32° Congreso Chileno de MICROBIOLOGIA

Programa y Libro de Resúmenes

30 de Noviembre al
3 de Diciembre
Antofagasta, Chile

COMITE ORGANIZADOR

Cecilia Demergasso
Presidente

Rubén Avendaño
Martha Hengst
Patricia Pozo
Francisco Remosellez
Mariella Rivas
Juan Silva Avalos

COMITÉ CIENTIFICO

Coordinadores
Cecilia Demergasso
Martha Hengst
Franscisco Remonsellez

Edición: Patricia Pozo

Colaboradores

Rubén Araya
Rubén Avendaño
Viviana Cachicas
Gino Corsini
Francisco Chávez
Cecilia Demergasso
Lorena Escudero
Mario Esparza
Guillermo Figueroa
Pedro Galleguillos
Nicolás Guiliani
Martha Hengst
Claudia Infante
Juan Carlos Leiva
Gloria Levicán
Vivian Luchsinger
Ana Mercado
Omar Orellana
Patricia Pozo
Raquel Quatrini
Francisco Remonsellez
Mariella Rivas
Juan Silva
Mónica Vásquez

Agradecimientos

La realización de este XXXII Congreso Chileno de Microbiología, incluyendo este Libro de Resúmenes, ha sido posible gracias al aporte de un número significativo de personas, empresas e instituciones.

Deseamos agradecer a las empresas patrocinadoras y auspiciadoras que han hecho importantes aportes económicos a nuestro evento. De manera principal a Barrick Zaldívar, Minera Doña Inés de Collahuasi, Minera Escondida Ltda. y Sociedad Chilena de Litio (Chemetall). En este mismo contexto, nuestro reconocimiento para Biosigma, la Organización Europea para la Investigación Astronómica en el Hemisferio Austral (ESO), La American Society for Microbiology (ASM), el Laboratorio LINSAN y el Departamento de Química y Farmacia de la Universidad Católica del Norte.

Las Universidades Católica del Norte y Universidad de Antofagasta, auspiciadoras y patrocinadoras de este evento, nos han apoyado en forma sostenida en la preparación de este Congreso. De igual manera, hemos contado con el apoyo irrestricto de la Sociedad Chilena de Microbiología cuya organización y las personas de su directorio, han mostrado siempre la mejor disposición para obtener la mejor concreción de este evento.

A CONICYT por el soporte de las becas para estudiantes de doctorado, que esperamos recibir. Es necesario decir, sin embargo, que el desfase entre el soporte recibido y las necesidades de los alumnos y de esta organización, han significado un desgaste extra que podría haberse evitado.

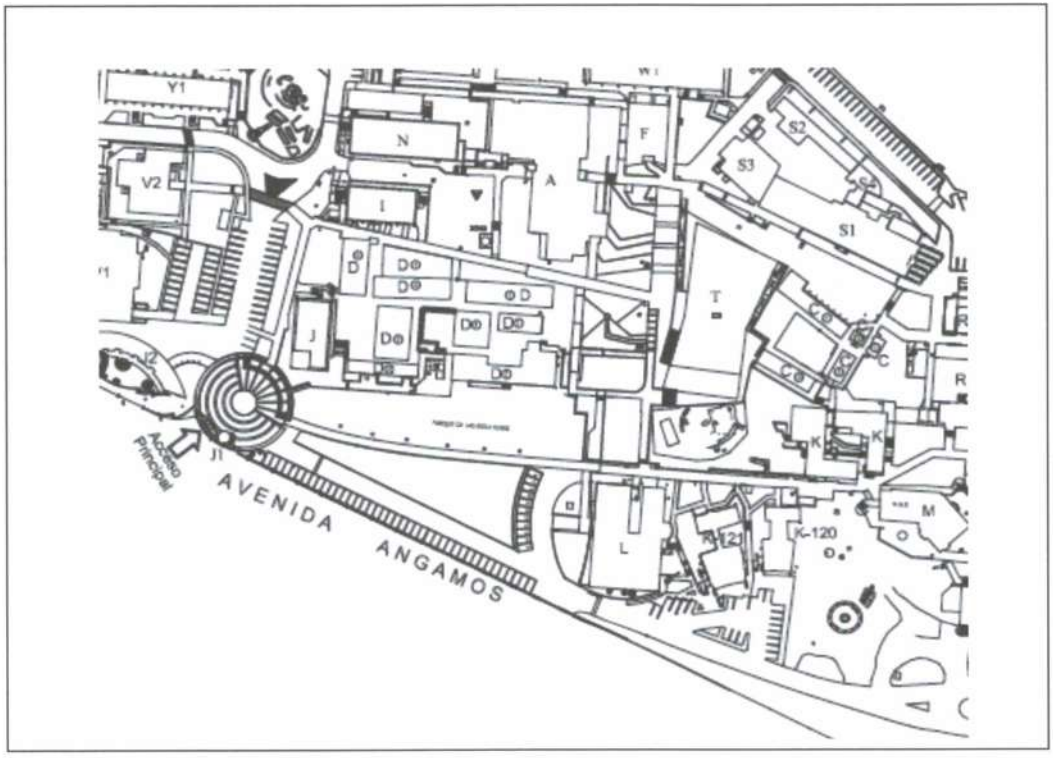
Un especial y cálido agradecimiento a los integrantes del Comité Organizador, cuyo esfuerzo fue más allá que una simple dedicación profesional, y a los colegas que integraron el Comité Científico.

Agradecemos al Ing. Gerhard Hûdepohl de ESO a quien pertenecen las imágenes que hemos usado en los afiches y en este libro.

Obviamente a los autores, invitados y participantes de nuestro Congreso, quienes juegan un rol principal en los logros que podamos obtener. A ellos también les pedimos disculpas por los problemas, malos entendidos u otras dificultades que hayan encontrado en nuestra organización.

Deseamos, para todos ustedes, que este espacio, que hemos colaborado a hacer posible, sea una valiosa instancia de difusión y discusión de los resultados de sus esfuerzos en investigación, desarrollo e innovación desde la disciplina de la Microbiología. Por otra parte, esperamos que estos resultados signifiquen respuestas o, al menos, nuevos puntos de vista desde donde abordar problemas y desafíos a nivel regional y nacional.

XXXII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA



INDICE

PROGRAMA 8
CONFERENCIA INAUGURAL 16
SIMPOSIOS 17
SIMPOSIO 1 18
SIMPOSIO 2 23
SIMPOSIO 3 26
SIMPOSIO 4 29
SIMPOSIO 5 33
SIMPOSIO 6 35
TRABAJOS DE INCORPORACION 39
TRABAJOS DE INCORPORACION 1 40
TRABAJOS DE INCORPORACION 2 44
COMUNICACIONES LIBRES ORALES I 47
COMUNICACIONES LIBRES ORALES II 52
COMUNICACIONES LIBRES PANELES I 57
COMUNICACIONES LIBRES PANELES II 112
INDICE DE AUTORES SEGÚN PRESENTACIÓN 167

PROGRAMA
XXXII CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA
ANTOFAGASTA 30 NOVIEMBRE AL 03 DICIEMBRE

MARTES 30 NOVIEMBRE

08:00-18:00	Visita a minera Escondida (40 personas). Salida buses desde frontis UCN: (incluye traslado y almuerzo).
08:00-18:00	Visita a Observatorio Paranal (40 personas). Salida Bus desde frontis UCN Incluye traslado.
Permanente	City tour en bus de la municipalidad. Consultar a Comité organizador.
19:30-20:00	Recepción y cóctel de bienvenida. Terrazas Museo del Desierto. Ruinas de Huanchaca.

MIÉRCOLES 01 DICIEMBRE

08:30-11:00	Inscripciones. Universidad Católica del Norte. Salón Andrés Sabella
09:00-09:30	Charla Inaugural: "**Contamination of produce with enteric pathogens: an emerging threat to food safety and trade"** (La contaminación de frutas y verduras frescas con patógenos entéricos: una amenaza emergente para la seguridad alimentaria y el comercio).Dra. María Brandl, Produce Safety and Microbiology Research Unit, Western Regional Research Center, Agricultural Research Service US, Department of Agriculture, Albany, CA. Salón Andrés Sabella
09:30-10:00	**Café: Presentación Auspiciadores/Proveedores. Carpa Exterior**
10:00 -13:00	**SIMPOSIO 1: Antofagasta Capital de la minería y puerta de entrada de microorganismos patógenos emergentes. Coordinador Dr. Juan Silva Avalos.** Sala K120
10:00-10:30	*Salmonella enteritidis* un agente epidémico y endémico de gastroenteritis en Chile. Dr. Juan Silva Avalos, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

10:30-11:00	Diversidad Genética y Evolución en Patógenos Gram-Positivos. Dra Rosa del Campo, Hospital Universitario Ramón y Cajal, España.
11:30-12:00	Los avatares de *Vibrio parahaemolyticus* en Antofagasta y Puerto Montt. Dr. Romilio Espejo, INTA, Universidad de Chile.
12:00-12:30	*Escherichia coli* enterotoxigénica, un invitado inesperado en Antofagasta post terremoto. Dr. Roberto Vidal, ICMB, Universidad de Chile.
12:30-13:00	Resistencia a antibacterianos: ¿del mar al hospital? Dr Felipe Cabello, Departamento de Microbiología e Inmunología, New York Medical College, USA.

10:00 -12:30.	**SIMPOSIO 2: Microbiología Oral y su implicancia con enfermedades sistémicas. Coordinadora MSc. Patricia Pozo.** Sala K 121
10:00-10:30	Microbiota Bucal: Comunidades microbianas principales odontopatógenos y sus características microbiológicas. Dra. Nora Silva S, Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.
10:30-11:00	Odontopatógenos y patologías asociadas: Caries, enfermedad periodontal, asociación con condiciones sistémicas. Dr. Rolando Vernal. Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile.
11.00-11:30	Respuesta inmune de la cavidad bucal a caries y enfermedad periodontal. Dr. Fermín González B. Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

12:00-13:00: Instalación Paneles I. Salón Andrés Sabella
13:00-15:00: Almuerzo. Hotel Enjoy, Salón de Buffet

15:00-17:00	**SIMPOSIO 3: Mar y Desierto: Un desafío para la Ecología Microbiana. Coordinadora Dra Martha Hengst.** Salón K 120
15:00-15:30	Genomas de comunidades microbianas en acción: Metatranscriptómica en aguas marinas deficientes en oxígeno. Dr Osvaldo Ulloa, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Departamento de Oceanografía & FONDAP-COPAS, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
15:30-16:00	The Biogeography of Microorganisms. Dr Brendan Bohannan, Center for Ecology and Evolutionary Biology, University of Oregon, USA.
16:00-16:30	Diversidad microbiana de humedales altoandinos: una aproximación funcional. Dra Cristina Dorador, Facultad de Recursos del Mar & CBIA, Universidad de Antofagasta, Antofagasta Chile.
16:30-17:00	Ecology and Evolution of Bacterial Populations in the Ocean. Dr Martin Polz,

	Massachusetts Institute of Technology, Department of Civil and Environmental Engineering & Division of Biological Engineering, USA.

15:00-16:30	**SIMPOSIO 4: Microorganismos extremos y ambientes continentales naturales e industriales. Coordinadora Dra Cecilia Demergasso.** Salón K121
15:00-15:30	Dynamics of Central Andes Declining Lake Habitats in a Changing Climate. Dra. Nathalie Cabrol. NASA Ames Research Center/SETI Carl Sagan Center.
15:30-16:00	Acidophilic microorganisms: Strategies for surviving metals and salt. Dr Mark Dopson, School of Life Sciences, Linnaeus University, Kalmar, Sweden.
16:00-16:30	Transcriptómica ambiental en bacterias acidófilas. Dr Victor Parro, Departamento de Evolución Molecular, Centro de Astrobiología (CSIC-INTA), Madrid, España.
16:30-17:00	Challenges for Life at pH1: Terrestrial Evolution and Extra-terrestrial Life Signatures. Dr David Holmes, Universidad Andrés Bello & Fundación Ciencias para la Vida, Santiago, Chile.

17:00-17:30 Café, Carpa exterior

17:30-19:00	**Comunicaciones libres. Paneles I.** Ecología Microbiana, Microbiología de Alimentos, Microbiología oral, Patógenos y virología, Genómica y Bioinformática. Coordinadora MSc Patricia Pozo. Salón Andrés Sabella
19:30-21:00	Visita Museo del Desierto. Frente Hotel Enjoy.

JUEVES 02 DICIEMBRE

08:00-08:30	Cargar presentaciones Trabajos de Incorporación
	Instalación Paneles II. Coordinador Dr Rubén Avendaño. Salón Andrés Sabella
09:00-10:40	**Trabajos de Incorporación I.** Salón K 120. Coordinador: Dra Mónica Vásquez
09:00-09:20	La interacción inicial de *Salmonella* Typhi y Typhimurium con células epiteliales requiere residuos diferentes en el core externo del LPS. **Denisse Bravo.**
09:20-09:40	Sistemas de Secreción de Proteínas del Tipo VI: Genómica comparativa, aspectos evolutivos y papel en la patogenicidad de *Salmonella*. **Carlos Blondel.**
09:40-10:00	Inducción de inmunidad anti-Salmonella en ratones mediante la vacunación oral con una cepa de S. Enteritidis carente de un profago serovar-específico. **Susan Bueno.**
10:00-10:20	Caracterización del complejo binario [SdiA/AHL] en la transcripción del operón ftsQAZ. ¿Una relación entre quorum sensing y división celular? **María José Gallardo.**
09:00-10:40	**Trabajos de Incorporación II.** Salón K121. Coordinador: Dr. Omar Orellana
09:00-09:20	Distribución ambiental de los genes arseniato reductasa en zonas andinas con diferentes concentraciones de As en el Norte de Chile. **Lorena Escudero.**
09:20-09:40	Identificación y estudio de los aspectos biológicos básicos de protozoos depredadores de la microalga *Haematococcus pluvialis*, en el Norte de Chile: morfología, ciclo de vida, reproducción y preferencias alimentarias. **Sergio Morales.**
09:40-10:00	El humo de tabaco induce la formación de biofilms bacterianos a nivel nasosinusal. **Natalia Goldstein.**
10:30- 11:00	Café: Presentación Auspiciadores/Proveedores. Carpa Exterior

11:00-12:30	**SIMPOSIO 5: Microorganismos como productores de Bioenergía. Coordinadora Dra Mariella Rivas.** Salón K120
11:00-11:30	Estudio paramétrico en cultivos de *Neochloris oleoabundans* y su potencial en la producción de biocombustibles. Dra Adriana Garibay, Universidad Autónoma de México, México.
11:30-12:00	El potencial de las microalgas chilenas como fuentes para la producción de biodiesel. Dra Patricia Gómez. Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
12:00-12:30	Producción de biocombustibles a partir a partir de la microalga *Botryococcus braunii*: Resultados preliminares. Dr. Rodrigo Navia, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
11:00-13:00	**SIMPOSIO 6: Poblaciones microbianas y su rol activo en la industria minera del cobre. Coordinadora: Dra Cecilia Demergasso.** Salón K 121
11:00-11:30	Investigating Microbial Colonisation in Heap Bioleaching of Copper-containing Sulphidic Minerals. Dra Susan Harrison. Senior lecturer, Department of Chemical Engineering, University of Cape Town, Sudáfrica.
11:30 – 12:00	Agentes microbianos activos en un proceso industrial abierto y el ciclo del desarrollo de conocimiento científico-tecnológico. Dra Cecilia Demergasso. Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.
12:00-12:30	Biotecnología en la minería del Cobre: Los últimos 10 años y oportunidades a futuro. Ing. Danny Castillo, Metalurgista senior, ICT Ltda.
12:30 -13:00	Influencia de la concentración de impurezas en la capacidad oxidante de un cultivo nativo de Zaldivar. Dina Cautivo, Jorge Campos. Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Minera Zaldívar, Antofagasta, Chile.

