responsable de aproximadamente el 25% (147/691) del total de defunciones causadas por tumores en mujeres de la provincia de Misiones, constituyendo una importante causa de morbilidad en nuestra región. En los últimos 10 años se ha evidenciado un incremento gradual en la incidencia del CM en mujeres jóvenes. Si bien, la edad temprana de presentación del CM suele estar ligado a mutaciones en genes de alta penetrancia (CM hereditario y/o familiar), muchos estudios han mostrado un alto número de pacientes jóvenes resultan negativas para los paneles genéticos convencionales, sugiriendo que existen otros genes adicionales implicados en el inicio temprano de CM. Sin embargo, en comparación con las pacientes postmenopáusicas, los datos genéticos y genómicos para este grupo de pacientes, son escasos. Por lo que, el estudio de variantes en genes candidatos asociados a la patología, constituyen un importante aporte a la genética epidemiológica local y global.

En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la técnica de ARMS-PCR, para la determinación de las variantes genéticas g.4822A>G y g.4777C>A en los promotores de los genes *BAX* y *BCL2*, respectivamente; en muestras de ADN extraídas de pacientes jóvenes con CM (con edad menor a 50 años).

Para ello, se diseñaron cebadores específicos que permiten discriminar los alelos variantes de los alelos *wild type* mediante la herramienta bioinformática Primer-BLAST. Los cebadores diseñados para el estudio de la variante g.4822A>G (*BAX*) fueron: F- TTAGAGACAAGCCTGGGCGT y R(G)- TGGCGCCGTCCAACAGCGGC; R(A)- TGGCGCCGTCCAACAGCGGT que amplifican un fragmento de 250pb; y para el estudio de la variante g.4777C>A (*BCL2*) fueron: F(C)- CCGGCTCCTTCATCGTGCCC; F(A)- CCGGCTCCTTCATCGTGCCA y R-GGCGGCAGATGAATTACAA que amplifican un fragmento de 180pb.

Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 20 µl, conteniendo 1µl de ADN muestra, Buffer 1X, MgCl₂ 1,5mM, dNTPs 100µM, cebadores alelo específicos 5pmoles y Taq polimerasa 0,5U. El ciclado aplicado constó de una etapa inicial de 3min a 94°C, seguidos de 30 ciclos de desnaturalización a 94°C, se probaron diferentes temperaturas de hibridación entre 60 - 65°C y una etapa de

extensión a 72°C, cada etapa con una duración de 40 segundos, concluyendo el ciclo con una extensión final a 72°C por 5 minutos. Para la estandarización de la técnica se utilizaron controles positivos, muestras de ADN previamente genotipificadas por secuenciación. Los resultados de amplificación fueron verificados en electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con GelRed™, a 120V por 30 minutos con buffer TBE 0,5X.

La técnica de ARMS-PCR resultó ser eficiente para discriminación alélica de las variantes g.4822A>G y g.4777C>A en los promotores de los genes *BAX* y *BCL2*, respectivamente; permitiendo la identificación de los tres genotipos posibles para ambos genes.

Se concluye que la implementación de esta técnica es adecuada para el estudio de variantes genéticas en *BAX* y *BCL2*. Con los resultados presentados en este trabajo, se procederá a la genotipificación de muestras clínicas correspondiente a mujeres jóvenes diagnosticadas con CM. Los datos genéticos obtenidos permitirán una mejor comprensión de los procesos moleculares implicados en la carcinogénesis temprana.