13:00-15:00	Instalación Paneles II. Coordinador: Dr Francisco Remonsellez. Salón Andrés Sabella
13:15 -15:00	Almuerzo. Hotel Enjoy, Salón de Buffet
14:15-15:15	Reunión de Socios Sociedad de Microbiología de Chile. Salón Andrés Sabella

15:30-17:30	**Comunicaciones Libres Orales.** Coordinador: Dra. Martha Hengst. Salón K120
15:30-17:30	**Comunicaciones Libres Orales.** Coordinadora: Dra Mariella Rivas. Salón K121
17:30-17:45	Café, Carpa Exterior

17:45 -19:15	Comunicaciones libres Paneles II. Antimicrobianos y sustancias activas, Bioquímica microbiana, Biotecnología y Bioingeniería y Microbiología de extremófilos. Salón Andrés Sabella Coordinador: Dr Francisco Remonsellez. Salón Andrés Sabella
19:30-20:30	Mesa redonda: Biotecnología en el bicentenario. Dra. Gloria Levicán y Dr. Omar Orellana. Salón K120
21:00-02:00	Cena y Fiesta de clausura. Hotel Antofagasta, salón Cobremar..

VIERNES 03 DICIEMBRE

10:00-12:00	**Premiación** (poster, presentaciones orales) y Clausura. Salón Andrés Sabella
12:15-13:00	**Entrega certificados. Salón Andrés Sabella**

CONFERENCIA INAUGURAL

CONFERENCIA INAUGURAL

CI Contamination of Produce with Enteric Pathogens: an Emerging Threat to Public Health and Trade (La contaminación de frutas y verduras frescas con patógenos entéricos: una amenaza emergente para la seguridad alimentaria y el comercio)

4.1

Dra. Maria T. Brandl
Produce Safety and Microbiology Research Unit, Agriculture Research Services, US Department of Agriculture, Albany, California, USA 94563
mbrandl@pw.usda.gov

Fresh fruit and vegetables are presently the food vehicle that causes the greatest number of cases of microbial food-borne illness in the USA. Numerous outbreaks of enteric illness linked to contamination of produce have occurred also in other industrialized countries. While most fresh produce-associated outbreaks in the USA are caused by domestic products, a survey conducted by the US Food and Drug Administration revealed that in 1996-2006, 26% of the outbreaks linked to produce of known origin were associated with imported produce. The emergence of this new public health problem challenges the notion that enteric pathogens are defined mostly by their ability to colonize the intestinal habitat. The factors that underlie the contamination of crop plants with human pathogens remain unknown. Plant surfaces are characterized by rapid fluctuations in physicochemical conditions to which microbial contaminants have to adapt. The persistence of enteric pathogens on produce in the field and in the post-harvest environment has been demonstrated. However, it is still unclear whether this survival is sufficient to cause epidemics or whether amplification on pre- or post-harvest produce is necessary for enteric pathogens to reach the infectious dose required for illness to occur. This presentation will describe recently acquired knowledge of the behavior of enteric pathogens on plants, with an emphasis on *Salmonella enterica* and *Escherichia coli*, as well as on Norovirus. Various bacterial, plant, and environmental factors that affect the growth and survival of enteric pathogens on pre- and post-harvest produce and their interaction with other members of the plant natural microflora will be discussed.

SIMPOSIOS

SIMPOSIO 1

S 1 *Salmonella enteritidis* un agente epidémico y endémico de gastroenteritis en Chile. (*Salmonella enteritidis* an epidemic and endemic of gastroenteritis in Chile).

Dr. Juan Silva Avalos

Universidad de Antofagasta, Chile.

La salmonelosis es una infección de gran importancia en salud pública debido al impacto socioeconómico que ocasiona a nivel mundial. Es una enfermedad transmitida por los alimentos contaminados, causando brotes epidémicos que afectan a un gran número de personas. A partir de los años ochenta, la incidencia de salmonelosis de origen alimentario aumentó considerablemente en el mundo industrializado y ha alcanzado proporciones epidémicas en varios países, incluyendo a Chile. Este incremento es el resultado de una serie de factores relacionados con la globalización, el desarrollo masivo de la producción de alimentos y cambios en las prácticas alimentarias. También, es importante la forma de almacenamiento, distribución y preparación de los mismos. Estos cambios han tenido como consecuencia nuevos problemas en la higiene de los alimentos al producir una fácil diseminación de *Salmonella* y otros microorganismos patógenos en los alimentos. Una de las especies de *Salmonella* involucradas en este incremento es *Salmonella enteritis*. En nuestro país, apareció en forma súbita y epidémica en el norte Chile, afectando principalmente a las ciudades de Arica y Antofagasta, con más del 90% de los casos notificados en el país. Las personas más afectadas fueron los menores de 5 años y los adultos mayores. Durante el brote epidémico 1994-96, se detectaron dos fagotipos (Ft) predominantes de *S. enteritidis*, en el norte se encontró el Ft-1 y en el centro y sur del país el Ft-4. Años más tarde, estudios hechos en Antofagasta señalaban que las cepas de *S. enteritidis* causantes de gastroenteritis en su población, correspondían a los mismo fenotipos y genotipos (clones) presentes en los huevos y pollos que se expendían en esta ciudad. Se detectaron los Ft-1 y Ft-21, los que concordaban con los fenotipos bioquímicos (PhP-tipos) detectados por el sistema Phene-Plate, especialmente el PhP-1 que resultó predominante. Las mismas cepas también fueron analizadas por Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE) que permitieron identificar los genotipos prevalentes que se correspondían con los fenotipos dominantes aislados. tanto en productos avícolas como en las personas enfermas. Entre los mecanismos de patogenicidad de *S. enteritidis* destacan las fimbrias, las que sirven para adhesión y formación de biopelículas en la cáscara de los huevos y, también, en los tejidos que infecta. En las cepas de *S. enteritidis* aisladas en Antofagasta, se detectaron los genes *pef*A y *sef*A que codifican para síntesis de las fimbrias y, también, el gen *inv*A que se asocia al sistema de secreción de proteínas tipo III que exhiben estas bacterias. Estos genes se están estudiando como marcadores específicos para la identificación por PCR, en forma rápida, de este microorganismo en los alimentos. En estos momentos, los aislamiento de *S. enteritis* se han incrementado en todo el país y se ha constituido en un patógeno endémico en todo Chile. Afortunadamente, la resistencia a los antibióticos que presenta es baja y, generalmente, no se usan antibióticos para el tratamiento de las gastroenteritis producidas por *S. enteritidis*. Sin embargo, es importante mantener una vigilancia permanente para prevenir o disminuir los brotes epidémicos que causa *S. enteritidis*.

S 2 Diversidad Genética y Evolución en Patógenos Gram-Positivos. (Genetic Diversity and Evolution in Gram-Positive Pathogens)

Dra Rosa del Campo

Hospital Universitario Ramón y Cajal, España. rosacampo@yahoo.com

La introducción de los antimicrobianos en terapéutica humana ha supuesto la aparición de numerosos cambios ecológicos en las poblaciones microbianas. Gracias a los estudios epidemiológicos conocemos gran parte de las consecuencias de estos cambios y podemos aplicar métodos preventivos de contención para evitar la diseminación de cepas virulentas y/o multirresistentes a los antibióticos. En el caso de *Streptococcus pneumoniae*, la introducción de la vacuna heptavalente que confiere inmunidad a los 7 serotipos más prevalentes, ha supuesto otro importante cambio ecológico donde los serotipos que hasta la actualidad permanecían relegados han emergido como primera causa de otitis en niños o neumonía en el anciano. Añadido a ésto, los intercambios genéticos entre las cepas han propiciado que los viejos serotipos se disfracen con la cápsula de los serotipos emergentes para evadir el sistema inmune. Otro patógeno a nivel mundial que ha sufrido recientes cambios en su epidemiología es *Staphylococcus aureus*. A través de las nuevas herramientas moleculares conocemos su historia y la predominancia de ciertos linajes con mayor capacidad invasiva. Sin embargo, dentro de esta especie hay que diferenciar tres grandes escenarios epidemiológicos: la infección nosocomial, la infección adquirida en la comunidad en pacientes sin riesgos, y la infección de las instituciones sanitarias, que aunque se parece a la nosocomial, presenta también particularidades propias. La aparición de cepas con resistencia a meticilina supone un grave problema terapéutico, pero también la introducción de un nuevo capítulo en la historia de *S. aureus*. Los trabajos científicos publicados añaden nuevos datos sobre la gran variedad de elementos genéticos móviles en los que se transfiere esta resistencia, por lo que las particularidades de cada escenario deben ser siempre analizadas. Para finalizar, analizaremos la estructura poblacional y la diversidad genética de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, que a pesar de pertenecer al mismo género bacteriano, sus historias epidemiológicas son muy diferentes. Clásicamente, la infección nosocomial causada por *Enterococcus* era debida, en un 95%, a la especie *E. faecalis*, pero en los últimos años la prevalencia de *E. faecium* ha aumentado hasta llegar al 25-30%. Esto es debido a la emergencia mundial de cepas del linaje genético CC17 con resistencia a ampicilina como principal característica. Además, los estudios de MLST han permitido conocer que existe una especificidad de huésped que no ocurre en *E. faecalis* donde la distribución de los linajes es universal sin relación con el nicho ecológico. En resumen, repasaremos los recientes datos epidemiológicos y la situación actual de estos tres géneros Gram-positivos causantes de infección.

S 3 Avatares de *Vibrio parahaemolyticus* en Antofagasta y Puerto Montt. (Avatar of *Vibrio parahaemolyticus* in Antofagasta and Puerto Mont).

Dr Romilio Espejo

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Chile. romilio.espejo@gmail.com

El arribo de una población clonal pandémica altamente virulenta de *V. parahaemolyticus* a Antofagasta en 1997, y posteriormente a Puerto Montt el 2004, causó serios brotes de diarrea asociada al consumo de mariscos en ambas localidades. Los brotes en Antofagasta persistieron por alrededor de un año y no se han repetido hasta la fecha. En cambio, los brotes originados en Puerto Montt, persistieron hasta el verano del 2009 y se expandieron a todo el país, probablemente porque la región de Los Lagos produce mas del 80% del marisco consumido en las grandes ciudades. En esta exposición presento las observaciones que reflejan algunos aspectos de la ecología de la población responsable de los brotes (*V. parahaemolyticus* pandémico), con la intención de explicar las variaciones de su abundancia en los mariscos y su posterior desaparición. Como en AVATAR, la película, estas observaciones reflejan en alguna forma el enfrentamiento y relaciones íntimas de una población colonizadora con los nativos, y la influencia de otras condiciones bióticas y abióticas del hábitat en la persistencia del grupo colonizador. Mostraré resultados que indican que *V. parahaemolyticus* pandémico comparte el hábitat con muchas otras poblaciones de *V. parahaemolyticus* y que su desaparición en Antofagasta pudo deberse a la competencia con la alta concentración de poblaciones bacterianas similares. Expondré también resultados que sugieren que su persistencia en Puerto Montt pudo deberse a que la abundancia de poblaciones bacterianas competidoras es varios órdenes de magnitud menor a la observada en Antofagasta y otras regiones cálidas. *V. parahaemolyticus* pandémico, sufrió también cambios en serotipo y en otras propiedades, como resistencia a luz ultra-violeta provocada por la infección por un virus (bacteriófago VP57.5). Estos cambios y la infección por otros bacteriófagos como VP93 pueden tener un papel importante en la determinación de su abundancia. Actualmente, parece que en este enfrentamiento, la población colonizadora se bate en retirada, aunque dejando quizás huellas en la población nativa. Entre estas huellas destaca el surgimiento de una aparente bacteria híbrida que pudo haber surgido del cruce de *V. parahaemolyticus* pandémico con la población nativa.

FONDECYT 1070658

S 4 *Escherichia coli* enterotoxigénica, un invitado inesperado en Antofagasta post terremoto.

Dr Roberto Vidal Alvarez

Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. rvidal@med.uchile.cl

La mayoría de las cepas bacterianas de *Escherichia coli* son comensales intestinales, pero existen varios clones altamente adaptados que han desarrollado la capacidad de causar una variedad de enfermedades en humanos. Se reconocen tres tipos de síndromes clínicos que resultan de la infección con estas cepas: infecciones del tracto urinario, meningitis/sepsis y enfermedades entéricas. Las cepas que producen infecciones entéricas se denominan *E. coli* diarreogénicas (ECD), e incluyen varios patógenos emergentes de importancia mundial en salud pública. Las cepas diarreogénicas se han clasificado en seis categorías: *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteropatogénica (ECEP), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEAgg) y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD). Las diferencias entre cada categoría radican básicamente en las estrategias utilizadas durante la infección y, por ende, en el repertorio de factores de virulencia que cada uno posee. En general los factores de virulencia de ECD incluyen proteínas de superficie que permiten colonizar y/o invadir el epitelio intestinal, polipéptidos con actividad citotóxica y sofisticados sistemas de secreción.

Dentro de las categorías de ECD, ETEC es uno de los que se presenta con mayor frecuencia asociado a cuadros de diarrea aguda en el humano, alcanzando una cifra cercana a los 650 millones de casos por año, en países en vías de desarrollo, los que resultan en aproximadamente 800.000 muertes. La principal vía de contagio de ETEC es la ingesta directa de alimentos o agua contaminada conteniendo la bacteria. ETEC coloniza el tracto proximal del intestino delgado utilizando proteínas de superficie conocidas como factores de colonización (CFs), para luego, mediante la producción de dos tipos de enterotoxinas, una termolábil (LT) y otra termoestable (ST), alterar el balance iónico de las células epiteliales conduciendo a la liberación excesiva de electrolitos y agua que resultan finalmente en la diarrea.

En la región de Antofagasta entre los meses de Marzo y Abril de 2010 (post terremoto), se produjo un brote de gastroenteritis que superó los 30.000 casos. Las personas afectadas por el brote, presentaron síntomas como diarrea aguda, dolor abdominal y vómitos, con aproximadamente tres a cinco días de duración y donde se vieron afectados individuos de todas las edades. Uno de los agentes bacterianos aislados con mayor frecuencia en las muestras analizadas correspondió a *Escherichia coli* enterotoxigénica.

S 5 Resistencia a antibacterianos: ¿Del mar al hospital? (Antibacterial resistance: from the sea to the hospital?)

Felipe Cabello[1], Buschmann A[2], Dölz H[3], Millanao A[3], Tomova A[1], Lopez A[2], Aedo S[1], Ivanova L[1].