CÁNCER; VARIANTES GENÉTICAS; ARMS-PCR

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD NUCLEOTÍDICA DE PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES DE ROTAVIRUS A

GOMEZ QUINTERO, Emiliano L.^a; SALVATIERRA, Karina A.^{a,b}; MIÑO, Samuel O.^{a,c}

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.*

b) *Universidad Nacional de Misiones – CONICET. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Materiales de Misiones (IMAM). Misiones, Argentina.*

c) *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Cerro Azul. Misiones, Argentina.*

elgq_11@hotmail.com.ar / mino.samuel@inta.gob.ar

Los Rotavirus grupo A (RVA) son los principales agentes etiológicos responsables de gastroenteritis agudas en niños menores de cinco años a nivel global. También afectan a una amplia variedad de animales en etapas juveniles, incluidos mamíferos y aves. El virión de RVA es una partícula icosaédrica, compuesta de tres capas concéntricas de proteínas que envuelven 11 segmentos de ARN de doble cadena (ARNds). Cada segmento codifica una proteína, de las cuales seis estructurales (VP1-VP4, VP6 y VP7) y cinco o seis no estructurales (NSP1-NSP5/6). En 2008 se implementó un sistema de clasificación basado en el genoma completo de RVA. Este sistema asigna un genotipo específico para cada uno de los once segmentos de una cepa particular de acuerdo con valores de corte establecidos. Utilizando este enfoque, el genoma completo de una cepa RVA se describe como: Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx para los genes VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6, respectivamente. Desde la implementación de este sistema, el número de genotipos ha aumentado sustancialmente siendo para las NSP: NSP1 (A14-A31), NSP2 (N5-N22), NSP3 (T7-T22), NSP4 (E11-E27) y NSP5/6 (H6-H22). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar la variabilidad genética de cada uno de los genes no estructurales (NSP1-NSP5) y corroborar si los valores de distancia genética que definen la pertenencia a un genotipo dado siguen siendo válidos. Se obtuvieron todas las secuencias nucleotídicas con al menos el 95% de los genes NSP de la base de datos Genbank. Se construyeron matrices de alineamientos múltiples y se calcularon matrices de distancias genéticas para cada gen y así evaluar si los genotipos estaban correctamente asignados considerando los valores de corte actuales. Además, se construyeron árboles filogenéticos de máxima verosimilitud para determinar si los genotipos reportados forman grupos monofiléticos. Se observó que en el 23% (7/31), 23% (5/22), 37% (8/22), 26% (7/27) y 23% (5/22) de los genotipos para NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 y NSP5, respectivamente, poseían cepas que según los valores de corte no se ajustan al genotipo determinado (conflictos).

Para los genes NSP1 y NSP5, al incluir la filogenia se contribuye a resolver la clasificación de las cepas con conflictos. Para NSP2, NSP3 y NSP5 una optimización de los valores de corte de 85 a 82%, y de 91 a 87%, mejora significativamente la clasificación de cepas con conflictos.

Este trabajo destaca que el conocimiento actual de la variabilidad nucleotídica de las proteínas no estructurales de RVA, así como la inclusión de análisis filogenéticos, permitiría realizar análisis dinámico de los genotipos reportados. Además, resalta la necesidad de mantener el trabajo continuo del RCWG y la importancia de interactuar con él.

ROTAVIRUS GRUPO A; BIOINFORMÁTICA; TAXONOMÍA

LA EOSINOFILIA-DUODENAL SE ASOCIA CON CAGA EN LA DISPEPSIA POR *HELICOBACTER PYLORI*

SANCHEZ, Nicolas ^a; CARONIA, Virginia ^d; ELIZONDO, Karina ^d; JORDA, Graciela ^c;
SCHNEIDER, Adolfo ^d; ZAPATA Pedro D. ^{a,b}; BARREYRO, Fernando J. ^{a,b}

- a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.*
- b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
- c) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Departamento de Microbiología. Misiones, Argentina.*
- d) *Fundación HA Barceló, Instituto Universitario en Ciencias de la Salud. Santo Tomé, Corrientes, Argentina.*

La dispepsia funcional (DF) es un trastorno que afecta alrededor del 10% de la población, siendo de patogenia no aclarada en su totalidad. La dispepsia asociada a la infección por *Helicobacter pylori* (HpD) y la eosinofilia duodenal son posibles mecanismos patogénicos en la DF. Sin embargo, no se ha explorado el impacto de la eosinofilia duodenal y los genes de virulencia de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) en este grupo de pacientes.