[1]New York Medical College, Valhalla, NY. EE.UU. [2]Centro i-Mar, U. de Los Lagos, Pto. Montt.
[3]Instituto de Farmacia, U. Austral de Chile, Valdivia. FELIPE_CABELLO@nymc.edu

La emergencia de las bacterias resistentes a los antibacterianos, fue el resultado de la selección de variantes bacterianas resistentes a ellos, producida por mutación y por transferencia horizontal de genes desde bacterias resistentes a bacterias susceptibles. Como resultado de la universalidad de estos procesos biológicos, el uso terapéutico, profiláctico y dietético de antibacterianos en la crianza industrial de animales, selecciona a bacterias resistentes zoonóticas con capacidad de infectar a humanos, y de transferir sus genes de resistencia a patógenos de animales terrestres y humanos. En Chile la salmonicultura es la actividad que comanda el uso de antibacterianos en el país y en ella se usan volúmenes muy superiores a los antimicrobianos que son usados en medicina humana; probablemente porque los antimicrobianos en esta actividad se han usado masivamente además en profilaxis. La presencia de elementos genéticos comunes y transferibles (mobiloma), entre las bacterias acuáticas y las terrestres, incluyendo patógenos de peces y humanos, sugiere la ausencia de barreras para el intercambio genético entre estas poblaciones. Nuestros estudios preliminares en la Décima Región indican que en Chile el uso de antimicrobianos en la salmonicultura selecciona bacterias resistentes a ácido oxolínico, florfenicol y tetraciclina en los sedimentos y la columna de agua debajo de las jaulas. Análisis con PCR, indican que bacterias del ambiente marino aisladas de sitios controles y de sitios impactados por la salmonicultura, contienen los genes de resistencia al florfenicol *floR* , los genes de resistencia a la tetraciclina *tetA, tetB, tetK and tetM y* los genes plasmidiales de resistencia a quinolonas como el ácido oxolínico, *qnrA*, *qnrB* y *qnrS*. Los mismos estudios indican que los genes plasmidiales *qnrA* y *qrnB* , están localizados en integrones. Esta información preliminar, la presencia en el ambiente acuático de bacterias de la flora normal y patológica de animales terrestres y de humanos, la gran presión selectiva ejercida por la presencia de antibacterianos y de sus residuos, indican que en la Décima Región este ambiente acuático constituye un reactor evolutivo que acelerará el intercambio genético entre bacterias de este ambiente y el terrestre, generando nuevos genotipos de resistencia. Financiado por Lenfest Ocean Program/The Pew Charitable Trusts y The Guggenheim Foundation.

SIMPOSIO 2

S 6 Microbiota Bucal: Comunidades microbianas principales odontopatógenos y sus características microbiológicas.

Dra. Nora Silva S.

Profesor asociado, Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. norasilvasteffens@hotmail.com

El cuerpo humano, posee numerosos ecosistemas, que proveen ambientes únicos para la colonización por microorganismos, la cavidad bucal no es la excepción, ofrece una serie de microambientes, lo que permite la colonización por una microbiota particular. Se ha demostrado que los microorganismos de la cavidad oral comprenden una compleja comunidad, donde la salud o enfermedad de los tejidos bucales, depende de la interfase entre el hospedero y la comunidad microbiana como un todo. Actualmente se han reconocido sobre 750 taxas a nivel de la cavidad oral, estimándose que aproximadamente un 50% de estos microorganismos no han sido aun cultivados.

A las pocas horas del nacimiento nuestra cavidad bucal es colonizada por una serie de géneros bacterianos, donde inicialmente destacan *Streptococcus, Staphylococcus, Lactobacillus* y *Candida* entre otros, estableciéndose con ello los colonizadores primarios. La erupción de los dientes, trae consigo una serie de cambios ecológicos en el medio, lo que favorece la instalación de especies bacterianas particulares, destacando *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. En etapas posteriores, ocurren sucesiones microbianas que permiten el establecimiento de una comunidad climax, con la instalación de una microbiota normal. Estas comunidades son polimicrobianas y existen como "biofilms" en las superficies dentarias, la lengua, encías, también ha sido posible identificarlas en materiales dentales que son utilizados en boca, como el acrílico de las prótesis. En la cavidad bucal está ampliamente demostrado que las principales patologías que la afectan, como son la caries y enfermedad periodontal, son enfermedades infecciosas, causadas por "biofilms", donde los principales agentes etiológicos identificados son *S. mutans* y *S. sobrinus* en el caso de caries y *Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia, Treponema denticola* y *Aggregatibacter actinomycetemmcomitans* en el caso de la enfermedad periodontal. Desde el punto de vista microbiológico, la microbiota asociada a caries se caracteriza por tratarse de microorganismos Gram positivo, facultativos y esencialmente sacarolíticos, por el contrario la asociada a enfermedad periodontal, se trata de una microbiota donde predominan especies Gram negativas, anaerobias obligadas o aerotolerantes y fundamentalmente proteolíticas.

Las características microbiológicas de estos géneros y especies bacterianas, determinan las condiciones necesarias para el cultivo, aislamiento e identificación en el laboratorio, lo que en muchas ocasiones lleva a subdiagnosticar a estos microorganismos. Muchos de estos microorganismos se encuentran asociados, además, a condiciones sistémicas en el hospedero, tales como endocarditis bacteriana, enfermedad cardiovascular, diabetes, parto prematuro y bajo peso al nacer. Con ésto queda de manifiesto la importancia de un adecuado diagnostico en al laboratorio de microbiología, para la identificación y tratamiento de los cuadros en los cuales se encuentran involucrado alguno de estos odontopatógenos.

S 7 Periodontitis y su asociación a enfermedades y condiciones sistémicas.

Dr Rolando Vernal

Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile. rvernal@uchile.cl

Las periodontitis constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades periodontales de etiología infecciosa y naturaleza inflamatoria que se caracterizan por la destrucción del aparato de inserción dentario que causa la pérdida de los dientes.
La etiología de la enfermedad es el biofilm bacteriano que coloniza el microambiente subgingival e interactúa con los tejidos y células del hospedero. Durante la infección, en los tejidos periodontales se desarrolla una respuesta inmuno-inflamatoria caracterizada por la liberación de un rango amplio de enzimas, citoquinas, quimioquinas, mediadores proinflamatorios y factores osteoactivos responsables de la destrucción tisular característica de la enfermedad.
En los últimos años, un creciente aval científico ha fundamentado la asociación entre las periodontitis y diversas enfermedades no orales, siendo las bacterias patógenas periodontales y/o la respuesta inmuno-inflamatoria desplegada ante ellas la base de la plausibilidad biológica que sustenta estas asociaciones.
Diversos estudios se han enfocado en la relación estadística entre periodontitis y enfermedades no orales de naturaleza infecciosa, por ejemplo sinusitis, faringo-amigdalitis, afecciones gastro-esofágicas, infecciones al oído medio, neumonía e infecciones respiratorias. Adicionalmente, numerosos estudios de prevalencia, incidencia, longitudinales y clínicos aleatorios y controlados han evidenciado la asociación entre periodontitis y diversas enfermedades y condiciones sistémicos de naturaleza no infecciosa, tales como diabetes mellitus tipo II, enfermedades cardiovasculares, ateroesclerosis, osteoporosis, trastornos nutricionales, obesidad, parto prematuro y bajo peso del neonato.
Durante la presentación, se discutirá el fundamento biológico que explica este tipo de asociaciones, centrando el análisis en la etiología bacteriana de las periodontitis y en la respuesta inmune local y sistémica desarrollada durante la infección.

S 8 Respuesta inmune de la cavidad bucal frente a caries y enfermedad periodontal.

Dr Fermín González B.

Área de Periodoncia, Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile. fermin.gonzalez@inmunotron.med.uchile.cl

Actualmente se considera que la susceptibilidad individual a una condición patológica tiene un papel fundamental en determinar el fenotipo clínico de las enfermedades en el ser humano. Esta susceptibilidad involucra una interacción multifactorial entre los patógenos, el hospedero y diversos factores ambientales.
La cavidad bucal posee uno de los más complejos ecosistemas de interacción hospedero-parásito que se conocen. Esta interacción desencadena una serie de mecanismos tanto de tolerancia frente a microorganismos comensales, como de una respuesta inmune efectora innata y adaptativa frente a los patógenos que colonizan los tejidos bucales. Los mecanismos de respuesta inmune frente a patógenos bucales comprenden barreras físico-químicas, elementos celulares y mediadores moleculares, y la forma en que los tejidos y células pulpares y periodontales reconocen la presencia de patógenos es a través de una serie de receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs) dentro de los cuales la familia

de receptores tipo Toll (TLR) es una de las más estudiadas. Asimismo, la principal célula involucrada en desencadenar una respuesta inmune adaptativa eficiente en la cavidad bucal es la célula dendrítica, dada su capacidad de obtención y procesamiento de información a través de las señales de peligro presentes en el microambiente infeccioso, la captura y procesamiento de antígenos, migración a órganos linfoides secundarios y presentación antigénica a linfocitos vírgenes que se diferenciarán a células efectoras.

Dos de las enfermedades más prevalentes en el ser humano, caries dental y enfermedades periodontales, afectan a la cavidad bucal con importantes secuelas a nivel individual y consecuencias en salud pública. Estas enfermedades son de naturaleza infecciosa, y pueden producir la destrucción de las estructuras tanto del diente como de los tejidos de soporte dentario, ocurriendo esto cuando la respuesta inmune es sobrepasada por la agresión microbiana. La destrucción del tejido de soporte dentario observada durante la periodontitis es producto, entre otras alteraciones, de la desrregulación de la producción y activación de mediadores catabólicos que incluyen citoquinas proinflamatorias tales como IL-1β y TNFα y metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs). Si bien la mayor parte de esta destrucción no es causada directamente por los patógenos, si lo sería el desencadenar este desequilibrio del sistema inmune del hospedero, favoreciendo así la destrucción tisular que puede incluso conducir a la pérdida dentaria.

En esta presentación se abordarán, tanto desde el punto de vista protector como de su participación en la destrucción tisular, los aspectos más relevantes acerca de los mecanismos de respuesta inmune innata y adaptativa que se generan en los tejidos dentarios y periodontales frente a los patógenos presentes en el biofilm dentogingival y en el sistema de conductos radiculares.

SIMPOSIO 3

S 9 Genomas de comunidades microbianas en acción: Metatranscriptómica en aguas marinas deficientes en oxígeno.

Dr Osvaldo Ulloa

Departamento de Oceanografía & FONDAP-COPAS, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. oulloa@profc.udec.cl

Una de las características de las aguas marinas del norte y centro de Chile es que presentan aguas deficientes de oxígeno a profundidades subsuperficiales (50-500 m). Estas aguas forman parte de la Zona de Mínimo de Oxígeno (ZMO) del Pacífico Sudoriental, la cual impacta el ciclo global del nitrógeno a través de la pérdida masiva de nitrógeno oceánico por procesos microbianos como la desnitrificación y el anammox. Hasta ahora, el estudio microbiológico de las ZMOs se había focalizado en grupos de organismos, genes, o procesos biogeoquímicos particulares. Sin embargo, la aplicación de nuevas técnicas de genómica ambiental permite hoy en día la caraterización simultánea de la composición taxónomica, el contenido de genes metabólicos y la expresión de genes de la comunidad microbiana en su conjunto, en un lugar y tiempo dado.

En este trabajo se presentan y discuten resultados recientes de la aplicación de técnicas de metatrascriptómica para el estudio de la expresión global de genes metabólicos en comunidades microbianas planctónicas de un ecosistema costero de Chile central que presenta marcadas variaciones con la profundidad y con las estaciones del año en la concentración de oxígeno disuelto en el agua. Comparaciones con resultados similares obtenidos frente a la ZMO permanente del norte de Chile permiten establecer ciertos patrones generales en cuanto a la importancia de ciertos grupos taxonómicos y funcionales, como las arqueas amonio-oxidantes y las bacterias anammox y las azufre-oxidantes, a bajas concentraciones de oxígeno. Un ciclo activo del azufre conectado estrechamente al ciclo del nitrógeno emerge como una de las características novedosas de la biogeoquímica microbiana en las aguas deficientes de oxígeno en el mar.

S 10 The Biogeography of Microorganisms.

Dr Brendan Bohannan

Center for Ecology and Evolutionary Biology, University of Oregon, USA. bohannan@uoregon.edu

It has become increasingly clear over the last decade that microbial diversity varies in consistent ways across time and space. Such regularities are known as *biogeographical* patterns. I will present an overview of our current knowledge of microbial biogeographical patterns, with an emphasis on patterns in beta diversity, the change in diversity across space. I will describe how patterns in microbial beta diversity are similar to and different from comparable patterns of plant and animal diversity. I will then describe how biogeography can be used as a tool to increase our knowledge of microbial ecology. These applications include the use of biogeographical patterns to better understand: 1) the distribution of microbial traits, including important targets for bioprospecting, 2) the response of microbial communities to global change, and 3) the determinants of microbial diversity within the human body.

S 11 Diversidad microbiana de humedales altoandinos: una aproximación funcional (Microbial diversity of high altitude wetlands: a functional approach)

Dra Cristina Dorador

Facultad de Recursos del Mar & CBIA, Universidad de Antofagasta, Antofagasta Chile.

El Altiplano Chileno se encuentra a una altura promedio de 4000 metros sobre el nivel del mar y se caracteriza por la presencia de distintas cuencas evaporíticas que contienen concentraciones variables de sales y nutrientes. Estos ambientes están bajo condiciones ambientales particulares como alta radiación solar, temperaturas frías y períodos de lluvia intensa. Las comunidades microbianas de los ambientes acuáticos del Altiplano Chileno se caracterizan por exhibir una alta diversidad relacionada con una alta cantidad de micronichos, la cual incluye la presencia de al menos 12 phyla en *Bacteria* y 3 phyla en *Archaea*. Esta diversidad filogenética va acompañada además de una alta diversidad funcional, existiendo microorganismos claves en distintos ciclos biogeoquímicos. Los microorganismos presentes en estos ambientes exhiben alta similitud con aquellos descritos en ambientes de la biósfera fría (Antárctica, subsuperficie del océano, ambientes de montaña). Debido a la baja probabilidad de cultivo de estos grupos microbianos, el estudio basado en genes funcionales es de gran importancia para comprender la función de los microorganismos en el ambiente. En este trabajo se muestran los resultados de diversidad funcional de bacterias fotótrofas anoxigénicas (APB) y microorganismos oxidadores del amonio (AOM) en distintos salares del Altiplano Chileno utilizando distintos marcadores: genes *pufLM* y *bchY* para APB y el gen *amoA* para AOM, analizados por PCR, genotecas, RT-PCR, Q-PCR y RT-Q-PCR. Al igual que el estudio con genes ribosomales, es frecuente la presencia de clúster únicos para los distintos ambientes analizados, lo cual infiere un alto grado de novedad de los microorganismos de las cuencas estudiadas. Uno de los resultados más interesantes de este estudio es que la comunidad de APB en salares del Altiplano está dominada por miembros aeróbicos de APB, especialmente clado marino *Roseobacter*, existiendo además la presencia de otros grupos de bacterias fotótrofas tradicionalmente marinas. En el caso de AOM, se presenta evidencia de un nuevo grupo de microorganismos nitrificantes miembros de *Archaea* que están relacionados filogenéticamente con el grupo marino 1 b (MG1-1b). Datos obtenidos recientemente por pirosecuenciación 454 (138.000 secuencias) de un tapete microbiano del Salar de Huasco, confirma los resultados obtenidos con la aproximación de genes funcionales.

Agradecimientos: Fondecyt 11080228; Proyecto Iniciación UA N°1362

S 12 Ecology and Evolution of Bacterial Populations in the Ocean.

Dr Martin Polz

Massachusetts Institute of Technology, Department of Civil and Environmental Engineering & Division of Biological Engineering, USA. mpolz@mit.edu

Microbes in the ocean dominate biogeochemical processes and are far more diverse than anticipated. In order to understand the ocean system, we need to delineate microbial populations with predictable ecological functions. Recent observations suggest that ocean communities comprise diverse groups of bacteria organized into genotypic clusters of closely related organisms. Using coastal vibrios as a model, we show that such clusters correlate to ecologically differentiated populations. These populations act as cohesive units while displaying considerable genotypic and phenotypic diversity. Using antibiotic production as an example, we demonstrate that kin selection and altruism act on the population level and can be responsible for at least part of the observed phenotypic variation. This population model has also afforded us the opportunity to study the microevolutionary processes leading to ecological specialization. We characterize genomic diversity and gene flow between two nascent populations of *Vibrionaceae* bacteria that remain genetically nearly indistinguishable but already possess reproducibly distinct microhabitat association in coastal ocean water. We find that a small number of habitat-specific loci have swept each population and appear to drive divergence. In contrast, the remainder of the genome remains homogenized across habitats with only the most recent recombination showing signs of population specificity. These observations point to a surprisingly similar process of sympatric speciation for bacteria and sexual eukaryotes.

S 10 The Biogeography of Microorganisms.

Dr Brendan Bohannan

Center for Ecology and Evolutionary Biology, University of Oregon, USA. bohannan@uoregon.edu

It has become increasingly clear over the last decade that microbial diversity varies in consistent ways across time and space. Such regularities are known as *biogeographical* patterns. I will present an overview of our current knowledge of microbial biogeographical patterns, with an emphasis on patterns in beta diversity, the change in diversity across space. I will describe how patterns in microbial beta diversity are similar to and different from comparable patterns of plant and animal diversity. I will then describe how biogeography can be used as a tool to increase our knowledge of microbial ecology. These applications include the use of biogeographical patterns to better understand: 1) the distribution of microbial traits, including important targets for bioprospecting, 2) the response of microbial communities to global change, and 3) the determinants of microbial diversity within the human body.

S 11 Diversidad microbiana de humedales altoandinos: una aproximación funcional (Microbial diversity of high altitude wetlands: a functional approach)

Dra Cristina Dorador

Facultad de Recursos del Mar & CBIA, Universidad de Antofagasta, Antofagasta Chile.

El Altiplano Chileno se encuentra a una altura promedio de 4000 metros sobre el nivel del mar y se caracteriza por la presencia de distintas cuencas evaporíticas que contienen concentraciones variables de sales y nutrientes. Estos ambientes están bajo condiciones ambientales particulares como alta radiación solar, temperaturas frías y períodos de lluvia intensa. Las comunidades microbianas de los ambientes acuáticos del Altiplano Chileno se caracterizan por exhibir una alta diversidad relacionada con una alta cantidad de micronichos, la cual incluye la presencia de al menos 12 phyla en *Bacteria* y 3 phyla en *Archaea*. Esta diversidad filogenética va acompañada además de una alta diversidad funcional, existiendo microorganismos claves en distintos ciclos biogeoquímicos. Los microorganismos presentes en estos ambientes exhiben alta similitud con aquellos descritos en ambientes de la biósfera fría (Antárctica, subsuperficie del océano, ambientes de montaña). Debido a la baja probabilidad de cultivo de estos grupos microbianos, el estudio basado en genes funcionales es de gran importancia para comprender la función de los microorganismos en el ambiente. En este trabajo se muestran los resultados de diversidad funcional de bacterias fotótrofas anoxigénicas (APB) y microorganismos oxidadores del amonio (AOM) en distintos salares del Altiplano Chileno utilizando distintos marcadores: genes *pufLM* y *bchY* para APB y el gen *amoA* para AOM, analizados por PCR, genotecas, RT-PCR, Q-PCR y RT-Q-PCR. Al igual que el estudio con genes ribosomales, es frecuente la presencia de clúster únicos para los distintos ambientes analizados, lo cual infiere un alto grado de novedad de los microorganismos de las cuencas estudiadas. Uno de los resultados más interesantes de este estudio es que la comunidad de APB en salares del Altiplano está dominada por miembros aeróbicos de APB, especialmente clado marino *Roseobacter*, existiendo además la presencia de otros grupos de bacterias fotótrofas tradicionalmente marinas. En el caso de AOM, se presenta evidencia de un nuevo grupo de microorganismos nitrificantes miembros de *Archaea* que están relacionados filogenéticamente con el grupo marino 1 b (MG1-1b). Datos obtenidos recientemente por pirosecuenciación 454 (138.000 secuencias) de un tapete microbiano del Salar de Huasco, confirma los resultados obtenidos con la aproximación de genes funcionales.
Agradecimientos: Fondecyt 11080228; Proyecto Iniciación UA N°1362

S 12 Ecology and Evolution of Bacterial Populations in the Ocean.

Dr Martin Polz

Massachusetts Institute of Technology, Department of Civil and Environmental Engineering & Division of Biological Engineering, USA. mpolz@mit.edu

Microbes in the ocean dominate biogeochemical processes and are far more diverse than anticipated. In order to understand the ocean system, we need to delineate microbial populations with predictable ecological functions. Recent observations suggest that ocean communities comprise diverse groups of bacteria organized into genotypic clusters of closely related organisms. Using coastal vibrios as a model, we show that such clusters correlate to ecologically differentiated populations. These populations act as cohesive units while displaying considerable genotypic and phenotypic diversity. Using antibiotic production as an example, we demonstrate that kin selection and altruism act on the population level and can be responsible for at least part of the observed phenotypic variation. This population model has also afforded us the opportunity to study the microevolutionary processes leading to ecological specialization. We characterize genomic diversity and gene flow between two nascent populations of *Vibrionaceae* bacteria that remain genetically nearly indistinguishable but already possess reproducibly distinct microhabitat association in coastal ocean water. We find that a small number of habitat-specific loci have swept each population and appear to drive divergence. In contrast, the remainder of the genome remains homogenized across habitats with only the most recent recombination showing signs of population specificity. These observations point to a surprisingly similar process of sympatric speciation for bacteria and sexual eukaryotes.

S 15 Environmental transcriptomics in acidophilic bacteria (Transcriptomas ambientales en bacterias acidófilas)

Dr Victor Parro

Departamento de Evolución Molecular, Centro de Astrobiología (CSIC-INTA), Madrid, España.parrogv@cab.inta-csic.es

The modern molecular ecology and environmental microbiology techniques are deciphering the huge genetic wealth in the environment. Some of these techniques are devoted to define the biodiversity, others in exploring the biotechnological potential of certain genes and their products, some use proteomic and metabolomic approaches to associate microorganisms and metabolisms to environmental parameter, or the study of the expression of specific genes to infer ecological roles of microorganisms. Metagenomic and metatranscriptomic analyses through massive DNA o cDNA sequencing render important information about the whole microbial community as well as their predominant metabolic activities. DNA microarrays allow monitoring the relative abundance of RNA transcripts from several genes or from whole genomes (transcriptome) under two different experimental conditions. In addition, with DNA microarrays is possible to monitor dynamic processes by following the gene expression patterns and their association to environmental variables. One important limiting factor is to obtain sufficient and good quality RNA [1], which together with the multiple parameters that can affect the gene expression, complicate the analysis and conclusions of expression analysis in environmental samples. The low prokaryotic diversity of acidic environments like the Rio Tinto (Spain), allows the use of single genome microarrays for environmental transcriptome analysis. We constructed a whole genome microarray from an environmental isolate of the Gram-negative iron-oxidizer *Leptospirillum ferrooxidans* and studied the molecular adaptation facing different physicochemical parameters. We compared the transcription profiles between a relatively low iron and metal content place with another with high iron and sulphate level [2], between sessile cells in biofilms with those free living (swimming) [3], or between different depths in the water column. From our studies we conclude that acidophile prokayotes are true poikilo-tolerant (tolerant to multiple and variable stresses). The application of microarray technology for gene expression profiling and for monitoring the prokaryotic diversity in bioleaching processes will be discussed [4-6].

1. Moreno-Paz, M. and V. Parro. Environ Microbiol, 2006. **8**(6): p. 1064-73.
2. Parro, V., M. Moreno-Paz, and E. Gonzalez-Toril. Environmental Microbiology, 2007. **9**(2): p. 453-64.
3. Moreno-Paz, M., M.J. Gomez, A. Arcas, and V. Parro. Bmc Genomics, 2010. **11**: p. 404.
4. Garrido, P., E. Gonzalez-Toril, A. Garcia-Moyano, M. Moreno-Paz, R. Amils, and V. Parro. Environmental Microbiology, 2008. **10**(4): p. 836-50.
5. Remonsellez, F., F. Galleguillos, M. Moreno-Paz, V. Parro, M. Acosta, and C. Demergasso. Microbial Biotechnology, 2009. **2**(6): p. 613-624.
6. Remonsellez, F., M. Moreno-Paz, V. Parro, and C. Demergasso. Advanced Materials Research, 2009. **71-73**: p. 227-230.

S 16 Challenges for Life at pH 1: Terrestrial Evolution and Extra-Terrestrial Life Signatures

(Desafíos de la vida a pH 1: Signos de la evolución terrestre y de vida extraterrestre.)

Dr David S. Holmes

Center for Bioinformatics and Genome Biology, Fundación Ciencia para la Vida and Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

Comparative genome analysis from over 40 sequenced extreme acidophiles provides insight into how microbial life meets the multiple challenges of living at pH 1. Acidophilic microorganisms are confronted by a delta-pH across their membranes that is 6 orders of magnitude greater than that encountered by neutrophilic organisms. This poses problems for the operation of membrane transporters that are driven by proton motive force (PMF). Models have been constructed by molecular simulation techniques that provide insight into how such membrane transporters function in acid pH. A database has also been created for collecting and evaluating the physico-chemical properties of acidophilic proteins in order to gain insight into how they fold, function and make protein-protein contacts at low pH. Another problem confronting acidophilic microorganisms is the enormous concentration of soluble iron in their environment that can be 1016 times greater than that found in neutrophilic environments. Because iron can be toxic via the Fenton reaction, high concentrations of this metal pose a serious challenge to biological iron uptake and homeostatic mechanisms.

However, the enormous delta-pH across the membranes of acidophiles provides a unique opportunity to use protons to push electrons uphill against a thermodynamically unfavorable gradient to gain reducing power (NADPH) in a way that has similarities to mitochondrial oxidative phosphorylation but acting in reverse. The delta-pH also permits acidophiles to synthesize ATP without the expenditure of conventional energy sources. Acid-driven, reverse PMF may have been an important energy source during the early evolution of life on earth.

The biological oxidation/reduction reactions carried out by acidophiles leave characteristic iron and sulfur isotope fractionation signatures and form minerals such as jarosite, providing information that will be used to search for evidence of present or past life on Mars, Jupiter's moon Europa and Saturn's moon Enceladus.

Acknowledgments: Fondecyt 1090451 and Conicyt Basal CCTE PFB16.

SIMPOSIO 5

S 17 El potencial de las microalgas chilenas como materia prima para la producción de biodiesel

Dra Patricia Gómez

Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Centro de Biotecnología. Universidad de Concepción, Concepción, Chile. pgomez@udec.cl

Dada su variada geografía nuestro país ofrece una gran diversidad de ambientes en los cuales es posible encontrar microalgas con potencial industrial. Nuestro grupo de investigación se dedica hace más de 20 años al aislamiento, cultivo y caracterización fisiológica y genética de cepas chilenas de microalgas nocivas y con potencial biotecnológico, incursionando recientemente también en su uso como fuentes de aceite para la producción de biodiesel. Actualmente, todos los sectores coinciden en que los biocombustibles de primera generación, producidos principalmente a partir de cultivos agrícolas, tienen posibilidades muy limitadas de contribuir a la producción sustentable de energía, aportar a la mitigación del cambio climático y favorecer el crecimiento económico de los países que los producen. En este contexto, se considera que las microalgas son la única fuente renovable, con real potencial para satisfacer una fracción significativa de la demanda energética mundial. A pesar de sus indiscutibles ventajas, la producción de biodiesel a partir de microalgas sigue siendo una tecnología poco desarrollada en el mundo, persistiendo algunas dificultades que demuestran que se requiere aún de una fuerte inversión en investigación básica. Los estudios coinciden, por ejemplo, en que la habilidad intrínseca para producir grandes cantidades de lípidos es cepa-específica, lo que justifica continuar en la búsqueda de cepas nuevas, altamente oleaginosas, pero también resistentes a condiciones ambientales extremas y fluctuantes. Adicionalmente, la principal ventaja del uso de cepas nativas es el hecho de que éstas están adaptadas a las condiciones ambientales locales, lo cual facilita enormemente la estabilización de cultivos a gran escala. En el marco del proyecto FONDEF D07I-1063, hemos generado un cepario de microalgas marinas chilenas, el cual constituye un reservorio de recursos biológicos con potencial para diversas aplicaciones biotecnológicas, entre ellas bioenergéticas. Hemos identificado 4 cepas de microalgas marinas chilenas (algas verdes y diatomeas) que contienen entre un 20% y un 35% de lípidos con calidad adecuada para la producción de biodiesel. Además, se han mejorado genéticamente algunas cepas, se han optimizado sus condiciones de cultivo y evaluado la factibilidad técnica del escalamiento de sus cultivos. Los resultados obtenidos hasta ahora son auspiciosos y demuestran la viabilidad del uso de biomasa microalgal como fuente para la producción de biodiesel en Chile.

Proyecto FONDEF D07I-1063

S 18 Biofuel production from the microalgae *Botryococcus braunii*: Preliminary results

Concha E[1], Hidalgo P[1], Sepúlveda N[1], Toro C[1], Rivas M[2], Navia R[1,3]

[1]Scientific & Technological Bioresources Nucleus, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile. [2]CICITEM & Laborarotio de Ecología Microbiana, Universidad de Antofagasta, Angamos 601, Antofagasta. [3]Department of Chemical Engineering, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile

Energy production is a huge problem nowadays because of fossil fuels is diminishing. As consequence, renewable fuels as biodiesel are becoming a great alternative. To produce biodiesel several sources of biomass can be used: Plant oils, residual oils, animal fats, or some microorganisms such as microalgae and bacteria. There are several microalgae usable for biodiesel production, but among them *Botryococcus braunii* is a promising alternative, as it presents a high growing rate and high lipids content. *Botryococcus braunii* was cultured in 350 L mass system cultures, fresh water and in outdoor temperature and luminosity in north of Chile.

Cellular disruption and oil extraction are considered critical stage because an appropiate method increases the lipid extraction efficiency. In the present work, various cellular disruption methods were tested to compare their efficiency on the subsequent oil extraction. The methods used were: (1) sonication, (2) microwaves, (3) osmotic shock using a solution of NaCl (10% w/v). This methods were compared with a cellular disruption method used previously reported in the literature [1] which produces the cellular disruption by a mixture with glass beads. After that, the transesterifiable oils percentage were determined by gas chromatography. In addition, the direct transesterification method of microalgae were performed in preliminary tests and tested by Fatty Acid Methyl Ester (FAME) content. A preliminar lipids profile of *B. braunii* race A, used in this study, has been obtained, indicating that hexa and octadecanoic acids are the most representatives in the analyzed samples.

1) E. Eroglu and A. Melis, Bioresource Technology 101, 2359 (2010)

SIMPOSIO 6

S 19 Investigating Microbial Colonisation in Heap Bioleaching of Copper-containing Sulphidic Minerals

Dr S.T.L Harrison

Centre for Bioprocess Engineering Research, Department of Chemical Engineering, University of Cape Town 7701, South Africa. Corresponding author: Tel: +27 21 650 4021. Sue.Harrison@uct.ac.za

The microbial colonisation of mineral sulphide containing ores plays a key role in the rate and extent of mineral dissolution in heap bioleaching of low grade ores. In this paper, various aspects of this colonisation are considered, based on the research programme currently underway in the Centre for Bioprocess Engineering Research (CeBER) at the University of Cape Town, South Africa. These include initial microbial attachment to the ore, the development of firmly attached biofilms, the location of the microbial community with respect to the ore and the kinetics of microbial growth on the ore surface.

To date, colonisation studies have focused on microbial attachment of single species to mineral concentrate under batch conditions, not representative of the heap leaching environments. Here, the extension to flow systems is presented as is a methodology by which the selective attachment of micro-organisms to specific mineral phases can be studied. Further, the influence of physico-chemical conditions on attachment is considered.