Objetivo: Evaluar la asociación de genes de virulencia de *H. pylori* y eosinofilia duodenal de bajo grado en HpD.

Métodos: Se realizó un estudio transversal multicéntrico. Se seleccionaron un total de 301 pacientes que cumplían los criterios de ROMA-III antes de la endoscopia digestiva alta y se incluyeron 95 pacientes después de la endoscopia alta normal y se evaluó *H. pylori* positivo en biopsias gástricas. Se determinaron parámetros clínicos, genes de virulencia de *H. pylori* (*cagA*, *oipA* y *vacA*) e histología duodenal. Los datos se analizaron utilizando el software Med-Calc y SPSS 20.0. La comparación entre los diferentes grupos se realizó utilizando chi cuadrado para las variables cualitativas y el test de Student o Wilcoxon para variables cuantitativas, de acuerdo a si la distribución fuese normal o no respectivamente. El análisis de regresión logística se utilizó para determinar la correlación entre diferentes parámetros. El valor p de <0.05 se consideró significativo.

Resultados: Los síndromes de DF fueron 69 (72%) pacientes con síndrome de dolor epigástrico (EPS), 17 (18%) síndrome de distrés posprandial (PDS) y 9 (10%) superposición de EPS/PDS. Los síndromes de FD no se asociaron con las cepas *cagA* u *oipA*. Se observó una tendencia significativa de cepas positivas *vacA* s1/m1 (78%) y s1/m2 (80%) en EPS. La clasificación duodenal histológica de inflamación crónica, eosinofilia duodenal de bajo grado y linfocitos intraepiteliales no mostró diferencias en las cepas *oipA* y *vacA*. La eosinofilia duodenal de bajo grado fue significativa en la cepa positiva *cagA*, el OR para la eosinofilia duodenal de bajo grado con la cepa positiva para *H. pylori cagA* fue de 4,2 (IC del 95 %, 1,77-9,93).

Ajustando por edad, sexo, tabaquismo, IBP y *vacA s1/m1*, el OR fue de 4,7 (IC 95%, 1,66-13,3).

Conclusión: Nuestros hallazgos sugieren que la eosinofilia duodenal de bajo grado está significativamente asociada con la cepa *cagA* en la dispepsia asociada a la infección por *H. pylori*.

DISPEPSIA FUNCIONAL; HELICOBACTER PYLORI; EOSINOFILIA DUODENAL

INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI* E HÍGADO-GRASO EN EL NORDESTE ARGENTINO: ESTUDIO MULTICÉNTRICO

SANCHEZ, Nicolas ^a; MAIORANA, Facundo ^a; CARONIA, Virginia ^d; ELIZONDO, Karina^d; JORDA, Graciela ^c; SCHNEIDER, Adolfo ^d; ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}; BARREYRO, Fernando J. ^{a,b}

- a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*
- b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
- c) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Departamento de Microbiología. Misiones, Argentina.*
- d) *Fundación HA Barceló, Instituto Universitario en Ciencias de la Salud. Santo Tomé, Corrientes, Argentina*

Estudios recientes han sugerido una asociación entre la infección por *Helicobacter pylori* (Hpyl) y la enfermedad del hígado graso no alcohólico o metabólico (MAFLD). Sin embargo, el mecanismo fisiopatológico no está claro. El objetivo del presente estudio fue examinar la asociación de genes de virulencia del *H. pylori* y MAFLD en pacientes que consultan por dispepsia.

Métodos: se trata de un estudio multicéntrico prospectivo entre 2019 a 2020 en el noreste argentino. Se evaluaron 305 pacientes dispépticos que cumplían criterios ROMA-III y se les realizó gastroscopia diagnóstica. La positividad de *H. pylori* (Hpyl-pos) se definió como a la biopsia gástrica con tinción de Giemsa positiva. Se registraron parámetros bioquímicos (AST, ALT, FAL, gGT, plaquetas, anti-HCV; HBsAg, Anti-HBcore, Anti-HIV), clínicos (IMC, tabaquismo, consumo de alcohol, diabetes, hipertensión), endoscópicos e histológicos. La MAFLD se definió mediante la detección ultrasonográfica de esteatosis hepática. Se utilizó la puntuación FIB-4 para determinar la fibrosis no invasiva. El ADN se extrajo de las biopsias gástricas Hpyl-pos y se analizó para *cag-A*, *cag-E*, *vacA s1/s2*, *vacA m1/m2* y *oip-A*. Los datos se analizaron utilizando el software Med-Calc y SPSS 20.0. La comparación entre los diferentes grupos se realizó utilizando chi cuadrado para las variables cualitativas y el test de Student o Wilcoxon para variables cuantitativas, de acuerdo a si la distribución fuese normal o no respectivamente. El valor p de <0.05 se consideró significativo.

Resultados: La prevalencia de MAFLD fue 39% (120/305), con Hpyl-pos 43% (56/131) y Hpyl-neg 37% (64/174) (p: ns), no se observaron asociaciones entre *H. pylori* genes de virulencia y MAFLD. Cuando se analizaron sujetos con MAFLD, el estado de Hpyl-pos se asoció significativamente con elevación de AST (Hpyl-pos: 35±14 UI/mL vs Hpyl-neg: 22±12 UI/mL, p: 0,0008), ALT (Hpyl-pos: 38±18 UI/mL vs Hpyl-neg: 30±17 UI/mL, p: 0,018) y FIB-4 (Hpyl-pos: 1,44±0,6 vs Hpyl neg: 1,16±0,7, p:

0,02). De hecho, la infección por Hpyl-pos se asoció con el cut-off de fibrosis significativa FIB-4 >1,3 (Hpyl-pos: 46 % n: 30/56 frente a Hpyl-neg: 29 % n: 19/64, p: 0,0095), no observando diferencias al analizar el cut-off de fibrosis avanzada FIB-4 >2,67. En el análisis de los genes de virulencia, la presencia de *cag-A*, *cag-E* y *vacA-m1* se asoció con mayor AST (*cag-A* pos 36±12 UI/mL, p:0,002; *cag-E* pos: 35±12 UI/mL, p: 0,0049; *vacA-m1*: 39±14 UI/mL, p: 0,0003). También se observaron valores más altos de FIB-4 en *cag-A* positivo (1,49±0,5, p: 0,04) con mayor proporción de pacientes con FIB-4 >1,3 en *cag-A* pos: 55% (p: 0,04).

Conclusiones: Mientras que no se observaron asociaciones entre Hpyl o genes de virulencia con la prevalencia de MAFLD por ultrasonido. La infección por Hpyl se asoció con marcadores de daño hepático (AST y ALT) y fibrosis (FIB-4). Las cepas positivas para *cag-A* se asociaron con valores más altos de AST y FIB-4 con mayor proporción de pacientes con FIB-4 >1,3.

HELICOBACTER PYLORI; HÍGADO GRASO; SÍNDROME METABÓLICO

INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI* EN EL NORDESTE ARGENTINO: ESTUDIO MULTICÉNTRICO

SANCHEZ, Nicolas ^a; CARONIA, Virginia ^d; ELIZONDO, Karina ^d; JORDA, Graciela ^c;
SCHNEIDER, Adolfo ^d; ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}; BARREYRO, Fernando J. ^{a,b}

- a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*
- b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*
- c) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Departamento de Microbiología. Misiones, Argentina.*
- d) *Fundación HA Barceló, Instituto Universitario en Ciencias de la Salud. Santo Tomé, Corrientes, Argentina*

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es la principal causa de infección bacteriana crónica en el mundo, originando gastritis crónica teniendo un papel etiológico en las enfermedades gastroduodenales como la enfermedad de úlcero-péptica, la dispepsia funcional, el adenocarcinoma y el linfoma gástrico. No obstante, su prevalencia varía entre países y regiones. Sin embargo, su prevalencia en el nordeste argentino no ha sido estudiada.