Contaminant hydrology and soil engineering investigations have indicated significant interactions between microbial colonisation and fluid flow in porous systems. Therefore, heap hydrology is expected to affect microbial colonisation through solution-ore and microbe-mineral contacting. The influence of the irrigation rate on microbial colonisation has been assessed using columns packed with acid agglomerated low grade copper-containing ore, inoculated via irrigation with iron and sulphur oxidising mesophilic microorganisms, and operated under continuous flow conditions across a range of application rates (2, 6 and 18 L/m2.hr). A novel in-bed sampling technique allowed for the extraction of ore samples at intervals during the leaching process to give insight into the microbial growth as well as the location of the microbial community across the flowing liquid, interstitial liquid and ore surface. Further to this, rates of microbial cell proliferation for cultivation on low grade whole ore in a packed system are compared to growth on mineral concentrate or ferrous sulphate in a well mixed system. Through development of methodologies to assess these colonisation rates presented here, the groundwork is established for the quantitative assessment of the impact of heap conditions on microbial colonisation.

S 20 Agentes microbianos activos en un proceso industrial abierto y el ciclo del desarrollo de conocimiento científico-tecnológico.
(The development of new scientific knowledge from active microbial agents in an open industrial process).

Demergasso C[1,2], Galleguillos P[1,2], Acosta M[1], Soto P[1,2], Iturriaga V[1,2], Pinilla C[3], Davis S[3]

[1]Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Avda. Angamos 0610, Antofagasta, Chile. [2]Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería, Antofagasta, Chile. [3] Minera Escondida Ltda. Operada por BHPBilliton. cdemerga@ucn.cl

Los procesos industriales de biolixiviación son procesos continuos, abiertos y no estériles. Estas características permiten: i) la selección continua de los microorganismos más eficientes para asistir a la solubilización del mineral en las diferentes etapas del proceso; ii) la entrada de nuevos microorganismos y, iii) la transferencia de genes que mejoran las capacidades metabólicas de cepas para desarrollarse en el ambiente [1]. Por otro lado el proceso no es homogéneo. Entre otras cosas, cambian los minerales cargados en las pilas de acuerdo al plan de mina, y cambian las condiciones de lixiviación.

La comunidad microbiana que participa en el proceso de biolixiviación de minerales sulfurados de baja ley de Minera Escondida Ltda. ha sido monitoreada desde el inicio de la operación a nivel industrial. En este monitoreo periódico se utilizan técnicas de cultivo e independientes de cultivo. Mediante técnicas estadísticas y herramientas de minería de datos, se construyen modelos que permiten comprender la dinámica de las poblaciones microbianas en relación con los procesos geoquímicos y los parámetros metalúrgicos establecidos.

Los modelos nos revelan tanto características conocidas de los microorganismos que participan en el proceso, como evidencias de rasgos desconocidos de estas poblaciones. Mediante el estudio de los microorganismos crecidos en laboratorio, se investigan las hipótesis que provienen del estudio en la planta industrial y se hacen nuevos hallazgos cuyo impacto en el proceso es necesario verificar.

Discutiremos algunos ejemplos de estos hallazgos, entre los que citamos: i) Cambios de metabolismo de *At. ferrooxidans*; ii) una cepa de *At. ferrooxidans* que se comporta en forma diferente a las conocidas; ii) Una cepa de *L. ferriphillum* que, a diferencia de lo reportado, es capaz de fijar N_2. Se discutirán también las herramientas moleculares utilizadas y las que están en desarrollo, además de las herramientas utilizadas para el análisis de la gran cantidad de información generada en el proceso industrial.

De esta manera los procesos a escala industrial no son sólo aplicación del conocimiento desarrollado en laboratorio, sino un laboratorio donde se puede generar nuevo conocimiento.

Agradecimientos: FONDEF DO4i1169, Proyecto INNOVA 08CM01-03

1. Rawlings, D.E., *Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates.* Microb Cell Fact, 2005. **4**(1): p. 13.

S 21 Biotecnología en la minería del Cobre: Los ultimo 10 años y oportunidades a futuro (Biotechnology in the copper industry: The last 10 years and future opportunities)

Danny Castillo

Consultor Metalúrgico, ICT Ltda. danny.i.castillo@gmail.com

La biotecnología es una tecnología ecológica, ya establecida, que tiene infinidad de aplicaciones y que en la actualidad juega un papel esencial en la industria del cobre. El futuro promete aún más, porque la industria del cobre enfrenta grandes desafíos en términos de consumo de agua y energía y de contaminación ambiental.
La biominería ha desarrollado tecnologías limpias que actualmente está utilizando la minería del cobre, como es la biolixiviación en pilas y la bioremediación para el tratamiento de aguas contaminadas, otras tecnologías como es el caso de la biolixiviación de concentrados de cobre sólo han llegado hasta el pilotaje industrial. Esta revisión da cuenta del camino recorrido en el desarrollo de las tecnologías y también de las oportunidades que existen para mejorarlas y así incrementar la obtención de cobre a bajo costo con un proceso amigable con el medio ambiente. Además, se revisan aplicaciones como la bioflotación, biofloculación que se encuentran en etapa de desarrollo.
Finalmente, se revisará las oportunidades de usar microorganismos naturales para la desalinización de agua, disminuir la evaporación de agua en relaves y piscinas, cosechar la energía solar, depurar agentes contaminantes del medio ambiente, y mejorar el control de nuestros bioprocesos con biosensores.

S 22 Influencia de la concentración de impurezas en la capacidad oxidante de un cultivo nativo de Zaldivar
Influence of the impurities concentration on the capacity oxiding of a native culture from Zaldivar

Cautivo D[1], Demergasso [1], Encalada O[1] y Campos J[2]

[1]Centro de Biotecnologia Universidad Católica del Norte. [2]Metalurgista Compañia Minera Zaldivar S.A.

La utilización de especies nativas para la inoculación de procesos de biolixiviación de minerales sulfurados se ha vuelto una buena opción para la recuperación de cobre a partir de recursos de baja ley. La tecnología presenta grandes ventajas tanto económicas como medioambientales. Sin embargo, su utilización en la industria se ve limitada por las condiciones de operación, especialmente las elevadas concentraciones de impurezas de las soluciones industriales.
El objetivo de esta investigación fue obtener un cultivo mixto capaz de realizar la biolixiviación de minerales sulfurados a partir de soluciones de proceso, además de caracterizar las poblaciones microbianas y optimizar su actividad oxidante.
Las soluciones de proceso utilizadas para la obtención del cultivo se caracterizaron por una elevada concentración de impurezas como aluminio, sulfato, manganeso, cloro, entre otros. Estas especies se concentran en las soluciones debido, por una parte, a la disolución de los minerales que las contienen y, por otra parte, al agregado de ácido sulfúrico necesario para la acidificación del ambiente. Estas impurezas no son extraídas durante el circuito de biolixiviación-SX, y se concentran en las soluciones que retornan a lixiviar los minerales. La concentración de aluminio y sulfato de las soluciones de proceso fue de 12 y 140 g/L, respectivamente. Estos niveles han sido reportados como inhibitorios para la actividad microbiana oxidante.
El cultivo obtenido fue capaz de crecer en altas concentraciones de aluminio y sulfato. Sin embargo, presentó una baja actividad oxidante. La identificación microbiana por medio de DGGE mostró la presencia de especies hierro-oxidantes, *Leptospirillum ferriphilum, Acidithiobacillus ferrooxidans, y Ferroplasma acidiphillum*, y especies azufre-oxidantes *Acidithiobacillus thiooxidans*, y *Acidiphillum sp.* Estas especies microbianas ocurren en las operaciones de biolixiviación y son capaces de crecer a temperatura ambiente y pH 1,7.
Se estudió la cinética de crecimiento y oxidación del cultivo utilizando solución de planta como fuente de Fe II y un suplemento de azufre. Se pudo observar que la actividad hierro-oxidante fue inversamente proporcional a la concentración de impurezas y que se obtuvo mayor actividad en la medida que los cultivos tuvieron una etapa de adaptación al medio. La temperatura y pH de cultivo óptimos fueron 25°C y 2, respectivamente.

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN I

[illegible]0 horas SALA K-120

I 1 La interacción inicial de *Salmonella* Typhi y Typhimurium con células epiteliales requiere residuos diferentes en el core externo del LPS.

(Different sugar residues of the lipopolysaccaride outer core are required for early interactions of serovars Typhi and Typhimurium with epithelial cells).

Bravo D[1], Hoare A[1],. Álvarez S[1], Valenzuela C[1], Salinas C[1], Valvano M[2], Contreras I[1]

[1] Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. denisseb@gmail.com. [2] Infectious Diseases Research Group, Center for Human Immunology, Department of Microbiology and Immunology, The University of Western Ontario, London, Canada.

El papel del lipopolisacárido (LPS) en la internalización de *Salmonella* Typhimurium a células epiteliales no ha sido completamente dilucidado. En este estudio, probamos la capacidad de una serie de mutantes con deleciones en genes de la biosintesis y ensamblaje del Antígeno O (AgO) y del core externo del LPS para adherirse e invadir células epiteliales HeLa, BHK e IB3. Nuestros resultados mostraron que las mutantes que carecen de AgO, las que sintetizan sólo una unidad de AgO, o que presentan una distribución alterada en el largo de cadena preferencial, fueron capaces de invadir células epiteliales tan eficientemente como la cepa silvestre, indicando que el AgO no es necesario para el proceso invasivo. Por el contrario, la región del core sí participa en la interacción de *S.* Typhimurium con células epiteliales, ya que mutantes que carecen de una galactosa terminal en el core externo presentaron niveles de adherencia e invasión significativamente más bajos que la cepa silvestre. Por lo tanto, la estructura mínima requerida para la invasión involucra la región del core interno y los residuos Glc I-Gal I del core externo. La complementación en la producción de LPS de las cepas mutantes provocó la recuperación del fenotipo invasivo a niveles normales. Además, ensayos de adherencia realizados en presencia de bacterias inactivadas por calor que contienen expuesto el residuo galactosa del core, inhibieron la adherencia y subsecuente internalización de la cepa silvestre por células HeLa. Por otro lado, una comparación de la estructura química del core de *S.* Typhi con la *S.* Typhimurium indicó que el esqueleto Glc I-Gal I-Glc II del core externo es conservado en ambos serovares. Sin embargo, *S.* Typhi require de un residuo terminal Glc II para lograr la invasión a células epiteliales. Por lo tanto, estos resultados indican que residuos glucosídicos presentes en el core externo tienen papeles diferentes en la interacción inicial de *S.* Typhi y *S.* Typhimuirum con células epiteliales.
Agradecimientos: proyectos FONDECYT 1040562 y ANILLO ACT 08/06, Beca CONICYT de apoyo de Tesis Doctoral, Beca de estadías cortas de investigación de la Universidad de Chile (2007), Beca CONICYT de pasantías en el extranjero (2008) y Beca MECESUP de término de tesis (2009).

I 2 Sistemas de Secreción de Proteínas del Tipo VI: Genómica comparativa, aspectos evolutivos y papel en la patogenicidad de *Salmonella*.
(Type VI Secretion Systems: Comparative genomics, evolutionary aspects and role in *Salmonella* pathogenesis).

Blondel C.J.[1], Jimenez J.C., Andrews-Polymenis H.L.[2], Castro B.[3], Chiang S.[3], Toro C.[3], Zaldivar M., Contreras I.[1] y Santiviago C.A.[1]

[1]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile, [2]Department of Microbial and Molecular Pathogenesis, College of Medicine, Texas A&M University System Health Science Center, College Station, Texas, United States of America, [3]Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. cblondel@ciq.uchile.cl

Dentro de las herramientas utilizadas por las bacterias para modular el ambiente y la respuesta del hospedero que colonizan, se encuentran una variedad de sistemas especializados de secreción de proteínas. Recientemente, se ha descrito un nuevo sistema denominado Sistema de Secreción de Proteínas Tipo VI (T6SS). Si bien estos sistemas se han identificado en numerosos genomas bacterianos, la información sobre su presencia y distribución en el género *Salmonella* es limitada. En este trabajo se identificó la presencia de islas genómicas que codifican para T6SS en el género *Salmonella* y se analizó la contribución de estos sistemas a la patogenicidad de distintos serotipos. Análisis bioinformáticos detectaron 5 islas que codificarían T6SS funcionales. Además de la ya descrita "Isla de Patogenicidad 6 de *Salmonella*" (SPI-6), identificamos otras 4 islas que denominamos SPI-19, SPI-20, SPI-21 y SPI-22. SPI-19 está presente en los serotipos Enteritidis y Gallinarum, que constituyen importantes problemas de salud pública y para la producción aviar, respectivamente. Mientras Gallinarum posee una versión completa de SPI-19, Enteritidis posee una versión trunca, sugiriendo que no posee un T6SS funcional. A través de un modelo de infección aviar demostramos que SPI-19 contribuye a la colonización de aves por Gallinarum. Sin embargo, cuando se introdujo la SPI-19 completa en Enteritidis, ésta no pudo colonizar eficientemente a las aves. Mediante fusiones génicas y de operón demostramos que componentes del T6SS se expresan diferencialmente al interior de células eucariontes. Utilizando células epiteliales HeLa y macrófagos RAW264.7, demostramos que si bien SPI-19 no participa en la invasión de células epiteliales, contribuye a la supervivencia de Gallinarum dentro de macrófagos a tiempos tardíos de infección. Estos datos indican que SPI-19 codifica para un T6SS funcional importante para la supervivencia de *Salmonella* dentro de macrófagos, contribuyendo a la colonización de aves de postura por Gallinarum.

Financiado por proyectos Anillo ADI-08/2006 y FONDECYT 1100092.

I 3 Inducción de inmunidad anti-Salmonella en ratones mediante la vacunación oral con una cepa de S. Enteritidis carente de un profago serovar-específico

Araya D[1], Tobar H[1], Quzada C[2], Santiviago C[2], Riedel C[1,3], Kalergis A[1,4], Susan Bueno[1]

[1]Núcleo Milenio en Inmunología e Inmunoterapia, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. [3]Departamento de Farmacología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello y [4]Departamento de Reumatología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. sbueno@bio.puc.cl

Salmonella enterica serovar *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) es una enterobacteria patógena, causante de un amplio rango de enfermedades en roedores, aves y humanos. El genoma completo de esta bacteria ha sido totalmente secuenciado y en éste se han identificado genes que posiblemente fueron adquiridos mediante transferencia horizontal, cuya función no ha sido dilucidada aún. Mediante estudios bioinformáticos, identificamos un grupo de genes específicos de esta bacteria, asociados a un profago incompleto denominado ϕSE12. En este estudio generamos una cepa de S. Enteritidis carente de este profago y evaluamos su capacidad de causar una enfermedad sistémica en ratones. La cepa carente de ϕSE12 no fue capaz de causar una enfermedad letal en ratones tras una infección oral, a diferencia de la cepa de S. Enteritidis virulenta, que causa la mortalidad del 100% de los ratones tras 10 días de infección. Además, observamos que los ratones previamente infectados con la cepa carente de ϕSE12 sobrevivían a un desafío oral con la cepa virulenta. Finalmente, los ratones inmunizados con la cepa carente de ϕSE12 y desafiados con la cepa virulenta poseían linfocitos T en el bazo que secretaban cantidades significativamente altas de IFN-γ tras la estimulación con antígenos derivados de Salmonella. Nuestros resultados sugieren que la cepa de S. Enteritidis carente de ϕSE12 podría ser utilizada como una vacuna oral para inducir una eficiente respuesta inmune anti-Salmonella.
Financiamiento. FONDECYT-CHILE 1070352, 1050979, 11075060, 1040349, Anillo ADI-08/2006, Red-15 PBCT, and Millennium Nucleus on Immunology and Immunotherapy (P04/030-F).