Objetivo: Determinar la prevalencia y factores de riesgo de *H. pylori* en sujetos que consultan por dispepsia en el NEA.

Métodos: Se realizó un estudio transversal multicéntrico entre 2015-2019. Se incluyeron 631 pacientes que cumplían los criterios de ROMA-III y se realizaron endoscopia digestiva alta para estudio de dispepsia. La positividad de *H. pylori* (Hp-pos) se definió como a la biopsia gástrica con tinción de Giemsa positiva. Se registraron parámetros epidemiológicos, clínicos, endoscópicos e histológicos. Se determinaron los genes de virulencia de *H. pylori* (*cagA*, *cagE*, *oipA* y *vacA*). Los datos se analizaron utilizando el software Med-Calcul y Jamovi. La comparación entre los diferentes grupos se realizó utilizando chi cuadrado para las variables cualitativas y el test de Student o Wilcoxon para variables cuantitativas, de acuerdo a si la distribución fuese normal o no respectivamente. El análisis de regresión logística se utilizó para determinar la correlación entre diferentes parámetros. El valor p de <0.05 se consideró significativo.

Resultados: La prevalencia de *H. pylori* en la región fue de 56,2% (356/633). La infección *H. pylori* fue significativamente asociada al género masculino (Hp pos: 48,6% vs Hp neg: 34,6%, $p < 0.001$), consumo de agua no-potabilizada (Hp pos: 18,5% vs Hp neg: 6,8%, $p < 0.001$), nivel educativo (primario/secundario incompleto, Hp pos: 14,6% vs Hp neg: 3,6%, $p < 0.001$) y hábito tabáquico (Hp pos: 31,2% vs Hp neg: 22,9%, $p = 0.021$). No se observaron diferencias significativas en la edad, IMC, ingesta previa de analgésicos, antiácidos (inhibidores del receptor Histamina-2 o de la bomba de protones), antecedentes quirúrgicos y de uso de bebidas alcohólicas. El

síndrome de dispepsia asociado a *H. pylori* fue el dolor epigástrico (EPS, Hp pos: 58,4% vs Hp neg: 29,2%, $p < 0.001$). La presencia de úlcera péptica estuvo asociada a *H. pylori* (Hp pos: 15,4% vs Hp neg: 4,3%, $p < 0.001$). Se observaron 3 casos de cáncer gástrico en el grupo *H. pylori* positivo, pero ninguno en *H. pylori* negativo. En el análisis multivariado se observó que el género masculino (OR 1,71 IC95% 1,18-2,47), agua no-potabilizada (OR 1,85 IC95% 1,014-3,37), dolor epigástrico (OR 3,26 IC95% 2,29-4,64) y úlcera péptica (OR 3,1 IC95% 1,55-6,19) fueron significativamente asociados a infección por *H. pylori*. Se determinaron los genes de virulencia en 72 sujetos *H. pylori* positivos, se observó *cagA*: 69%, *cagE*: 61%, *oipA*: 90%, *vacA* s1/s2: 93%/7%, *vacA* m1/m2: 56%/44%.

Conclusión: En la población en estudio, se observó una prevalencia elevada de *H. pylori*. Encontrándose significativamente asociada al género masculino, agua no-potabilizada, dolor epigástrico y úlcera péptica. Estos datos brindan información epidemiológica sobre la infección por *H. pylori* en nuestro medio.

HELICOBACTER PYLORI; EPIDEMIOLOGÍA; DISPEPSIA

EXPRESIÓN DEL GEN *PTEN* EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II Y CÁNCER

RIVERO, Donovan A. ^{a,b}; BENEGAS, Paula ^{a,b}; TOMSICH, Jacqueline L. ^a, FORMICHELA, María M. ^{a,c}, MASCHERONI, Betania ^c; MENDEZ, Elizabet ^c; ZAPATA, Pedro D. ^{a,b}; FERRI, Cristian A. ^a

a) *Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biotecnología Molecular.*

b) *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).*

c) *Centro de Medicina Preventiva (PREDIGMA). Posadas, Misiones, Argentina.*
donovanrivero@gmail.com

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es un trastorno metabólico caracterizado por una función alterada de las células β pancreáticas y de la acción de la insulina, relacionado a factores genéticos y ambientales. Se ha demostrado asociación entre DMT2 y el desarrollo de diversas neoplasias; establecer los mecanismos responsables podría contribuir a una mejor comprensión de la evolución de este trastorno crónico y el tratamiento de sus complicaciones. Las tecnologías ómicas, se han convertido en herramientas prometedoras en este campo y en particular la transcriptómica, para identificar redes moleculares alteradas en DMT2. El gen supresor de tumores *PTEN* (*Phosphatase and tensin homolog*) se ha asociado al desarrollo de numerosos tipos de neoplasias debido a mecanismos que conducen a la pérdida de la función normal o una menor expresión génica. Las causas de subexpresión de *PTEN* incluyen mutaciones, epi-silenciamiento génico y pérdida de la heterocigosidad en el locus de *PTEN*. El gen *PTEN* podría tener un rol importante en el desarrollo de cáncer en pacientes diagnosticados con DMT2 al estar implicado en la vía de señalización de PI3K, la cual interviene en el mecanismo de acción de la insulina. Esclarecer la participación de *PTEN* en esta vía que relaciona la acción antitumoral con vías metabólicas dependientes de insulina, podría ser crucial para el desarrollo de terapias antitumorales en DMT2 o para revertir su acción. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue establecer el nivel de expresión de *PTEN* entre pacientes con diabetes y en pacientes con diabetes y cáncer. La expresión génica se determinó mediante la cuantificación relativa de los transcritos de *PTEN* por medio de PCR en tiempo real, a partir de ARN extraído de sangre periférica con EDTA. Los participantes del estudio fueron clasificados en tres grupos; individuos controles (IC), pacientes con diabetes (DBT) y pacientes con diabetes y cáncer (DBC). Los valores fueron analizados con el programa estadístico GraphPad. El análisis estadístico ANOVA demostró la existencia de diferencia estadística significativa entre los grupos analizados ($p=0,0145$). Mediante el test-T se observó una diferencia estadística al comparar el grupo de IC con el grupo DBT ($p=0,0339$), en el cual el 45% de DBT presentaron una mayor expresión de *PTEN*. Se ha asociado una menor

expresión de *PTEN* en individuos con neoplasias, sin embargo, nuestros hallazgos demuestran valores de *PTEN* sobreexpresados en población con diabetes, estos resultados preliminares demuestran la acción antitumoral de *PTEN* en esta patología metabólica, aunque las causas que conducen a una subexpresión y el posterior desarrollo de cáncer siguen siendo objeto de nuestra investigación.

PTEN; DIABETES MELLITUS TIPO II; EXPRESIÓN GÉNICA; CÁNCER

LA UTILIDAD DE LA DATACIÓN MOLECULAR EN DIFERENTES MODELOS BIOLÓGICOS

TOTARO, María E. ^{a,b}; VERA CANDIA, Gabriel A. ^a; CAVIGLIA, Eloisa ^a; PERESON, Matias J. ^{c,d}; DI LELLO, Federico A. ^{c,d}; CULASSO, Carlos A.C. ^{c,d}; RAVARINO, Paula N. ^{a,b}; FRUTOS BOTTEGA, Dayana ^a; CUTÓ, Fernando S. ^{a,b}; LIOTTA, Domingo J. ^{a,e}; BADANO, Ines ^{a,b,d}.