4 Caracterización del complejo binario [SdiA/AHL] en la transcripción del operón *ftsQAZ* ¿Una relación entre quorum sensing y división celular?
(Characterization of the binary complex [SdiA/AHL] in the transcription of the ftsQAZ operon. There is a correlation between quorum sensing and celular division?)

Gallardo MJ[1], Guiliani N[1], Prevelige PE Jr[2], Bustamante C[3], Monasterio O[1]

[1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. [2]Department of Microbiology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, USA., [3]University of California, Berkeley, California, USA., Howard Hughes Medical Institute, Berkeley, California, USA. mjgn23@gmail.com

El mecanismo de comunicación celular en bacterias se conoce como "quorum sensing" (QS). El sistema de QS más estudiado en bacterias Gram-negativas es el de tipo AI-1. En este tipo de señalización están involucradas dos familias de proteínas, la familia de proteínas R compuesta por reguladores transcripcionales cuya actividad depende de AHLs y la familia de proteínas I compuesta por sintasas de AHLs. Las AHLs son moléculas orgánicas pequeñas que se acumulan en el medio proporcionalmente al aumento de la densidad celular. Mediante este mecanismo de comunicación celular se regulan procesos fundamentales de la fisiología bacteriana como por ejemplo, la síntesis de exoenzimas, conjugación, síntesis de exopolisacáridos (EPS), producción de antibióticos, bioluminiscencia y formación de biopelículas. En la bacteria Gram-negativa *Escherichea coli* se identificó una proteína homóloga a los reguladores transcripcionales de tipo R pero no se encontraron genes que codifiquen para la sintasa de AHLs ni tampoco AHLs en los sobrenadantes de cultivos celulares. Este regulador transcripcional, denominado SdiA, se asoció a la transcripción del operón *ftsQAZ*. Este transcrito da origen a las proteínas que forman parte fundamental de la maquinaria de división celular en *E. coli*. La literatura indica que existe una relación entre QS y división celular, pero aun no se ha determinado el efecto que poseen las AHLs sobre la transcripción de estos genes y sobre el mecanismo de división celular. Nuestro objetivo es dilucidar el efecto del complejo [SdiA/AHL] sobre la transcripción del operón *ftsQAZ* y con esto determinar si la proteína reguladora SdiA identificada en *E. coli* es un regulador transcripcional que responde a moléculas producidas por otras especies bacterianas o si es un regulador transcripcional no relacionado con el mecanismo de comunicación celular. Para esto identificamos mediante la técnica de intercambio isotópico el cambio conformacional de la proteína en presencia de AHL además del cambio en el estado de agregación de la proteina. Para evaluar la unión de la proteina a la secuencia específica en el DNA realizamos experimentos de anisotropía de fluorescencia, dicroísmo circular de ácidos nucleicos y microscopía de fuerza atómica (AFM).

TRABAJOS DE INCORPORACIÓN II

09:00 - 10:40 horas SALA K-121

5 Environmental distribution of arsenate reductase genes in Andean wetlands with different As concentration of Northern Chile
(Distribución ambiental de los genes arseniato reductasa en zonas andinas con diferentes concentraciones de As en el Norte de Chile)

Lorena Escudero[1,3], Casamayor EO[2], Nuñez C[1], Demergasso C[1,3], Chong G[1,3], Pedrós-Alió C[4]

[1]Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería, Región de Antofagasta, Chile. lescudero@ucn.cl. [2]Unitat de Limnologia, Centre d'Estudis Avançats de Blanes (CSIC), Blanes, Spain. [3]Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. [4]Departament de Biologia Marina i Oceanografia, Institut de Ciències del Mar (CSIC), Barcelona, Spain.

The presence of As processing genes was determined in a series of water samples and sediments from a wide array of As-rich environments in the Pre-Andean Depression and Altiplano of Northern Chile. A PCR approach was used to detect *arrA* and *arsC* genes. The performance of different primer sets previously used with enriched samples and laboratory strains, were tested in a wide range of complex environmental samples at a regional scale. In addition, we carried out estimations of viable As precipitating bacteria in most probable number incubations. A large proportion of total bacteria in sediments were retrieved as As precipitating bacteria, i.e., approximately half of total counts in four out of six samples. The arsenate reductase *arsC* gene was only found in natural samples with As concentrations lower than 4 ppm. In turn, arsenate respiratory *arrA* was detected in all samples analyzed covering a range between 0.4 and 6,504 ppm total As, suggesting that the potential for mobilizing As from the solid phase was higher at the highest end of the gradient. Overall, data indicated that As respiration metabolism in the rich As sediments of Salar de Ascotán is a very significant process.

I 6 Identificación y estudio de los aspectos biológicos básicos de protozoos depredadores de la microalga *Haematococcus pluvialis*, en el Norte de Chile: morfología, ciclo de vida, reproducción y preferencias alimentarias. (Identification and study of basic biological aspects of protozoa predators of the microalgae *Haematococcus pluvialis*, in northern of Chile: morphology, life cycle, reproduction and food preferences.)

Sergio E. Morales

Ingeniería en Acuicultura, Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar, Dirección de Investigación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. sergio.morales@uantofagasta.cl

Con el propósito de generar conocimientos para la industria de Biotecnología Acuícola emergente en el Norte de Chile, el cultivo masivo de microalgas, se estudiaron los aspectos biológicos básicos de protozoos depredadores de la microalga *Haematococcus pluvialis*, la cual es cultivada a nivel mundial para la extracción del pigmento antioxidante astaxantina, estos protozoarios provocan el rápido colapso de los cultivos, por lo que constituyen un serio problema de contaminación biológica. Dicho microorganismo fue cultivado con *Haematococcus pluvialis, Botryococcus braunii* y *Muriellopsis sp.* como presas. Para microscopía óptica de luz, se utilizaron técnicas de inmovilización y observación de células vivas: ajuste de la viscosidad del medio, agitación, cambios de temperatura y métodos de captura mecánica. Las células de alimentación o trofozoitos tienen forma arriñonada, con su extremo anterior aguzado y su extremo posterior redondeado, cara ventral cóncava con dos largos flagelos insertados subapicalmente bajo el rostrum, un núcleo anterior y una vacuola alimenticia posterior, presentan rápidos movimientos de natación ondulatorios sobre su eje longitudinal. Se alimentan por mizocitosis, atacando de manera agresiva la superficie de la presa con su ápice o complejo apical hasta penetrar la pared celular de la microalga, formando un puente citoplasmático por el cual succionan completamente el citoplasma de la presa, acumulándolo en la vacuola posterior y aumentando de tamaño considerablemente, dejando la célula microalgal totalmente vacía. Una vez alimentados a saciedad pierden los flagelos y forman un quiste de reproducción, en el cual ocurre la digestión del contenido de la vacuola alimenticia y reproducción asexual, donde la célula se divide en cuatro nuevos trofozoitos. También se observó reproducción sexual mediante conjugación y quistes de resistencia en cultivos antiguos. De acuerdo a su morfología, estrategia reproductiva, tipo de alimentación, preferencias alimentarias y ciclo de vida, se concluye que pertenecen al Infrareino Alveolata, Phylum Myzozoa, Subphylum Apicomplexa, Clase Apicomonadea, Familia Colpodellidae, Orden Algovorida, Género Algovora. Sin registro anterior para Chile.
Financiamiento: Proyecto financiado por el "Fondo de Investigación Trabajos de Investigación o Tesis de Gado" de la Dirección de Investigación de la Universidad de Antofagasta.

I 7 El humo de tabaco induce la formación de biofilms bacterianos a nivel nasosinusal.

Natalia Goldstein-Daruech[1,2,3], González B[3], Palmer JN[1], Cohen NA[1,2,3]

[1]Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, University of Pennsylvania, Philadelphia, U.S.A. [2]Pontificia Universidad Católica de Chile, PhD program Medical Science, Santiago, Chile. [3]Facultad de Ingeniería y Ciencia, Universidad Adolfo Ibáñez, Santiago, Chile. nataliagoldstein@gmail.com

Los fumadores activos como pasivos, son más susceptibles a tener infecciones durante su vida que aquellos individuos no fumadores.
Aunque se conocen los efectos devastadores que el humo del tabaco produce a nivel del cuerpo humano poco es lo que se sabe del efecto del mismo a nivel de las bacterias que forman parte de la microbiota normal y de las patógenas que se encuentran en el tracto respiratorio del ser humano.
La rinosinusitis crónica (RSC) es un tema de consulta médica común, que afecta anualmente a un 16% de la población de los Estados Unidos, con un costo agregado de $6 billones. Epidemiológicamente los estudios muestran una correlación entre la exposición al humo del tabaco y la RSC. No se ha podido definir una única causa etiológica, sin embargo se sabe que la presencia de bacterias a nivel nasal y cavidades paranasales contribuyen a la misma. En este trabajo demostramos que la exposición repetida al humo del tabaco induce la formación de biofilms en un diverso conjunto de bacterias aisladas de la mucosa de los senos paranasales de pacientes con RSC. A su vez, bacterias aisladas de pacientes expuestos al humo del tabaco presentan una formación robusta de biofilms *in vitro* cuando son sometidos a la exposición del humo de tabaco comparado con aquellos pacientes no fumadores. Por último las bacterias de los pacientes fumadores revierten su fenotipo a uno no formador de biofilms cuando se las crece en ausencia del humo del tabaco.
Estas observaciones apoyan la hipótesis de que la exposición al humo del tabaco induce la formación de biofilms a nivel nasosinusal, convirtiendo una infección transitoria médicamente tratable, a una infección persistente y terapéuticamente recalcitrante.

COMUNICACIONES LIBRES ORALES I
15:30 - 17:30 Sala K-120

1 Caracterización molecular y bioquímica de cepas ambientales y clínicas de *Vibrio parahaemolyticus* y evaluación de su respuesta a factores abióticos.
(Molecular and biochemical characterization of environmental and clinical *Vibrio parahaemolyticus* strains and evaluation of response to abiotic factors).

Apablaza M, Riquelme C, Hengst MB

Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar & Centro de Bioinnovación de Antofagasta (CBIA), Universidad de Antofagasta. M.A.V.2010.lab@gmail.com

Vibrio parahaemolyticus, es un bacilo gram negativo, ampliamente distribuido en ambientes marinos y conocido como el mayor agente causante de gastroenteritis por consumo de moluscos crudos o poco cocinados. La patogenicidad de *V. parahaemolyticus* está determinada por la presencia de factores de virulencia entre los cuales se han identificado al menos 3 proteínas del tipo hemolisinas: Hemolisina Termolábil (TLH), Hemolisina Directa Termoestable (TDH) y Hemolisina Relacionada a TDH (TRH), siendo TDH y TRH las asociadas a casos clínicos. La identificación rápida de *Vibrio parahaemolyticus* es realizada mediante la detección de β-hemólisis en agar Wagatsuma (Fenómeno de Kanawaga, KP), fenotipo positivo para cepas clínicas pero no para aislados ambientales. Las cepas patógenas de *V. parahaemolyticus* corresponden a < 2% de los aislados ambientales, y la detección temprana, junto con el estudio de las variables ambientales que influyen sobre su crecimiento, son fundamentales para establecer planes preventivos de salud pública.
En este trabajo se seleccionaron 5 aislados clínicos y 5 ambientales obtenidos de Antofagasta, Caldera y Puerto Montt. Los aislados fueron caracterizados por pruebas bioquímicas y marcadores moleculares para la detección de genes de virulencia (*tlh*, *tdh*, *trh*, *orf8*). Además se evaluó el efecto de factores ambientales como temperatura y salinidad sobre el crecimiento. Los resultados mostraron que tanto cepas ambientales como clínicas presentaron el mayor crecimiento a los 37°C y a una salinidad de 30 gL^{-1}, independientes de su procedencia. Los genotipos identificados fueron: 1) *tlh+*, *tdh+*, *trh-*, orf8+, KP+ para los aislados clínicos de Antofagasta y Puerto Montt; 2) *tlh+*, *tdh+*, *trh+*, orf8-, KP+ para el aislado clínico de Caldera y 3) *tlh+*, *tdh+*,*trh-*, *orf8-*,KP+ para las cepas ambientales. Las pruebas bioquímicas demostraron que todos los aislados fueron Oxidasa (+), Catalasa (+), Vogues Proskauer (-), Ornitina descarboxilasa (+), Ureasa (-), excepto el aislado de Caldera que fue Ureasa (+). Actualmente se está trabajando en la evaluación del efecto de la radiación UV y metales pesados en el crecimiento de las poblaciones de *Vibrio parahaemolyticus*, como posibles variables determinantes de la ausencia de nuevos brotes de este patógeno en la Bahía de Antofagasta.
Financiamiento: Proyecto de Iniciación UA-1363 y FONDEF MR071006

L. ferrooxidans como modelo de adaptar metal en ambiente extremo

2 Adhesión de cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica a proteínas de matriz extracelular (Binding of Enterohemorragic *Escherichia coli* 0157:H7 to Extracellular Matrix proteins)

Cantero L[1], Vidal R[2], Torres AG[3], Farfan MJ[1]

[1]Centro de Estudios Moleculares, Departamento de Pediatría, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna. [2]Programa de Microbiología, Instituto de Ciencias Biomédicas. [3]Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. Department of Microbiology and Immunology, Department of Pathology and Sealy Center for Vaccine Development, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas. mfarfan@med.uchile.cl

La adherencia de cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) al epitelio intestinal es un aspecto clave del proceso infeccioso de este patógeno. De los factores de adhesión descritos en EHEC, la proteína intimina es considerada el principal factor de adherencia de EHEC a células intestinales. Sin embargo, la existencia de cepas que no expresan intimina capaces de adherirse a células epiteliales, junto a la descripción de nuevos factores de adherencia en EHEC, indicarían la existencia de otros mecanismos de adhesión utilizados por cepas de EHEC, diferentes de intimina. Por otra parte, diversos estudios han descrito que componentes de la matriz extracelular (ME) tienen la capacidad de actuar como potenciales receptores de patógenos bacterianos, pudiendo desempeñar un papel importante en el proceso de adhesión de estos microorganismos. En este trabajo se observó la adhesión de cepas EHEC O157:H7 de referencia y aislados clínicos a superficies recubiertas con las proteínas de ME fibronectina, laminina y colágeno tipo IV, mediante ensayos de unión en fase sólida y ELISA. Se encontró, además, diferencias significativas en la capacidad de adhesión a proteínas de ME entre las cepas de referencia de EHEC EDL933 y 86-24 y mutantes isogénicas para Curli, Flagelina y LPF. Tomando en cuenta que estas estructuras participan en la adhesión de EHEC, estos resultados sugieren la participación de estos factores en la unión de EHEC a proteínas de ME. Paralelamente, ensayos de adhesión de EHEC a células T84 preincubadas con proteínas de ME, mostraron un incremento en la adhesión de este patógeno. En conclusión, los resultados de este trabajo indican que EHEC tiene la capacidad de adherirse a proteínas de ME y sugieren la participación de estas proteínas en la adhesión de EHEC a las células intestinales.

3 Determinación del rol de histidina 208 de la integrasa del virus de la leucemia murina de Moloney (M-MuLV). (Determination of the role of histidine 208 of Moloney murine leukemia virus (M-MuLV) integrase).