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones. Laboratorio de Biología Molecular Aplicada.

b) Laboratorio de Antropología Biológica y Bioinformática Aplicada. Red de Laboratorios. UNaM.

c) Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM) Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

d) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

e) Instituto Nacional de Medicina Tropical (INMeT) ANLIS "Dr. Carlos Malbrán". inesbadano@gmail.com

Los análisis filogenéticos de coalescencia permiten estimar la cantidad de tiempo transcurrido entre la introducción de una mutación y la resultante de un alelo o variante particular en una población. En este trabajo se analiza su aplicación en evolución humana y viral.

Estimar la edad del ancestro común más reciente (ACMR) de 3 sets de datos de secuencias: ADN mitocondrial (ADNmt), Virus Papiloma Humano tipo 16 (HPV16) y Coronavirus (SARS-Cov-2) y contextualizar los resultados obtenidos con la historia particular de cada modelo biológico.

Las secuencias fueron obtenidas por el grupo y/o de bases de datos libres online: (i) HPV16: Tres genomas completos (8000pb) de la Provincia de Misiones (Caviglia et al., 2020) y 215 secuencias de referencia publicadas en Genbank (Chen et al., 2019); (ii) ADN mitocondrial: 92 secuencias de ADN antiguo disponibles en GenBank (Llamas et al., 2016); (iii) SARS-Cov2: catorce secuencias del gen Spike (3822pb) de Misiones y 516 secuencias de provincias y países limítrofes con cocirculación temporal, seleccionadas por score de BLAST, todas obtenidas de GISAID (disponibles en <https://www.gisaid.org/> y atribuibles a: Eberhardt et al., 2020) y consorcio PAIS INEI Malbrán (Baumeister et al., 2020). Procesamiento: Las secuencias fueron alineadas empleando CodonCode Aligner. Las relaciones filogenéticas y el análisis de coalescencia fueron realizados en BEAST 1.5.4 y los parámetros ajustados según el siguiente criterio: i) modelos de dinámica de población: constante, ii) modelo de sustitución: determinado a partir del criterio de información de Akaike, iii) reloj molecular: estricto, iv) tasa de mutación: 1.7E-8 sustituciones por sitio por año (s/s/y) (ADNmt), 1.0E-7 s/s/y (HPV16) y 1.08E-3

s/s/y (Sars-Cov-2). Para cada set de datos se corrieron 10 millones de cadenas muestreadas de a 1000. La convergencia fue evaluada en el programa Tracer 1.4 y los árboles se procesaron en TreeAnnotator; el árbol consenso MCCT (Maximum consensus credibility Tree) obtenido fue visualizado y editado en el programa FigTree v1.4.4.

Se describe la clasificación filogenética y la datación obtenida para cada modelo biológico: (i) HPV16: las muestras de Misiones pertenecían al Sublinaje Amerindio D3 y presentaron ancestros de entre 4.042 y 2.036 años, lo cual coincide con la migración y ocupación del territorio por parte de pueblos Guaraníes del Amazonas (5000 a 1900 años); (ii) ADNmt: se identificaron 4 Haplogrupos Pan-amerindios (A2, B2, C1 y D4) y presentaron ACMR entre 19.000 y 17.295 años, en concordancia con el marco temporal propuesto para el poblamiento Americano. (ii) Coronavirus: se identificaron 3 variantes y 7 linajes: Alpha (B.1.1.7; B.1.1.519), Lambda (C37), Gamma (P.1 y P.1.2), N5 y P.7; la edad del ACMR para la raíz del árbol fue de 5 años IC95% (1.8 – 10.4), con un límite inferior similar a la fecha de circulación de Sars-Cov-2 para la región (28/03/2020).

Todos los modelos analizados coincidieron con el marco temporal del contexto histórico-epidemiológico probable para su emergencia, confirmando su utilidad como herramienta de análisis.

FILOGENIA MOLECULAR; DATACIÓN MOLECULAR; CORONAVIRUS;
PAPILOMAVIRUS; ADN MITOCONDRIAL