Castillo A, Fuentes Y, Acevedo M, León O

Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Una etapa esencial en ciclo replicativo de los retrovirus es la integración del DNA viral en el genoma huésped, reacción catalizada por la enzima integrasa (IN). Este proceso consta de dos etapas; un procesamiento del extremo 3' del LTR (*long terminal repeat*) y la posterior integración dentro del genoma de la célula hospedera a través de una reacción de trans-esterificación. En el virus de la leucemia murina de Moloney (M-MuLV) la enzima IN posee 408 aminoácidos y presenta tres dominios, el dominio N-terminal que posee un dominio HHCC de unión a Zn^{+2}, el dominio central catalítico altamente conservado y el dominio C-terminal que une DNA. En el dominio central catalítico existe una región con alto grado de flexibilidad, el cual coincide con una zona en forma de asa, en donde algunos aminoácidos interactuarían con los extremos 5 ss del LTR procesado. Por homología en las secuencias de INs de varios retrovirus y estudios de

modelamiento, se determinó que el asa de la IN de M-MuLV comprende desde los aminoácidos 208 al 218. En nuestro laboratorio se demostró que al reemplazar la histidina 208 por alanina se pierde completamente la actividad. Con el propósito de determinar el rol de H208, se construyeron las siguientes sustituciones por mutagénesis sitio dirigida: H208N, H208R, H208G y H208E. Las IN mutantes se purificaron y se analizaron mediante ensayos de integración. Se observó que las sustituciones H208N y H208R poseen 82 % y 35% de la actividad de integración concertada, con respecto a la enzima nativa. En cambio las sustituciones H208G y H208 E poseen 15% y 10% de actividad. Estos resultados indican que la histidina no es un residuo esencial para la catálisis. Sin embargo este residuo podría estar involucrado en la unión del sustrato a través de puentes hidrógenos debido a que puede ser reemplazado por asparragina. Otra posibilidad es que algunas sustituciones en His 208 alteren la conformación del loop flexible de manera que afecten la interacción proteína-proteína necesaria para la formación del complejo de integración. Estas dos hipótesis serán discutidas en este trabajo.

4 Efecto del hierro en la expresión de los genes de la maduración del sistema productor de Microcina E492. (Iron effect on the expression of the maturation genes from the Microcin E492 producer system).

Gutiérrez S[1], Vogel J[2], Monasterio O[1], Lagos R[1]

[1]Laboratorio Biología Estructural y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2]RNA Biology Group, Max Planck Institute for Infections Biology, Berlin.

La microcina E492 (MccE492), un péptido antibiótico producido por *Klebsiella pneumoniae RYC492*, puede hallarse en dos formas: no modificada o modificada de forma postraduccional. La modificación es necesaria para que la MccE492 adquiera actividad antibacteriana y depende de la expresión de los genes de maduración (*mce*C y *mce*JI) que se localizan en el cluster genético productor. La región regulatoria de *mce*JI contiene secuencias funcionales para la unión del regulador de incorporación de hierro Fur (cajas Fur). En este trabajo, estudiamos la influencia del hierro en la expresión de los genes de la maduración. Ensayos de 5'RACE muestran que el sitio de inicio de la transcripción de *mce*JI se encuentra río arriba de la caja Fur predicha. Además, la expresión de la unidad está acoplada a la de *mce*X, un nuevo gen dentro del sistema productor de la MccE492. Utilizando fusiones tradicionales *mceJ'-'lacZ* fue posible determinar que la expresión de la unidad depende de la fase de crecimiento, de la cantidad de hierro en el medio de cultivo y que está directamente controlada por Fur. Además, analizamos el efecto de RyhB, otro regulador en el metabolismo del hierro en la expresión de la unidad *mce*JI. Los resultados de los ensayos en ausencia y sobreexpresión de *ryh*B muestran que este sRNA no provoca cambios importantes en la expresión de la unidad *mce*JI ni *mce*C. Por otro lado, la expresión de *mce*C parece ser constante a lo largo de la curva de crecimiento. Por lo tanto, en este trabajo establecimos que el hierro, a través de Fur, controla directamente la expresión de los genes de la maduración *mce*JI.

Agradecimientos: Becas DAAD y Proyecto Fondecyt 1100141

5 **Caracterización de la proteína SigA de *Shigella flexneri* y su papel en la interacción con células epiteliales. (Role of Shigella flexneri SigA protein in the interaction with epithelial cells)**

Marcoleta AA, Bravo V, Santiviago CA, Toro CS

Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. amarcoleta@uantof.cl

La shigelosis representa un problema de salud pública en países en vías de desarrollo. El cuadro clínico se caracteriza por diarrea acuosa, que a menudo progresa a sanguinolenta y mucosa. La mayoría de los genes de virulencia que explican el ciclo infectivo de *Shigella* se encuentran en un plásmido de virulencia de 220 kb. En la actualidad, son pocos los genes cromosomales descritos en esta bacteria que participan directamente en este fenotipo. Dentro de los factores de virulencia cromosomales de *Shigella*, se encuentran las proteínas autotransportadoras. La isla de patogenicidad (PAI) *she* o SHI-1 de *S. flexneri 2a* codifica la proteína SigA, que de acuerdo a su secuencia génica pertenece a la familia de proteínas autotransportadoras SPATE (Autotransportadores Serino Proteasa de *Enterobacteriaceae*), reconocidos factores de virulencia en otros patógenos. Estudios *in vitro* han demostrado que SigA posee actividad proteolítica sobre fodrina epitelial y propiedades citopáticas y enterotóxicas. Sin embargo, no se ha logrado determinar si la actividad proteolítica de SigA se encuentra relacionada con mecanismos de patogenicidad de *Shigella*. Con el objeto de evaluar la participación de SigA en la capacidad de *S. flexneri* de invadir y diseminarse en células epiteliales, se construyó una cepa mutante por deleción del gen *sigA* (*ΔsigA::FRT*), utilizando el método de reemplazo alélico. Resultados preliminares muestran que el número de placas de lisis producida por la cepa *ΔsigA::FRT* es considerablemente menor al de la cepa silvestre *S. flexneri 2a* 2457T, indicando una disminución en la invasividad de la bacteria. Respecto al diámetro de las placas, éstas no muestran diferencias significativas que indiquen una alteración en la capacidad de diseminación. Estos resultados sugieren que la presencia del gen *sigA* favorece la interacción de *S. flexneri* con las células epiteliales.
Agradecimiento: Proyecto Anillo ADI-08/2006.

6 **Microbiota de salmónidos y su efecto en la expresión de genes en modelo Pez Cebra axénico (Salmon microbiota and their effects on the immune system of the host using germ free zebrafish)**

Urzua V; Opazo R, Navarrete P, Romero J

Laboratorio de Biotecnología, INTA, Universidad de Chile

Los componentes más significativos de la microbiota del salmón fueron introducidos en pez cebra axénicos con el objetivo de determinar el efecto de las diferentes bacterias sobre genes del sistema inmune de los peces. Se utilizaron cepas frecuentes y comunes en peces sanos, según las descripciones previas de la microbiota de salmónidos publicadas por nuestro grupo (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Lactococcus* etc). Larvas de pez cebra axénico de 3 días postfertilización (dpf), fueron incubadas en monoasociación con bacterias a una concentración de 10^5 bacterias /mL. Se mantuvieron en incubación a 28°C hasta el 6dpf, momento en que se sacrificaron. Para la extracción de RNA se utilizó el protocolo de trizol. Los genes propuestos para estudiar expresión relacionada a estimulación del sistema inmune corresponden a citoquinas pro-inflamatorias como IL-1B, TNF alpha, mieloperoxidasa y a la proteína de fase aguda *saa*. Además se incluyeron los genes regulatorios más estudiados TGF-b e IL-10. Para la amplificación de los genes, se utilizaron partidores descritos en literatura y otros fueron diseñados y estandarizados bajo las condiciones apropiadas para nuestros

equipos y reactivos. Todos los cálculos de expresión relativa de cada gen se realizaron con Pez axénico como referencia. La expresión de genes regulatorios presentaron una muy baja inducción transcripcional lo que se condice con muy bajos niveles transcripcionales descritos en tejidos sanos de otros peces. La identificación de microorganismos con tendencia pro inflamatoria se basó en la capacidad de inducir fuertemente los genes IL-1B, TNFa y saa. Este es el caso de las cepas de algunos de los gram negativos ensayados, tales como cepas de *Pseudomonas*, *Aeromonas y Shewanella*. Al mismo tiempo, aquellos microorganismos que presentaron un menor nivel de inducción de dichos genes, fueron considerados como anti inflamatorios. En ellos se cuentan varias cepas de bacterias lácticas como *Lactococcus*, *Pediococcus* y *Carnobacterium*.

Agradecimientos: FONDECYT 1080480

7 *mazEF*$_{ICEAf1}$: un sistema Toxina-Antitoxina de *Acidithiobacillus ferrooxidans* que forma parte del genoma flexible.

(*mazEF*$_{ICEAf1}$: a Toxin-Antitoxin system from *Acidithiobacillus ferrooxidans* that is part of the flexible genome)

Bustamante P, Orellana O

Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. paulac_ba@yahoo.com

Los sistemas Toxina-Antitoxina (TA) corresponden a loci génicos que participan en la mantención de la información genética y en la respuesta a estrés. Se clasifican en dos tipos dependiendo de la naturaleza de la antitoxina, siendo siempre la toxina de naturaleza proteica. En los sistemas de tipo I, la antitoxina es un RNA pequeño complementario al mRNA de la toxina. En los de tipo II la antitoxina corresponde a una pequeña proteína inestable que secuestra a la toxina a través de la formación de un complejo. Las toxinas del tipo II afectan principalmente los procesos de replicación o traducción. En el sistema *mazEF* de *E. coli* la toxina (MazF) es una endonucleasa que hidroliza RNA en la secuencia ACA. Así, esta toxina afecta la traducción de los mRNAs y altera el crecimiento bacteriano. Los loci TA se han asociado a la mantención de genes cromosomales y de elementos móviles tales como los elementos integrativos y conjugativos (ICEs).

La bacteria biolixiviante *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 posee un ICE de aproximadamente 300 kpb, denominado ICE*Af*1, que se escinde de su localización cromosomal y se circulariza. Este ICE codifica para genes que presentan similitud con el sistema *mazEF* de *E. coli* y se organizan en un operón característico de estos sistemas. El objetivo de este trabajo es caracterizar el sistema MazEF$_{ICEAf1}$, demostrando que estos genes codifican para un sistema TA de tipo II funcional.

Ambos genes se clonaron en un vector de expresión dual (pET-Duet-1, Novagen) con el fin de analizar los efectos *in vivo* al sobreexpresar las proteínas en *Escherichia coli*. Además, se purificó ambas proteínas y se realizaron ensayos *in vitro* para analizar la formación del complejo y demostrar la capacidad de la toxina de degradar RNA.

La sobreexpresión de la toxina ((His)$_6$-MazF$_{ICEAf1}$) produce la detención del crecimiento de *E. coli*, lo cual se revierte al co-expresar la antitoxina (MazE$_{ICEAf1}$). Estas proteínas forman un complejo *in vivo* el cual también se está analizando mediante ensayos *in vitro*. La toxina (His)$_6$-MazF$_{ICEAf1}$ posee actividad endorribonucleasa, la cual es suprimida por la antitoxina. La especificidad de corte de MazF$_{ICEAf1}$ se está investigando. Además, se está analizando la expresión *in vivo* del sistema TA en *A. ferrooxidans* ATCC 23270 así como las características de su región promotora.

Este sistema TA podría participar en la mantención del ICE*Af*1 en *A. ferrooxidans* ATCC 23270.

Financiamiento: Fondecyt 1070437

COMUNICACIONES LIBRES ORALES II
15:30 - 17:30 Sala K-121

8 Genómica comparativa de la respuesta a estrés oxidativo en organismos acidófilos (Comparative genomics of the oxidative stress response in acidophilic microorganisms)

Cárdenas JP[1,2], Arenas M[1,3], Demergasso C[4], Galleguillos P[4,6], Acosta M[4], Holmes DS[1,2], Levicán G[5], Quatrini R[1]

[1]Fundación Ciencia para la Vida. Santiago, Chile. [2]Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello. Santiago, Chile. [3]Universidad de Talca, Talca, Chile. [4]Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. [5]Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago, Chile. [6]Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería, Antofagasta, Chile. juan.pablo.cardenas@gmail.com

El estrés oxidativo, principalmente mediado por especies reactivas de oxígeno (ROS), es un fenómeno universal contra el cual los microorganismos, aeróbicos y anaeróbicos, han desarrollado respuestas integrales de defensa. En medios acídicos, las altas concentraciones de hierro, cobre y varios metales pesados, sumado al alto requerimiento de oxígeno propio del metabolismo quimioautotrófico, hace a los microorganismos que habitan este tipo de ambientes, particularmente susceptibles de experimentar estrés oxidativo.
El análisis genómico de 43 microorganismos acidófilos, varios de ellos involucrados en procesos de biolixiviación, ha permitido comenzar a esclarecer las estrategias de respuesta a estrés oxidativo en estos microorganismos. La deficiencia en sistemas de eliminación de ión peróxido y el enriquecimiento en genes codificantes para peroxiredoxinas y otros sistemas de reparación de proteínas y lípidos, sugiere una participación activa de los sistemas de mitigación del estrés, enfocado más en la reparación del daño causado que en la prevención del mismo. Adicionalmente, la falta de proteínas regulatorias clásicas en respuesta a estrés oxidativo, como OxyR, SoxRS, Fnr y ArcAB, sugiere la existencia de sistemas de regulación alternativos. En dicho contexto, genes predichos que codifican para las proteínas regulatorias de la familia FUR (Fur/Zur/PerR), presentes en prácticamente todos los genomas analizados, emergen como posibles genes candidatos de estrés oxidativo en acidófilos. Otras proteínas, tanto de arqueas como de bacterias, fueron analizadas como candidatas a poseer un rol en estrés oxidativo, entre ellas rubreritrinas, flavoproteínas, NAD oxidasas y sistemas de mantenimiento de puentes disúlfuro.
Financiamiento: Innova 08CM01-03, Fondecyt 1100887 and 1090451 y Becas de Doctorado CONICYT.

9 Diversidad y abundancia de bacterias fotótrofas aerobias anoxigénicas en salares del Altiplano Chileno (Diversity and abundance of aerobic anoxigenic phototrophic bacteria in evaporitic basins of the Chilean Altiplano)

Meneses Escudero D, Vejar Moya D, Dorador Ortiz C,

Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar, & Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

La fotosíntesis bacteriana anoxigénica está representada en miembros de 7 filos: *Alpha-*, *Beta-*y *Gamma- proteobacteria*, *Chlorobi* (bacterias verdes del azufre), *Chloroflexi*, *Acidobacteria* y *Firmicutes*, cuyos miembros pueden realizar fotosíntesis anoxigénica en condiciones aerobias y anaerobias. Las bacterias aerobias anoxigénicas (AAPB), son microorganismos distribuidos en diversas áreas geográficas y nichos ecológicos, en los cuales, pueden llegar a representar sobre un 20% de la comunidad total de procariotas marinos, especialmente en las costas y polos. Se ha considerado que este grupo (AAPB) tienen gran importancia en los ciclos biogeoquímicos del carbono y azufre, y fundamentalmente en la dinámica de la cadena alimentaria, sin dejar de considerar su importancia en el proceso biológico de fotosíntesis. Estudios preliminares han demostrado una alta diversidad de bacterias fotótrofas en el Altiplano chileno. En este trabajo se estudió la diversidad de bacterias fotótrofas en los salares de Huasco, Ascotán y Atacama (Laguna Tebenquiche), mediante técnicas moleculares (extracción de ADN, ARN y, genotecas) utilizando genes funcionales de la fotosíntesis (*pufLM* y *bchY*) como marcadores moleculares en muestras ambientales de sedimento y agua, así como también de las cepas aisladas.
Los resultados mostraron una alta diversidad de miembros de AAPB del clado *Roseobacter* (*Alphaproteobacteria*) y no se encontraron secuencias relacionadas con las bacterias fotótrofas anoxigénicas anaeróbicas. Los grupos frecuentes en los salares del Altiplano fueron: *Roseobacter spp., Roseovarius spp., Loktanella spp., Jannaschia spp.* y otras bacterias fotótrofas anoxigénicas como *Rhodospirillum spp., Erythrobacter spp.*.
Se obtuvieron 22 aislados crecidos en agar marino en condiciones aerobias los cuales fueron seleccionados de acuerdo a su pigmentación rojiza o rosada. De éstos, 7 aislados presentaron la presencia del gen *bchY*, el cual está presente en todas las bacterias fotótrofas anoxigénicas.
Actualmente se trabaja en determinar la actividad de las AAPB mediante técnicas de RT-PCR, y qPCR. Conjuntamente se trabaja en la caracterización de las cepas cultivadas mediante el gen 16S rRNA y *bchY* para su determinación filogenética.
Agradecimientos: Fondecyt 11080228

10 Síntesis microbiológica de nanopartículas de Cadmio, Selenio y Teluro (Microbiological synthesis of Cd, Se and Te nanoparticles)

Monrás JP, Kramm V, Díaz V, Bravo D, Astudillo J, Osorio I, García V, Romero P, Vásquez CC, Pérez-Donoso JM

Laboratorio de Microbiología Molecular, USACH

Aun cuando la utilización de materiales nanoestructurados crece día a día, su preparación sigue siendo problemática. Las técnicas actuales utilizan procesos químicos en medio líquido a altas temperaturas y/o en ausencia de oxígeno. Sin

considerar el gran impacto ambiental que provocan, muchas de estas metodologías son caras e ineficientes. Así, procesos diseñados por la naturaleza para la síntesis de materiales inorgánicos a escala nanométrica constituye una novedosa e inexplorada área de investigación basada en la biosíntesis microbiana de nanomateriales. Los microorganismos en general y las bacterias en particular son capaces de generar variados arreglos metálicos a nanoescala. Particularmente compuestos nanoestructurados de Cd, Se y/o Te son muy apetecidos y tienen variadas aplicaciones en nanotecnología. El CdTe es un compuesto de estructura cristalina cúbica que funciona como semiconductor, un potente material de celdas solares y forma estructuras altamente fluorescentes (quantum dots, QDs). A la fecha, no ha sido comunicada la producción intracelular de nanopartículas (NPs) de CdTe utilizando microorganismos. En este trabajo hemos evaluado y desarrollado condiciones para la biosíntesis de QDs de Cd, Se y/o Te en cepas de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y bacterias (*Aeromonas caviae* y *Pseudomonas aeruginosa*) expuestas a sales de estos metales. Además, mediante herramientas de Biología Molecular se construyeron cepas de *Escherichia coli* que sobreexpresan genes involucrados en la síntesis de tioles capaces de producir QDs. A través de fluorescencia se determinó que células de los microorganismos analizados, crecidas en determinadas condiciones, son altamente fluorescentes. Utilizando microscopia electrónica de barrido asociada a EDS de determinó la presencia de NPs de CdTe en *S. cerevisiae*. NPs metálicas fueron purificadas de células de *A. caviae* y caracterizadas espectroscópicamente. Los espectros de emisión y absorción de las NPs purificadas presentaron perfiles característicos de NPs de CdTe. En resumen, en este trabajo describimos por primera vez la síntesis intracelular de NPs de Cd, Se y/o Te en distintos microorganismos y logramos favorecer la síntesis de estas moléculas a través de la modificación de las condiciones de crecimiento o mediante la sobreexpresión de genes definidos. Estos resultados son la base para futuras aplicaciones ya sea en la biosíntesis de estas moléculas de interés biotecnológico, así como en el uso de estos microorganismos para la bioremediación de ambientes contaminados por metales tóxicos como Cd^{+2}, Se^{+4} o Te^{+4}, entre otros.

Financiamiento: FONDECYT 1090097 (CCV) Y 3100049 (JMP); IFS 4733-1 Y DICYT 021043 (JMP).

11 Efectos de la salinidad sobre la reducción desasimilatoria de arseniato en sedimentos provenientes del Salar de Ascotán, Chile.
(Effects of salinity on arsenate reduction in sediments from Ascotán Salt Flat, Chile).

Nuñez C[1], Escudero L[1,3], Kulp TR[2], Oremland RS[2], Demergasso C[1,3]

[1]Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. [2]U.S. Geological Survey, ms 480, 345 Middlefield Road, Menlo Park, CA 94025, USA. [3]Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería (CICITEM), Antofagasta, Chile.

Se estudió el efecto de la salinidad sobre la estructura de la comunidad microbiana y sobre la cinética de reducción de arseniato en muestras de sedimentos provenientes del Salar de Ascotán (Chile). El rango de salinidad registrado en Ascotán va desde 7,1 hasta 309 g/L, y los contenidos de arsénico desde 183 a 212 mg/L, en invierno y primavera, respectivamente. En los experimentos se utilizaron las concentraciones de sal límites del rango registrado, y se suplementaron con diferentes donadores de electrones (lactato e hidrógeno) y con 1 mM de As (V) como aceptor de electrones. El análisis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE) del fragmento del gen 16S rRNA amplificado desde los sedimentos incubados y las muestras originales, reveló un cambio en la diversidad de la comunidad microbiana, aunque el grupo dominante en ambos casos fue *Firmicutes*. El análisis mediante cluster mostró un agrupamiento entre las muestras suplementadas con lactato y las no suplementadas con donador externo de electrones a baja salinidad. En las experiencias con alta salinidad, en tanto, el análisis por cluster reveló un

agrupamiento de las muestras suplementadas con lactato y con hidrógeno. Este hecho pondría de manifiesto un requerimiento mayor de energía de las comunidades microbianas en presencia de altas concentraciones de sal. El índice de riqueza y el crecimiento celular no cambió significativamente, lo que sugiere una rápida adaptación de los microorganismos a las variaciones estacionales de la concentración de sal. Sin embargo, la actividad reductora de arseniato fue inhibida en todos los enriquecimientos con salinidad de 300 g/L. La presencia de los genes *arsC* y *arrA* fue analizada mediante PCR, encontrándose ambos presentes en todos los experimentos con diferentes concentraciones de sal. Estos resultados pondrían de manifiesto un cambio en el metabolismo de las poblaciones microbianas en respuesta a los cambios en la salinidad.
Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1100795

12 *Cylindrospermopsis raciborskii* T3 y la función de las sulfotransferasas en la síntesis de toxinas paralizantes sulfatadas y sulfonatadas.
(*Cylindrospermopsis raciborskii* T3 and the function of sulfotransferases in synthesis of sulfated and sulfonated PSP toxins).

Katia Soto-Liebe[1], Murillo AA[1], Krock B[2], Stucken K[1,2], Fuentes-Valdés JJ[1], Trefault N[1], Cembella A[2], Vásquez M[1]

[1]Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, 6513492 Santiago, Chile. katiasotoliebe@gmail.com. [2]Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research, Am Handelshafen 12, 27570 Bremerhaven, Germany

La cianobacteria de agua dulce *Cylindrospermopsis raciborskii* T3 ha sido utilizada como modelo de estudio para elucidar la ruta biosintética de las toxinas del Veneno Paralizante de Molusco (VPM). Sin embargo, las inconsistencias en los trabajos publicados nos llevaron a realizar análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa (LC-MS/MS) para identificar el perfil de producción de toxinas de la cepa T3 y poder analizar en profundidad la función de los genes de la ruta de biosíntesis de toxinas del tipo VPM. En contraste con los resultados publicados, identificamos que la cepa T3 produce sólo STX, NEO y dcNEO. Nuestro grupo, además, ha secuenciado el genoma de otra cianobacteria productora de toxinas del VPM, *Raphidiopsis brookii* D9, la cual está altamente relacionada, en términos filogenéticos, con *C. raciborskii* T3. La cepa D9, además de poseer el genoma más pequeño descrito hasta la fecha para una cianobacteria filamentosa (3.2 Mb), posee el cluster génico más pequeño de los 5 hasta ahora descritos e involucrados en la síntesis de las toxinas del VPM (cluster *sxt*). El análisis bioinformático de estos clusters nos ha permitido realizar una buena correlación entre presencia de genes y funciones enzimáticas. Los cluster de T3 y D9 tienen una alta sintenia, con genes que poseen un 100% de identidad nucleotídica. Anteriormente se le asignó a la proteína codificada por *sxtN*, la función de sulfotransferasa. *sxtN* está presente en el cluster *sxt* de la cepa T3, sin embargo ésta no sintetiza análogos con grupos sulfato. La cepa D9 sí produce análogos sulfatados (GTX2/3) y en el cluster *sxt* encontramos la secuencia que codifica para la sulfotransferasa SxtSUL. En este trabajo proponemos que: SxtN y SxtSUL participarían como N-sulfotransferasa y O-sulfotransferasa, respectivamente; que la ausencia de toxinas sulfatadas en la cepa T3 se debe a la falta de sustrato para la reacción y que en las cianobacterias productoras de toxinas del VPM, existe un análogo final, que se encuentra siempre en mayor porcentaje molar.
Financiamiento: Fondecyt 1050433 y 1080075, Fondef MR07I1005, Millennium Nucleus EMBA P04/007, Programa de Cooperación Científica Internacional (PCCI) CONICYT/DFG

13 Estudios del metabolismo de los polifosfatos en *Escherichia coli* mediante microarreglos fenotípicos: Una aproximación mediante la biología de sistemas.
(Phenotypic microarray analysis of *Escherichia coli* polyphosphate metabolism mutants: a system biology approach).

Varas M, Mauriaca C, Jerez CA, Chávez FP

Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Instituto Milenio ICDB Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Los polifosfatos (poliP) son biopolímeros que tienen variadas funciones dependiendo de su localización celular. En *Escherichia coli*, la enzima polifosfato quinasa (PPK1), que cataliza su síntesis, y la exopolifosfatasa (PPX) encargada de su degradación, se encuentran codificadas en un operón. Tanto la eliminación del gen *ppk1* como la sobreexpresión del gen *ppx* generan una carencia de poliP, la cuál conlleva a numerosas alteraciones estructurales y funcionales en la célula. Para analizar más detalladamente los cambios fenotípicos que ocurren en los mutantes del metabolismo de los poliP en *E. coli* se realizaron microarreglos fenotípicos (Biolog Inc.,CA) y se comparó cada mutante con respecto a la cepa silvestre. Para el mutante *ppk1* se obtuvieron 161 ganancias y 16 pérdidas fenotípicas. Las ganancias están relacionadas con el uso de numerosas fuentes de carbono, de nitrógeno y de fosfato, entre otras; lo cual indicaría que durante la carencia de poliP las bacterias aumentan el flujo de su metabolismo energético. Las pérdidas se asociaron a la sensibilidad a diferentes antibióticos como por ejemplo la rifampicina. Por su parte, para el mutante *ppx* se obtuvieron 22 ganancias y 45 pérdidas fenotípicas. Finalmente, para el doble mutante *ppk1-ppx* se obtuvieron 244 ganancias y 4 pérdidas fenotípicas. Muchos de los cambios fenotípicos en el doble mutante fueron similares a los encontrados para el mutante *ppk1*. Los resultados obtenidos nos permitirán completar los estudios a nivel global que hemos realizado mediante genómica funcional y proteómica cuantitativa para mediante la biología de sistemas, generar hipótesis biológicas que expliquen los cambios estructurales y funcionales que ocurren en las bacterias producto de la alteración del metabolismo de los poliP.
Financiamiento: Proyectos Fondecyt 11070180 y 1070986. Proyecto Milenio ICM P05-001-F.

COMUNICACIONES LIBRES
PANELES I

AREA TEMÁTICA: ECOLOGÍA MICROBIANA

14 Caracterización de cepas bacterianas resistentes a cobre aisladas desde suelos agrícolas del Valle de Aconcagua. (Characterization of copper-resistant bacterial strains isolated from agricultural soils of the Valley of Aconcagua.)

Altimira F[1], Bravo G[1], Yañez C[1,2], González M[1], Seeger M[1]

[1]Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. fabi.alti@gmail.com. [2]Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

El cobre es un micronutriente esencial para las bacterias. Sin embargo, este metal en altas concentraciones genera estrés oxidativo y la lipoperoxidación de la membrana plasmática. Las bacterias han desarrollado mecanismos de resistencia para regular las concentraciones de cobre intracelulares. Los sistemas de resistencia a cobre están codificados por los operones plasmidiales *copABCD/pcoABCD*. El objetivo de esta investigación es caracterizar bacterias resistentes aisladas desde suelos contaminados con cobre (379-784 mg/kg) del Valle del Aconcagua. El aislamiento se realizó utilizando medio R2A suplementado con cobre. A los aislados de les determinó la concentración mínima inhibitoria tanto a cobre como a otros metales pesados (Hg^{2+}, Cd^{2+}, CrO_4^{2-}, Ni^{2+}, Co^{2+} y Zn^{2+}) en medio mínimo Tris. Se determinó la presencia de genes que codifican sistemas de resistencia a metales pesados (*copA, nccA, chrB, merB*) mediante PCR, utilizando partidores específicos. Se determinó la presencia de plásmidos utilizando el protocolo de Kado y Liu (1989). Se caracterizó el crecimiento (UFC/mL) en medio mínimo con cobre de la cepa que presentó mayor resistencia a metales. Cinco de las 93 cepas aisladas presentaron alta resistencia a cobre (MIC entre 3,1- 4,3 mM). Las cinco cepas seleccionadas presentaron el gen *copA* que proporciona resistencia a cobre. Tres de estas cepas exhibieron resistencia a 17 mM de níquel y presentaron el gen *nccA* que forma parte del operón Ncc que otorga resistencia a níquel. Dos aislados presentaron tolerancia a cromato (4,3 mM). Dos de las cepas presentaron plasmidios que podrían estar involucrados en la resistencia a metales pesados. La velocidad de crecimiento de la cepa más promisoria en presencia de 0,8 y 2,4 mM de cobre no fue afectada. Los resultados indican que las bacterias que se encuentran en medio ambiente con alto contenido de metales pesados presentan determinantes genéticos y elementos genéticos móviles que le permiten contrarrestar los efectos adversos que ejercen los metales pesados sobre ellas. Futuras estrategias de biorremediación de suelos contaminados con metales pesados podrían contemplar el empleo de cepas bacterianas caracterizadas en este estudio.
Agradecimientos a proyectos CITNT&SB, USM 130948 y FONDECYT 3090071

15 Efectos del cobre sobre la diversidad de las comunidades bacterianas de suelos agrícolas. (Effects of copper on the diversity of bacterial communities of agricultural soils)

Altimira F[1], Bravo G[1], Yáñez C[1,2], González M[1], Seeger M[1]

[1]Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María. bravoc.guillermo@gmail.com. [2]Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Los suelos agrícolas poseen una gran diversidad bacteriana que contribuye a la estabilidad, productividad y resistencia al estrés del ecosistema. Altas concentraciones de cobre en los suelos agrícolas disminuye la biomasa y la actividad metabólica bacteriana. El objetivo de este trabajo es evaluar los efectos del cobre sobre la diversidad de las comunidades bacterianas de suelos agrícolas. Para lo cual se analizaron suelos agrícolas del Valle del Aconcagua con altas concentraciones de cobre (379, 520 y 784 mg/Kg) y un suelo del Valle de Casa Blanca, sin historial de contaminación con cobre (20 mg/Kg). Se determinó mediante recuento en placa el número de bacterias heterótrofas totales y bacterias tolerantes a 0,8 mM de cobre. Se analizó la diversidad que presentan las comunidades bacterianas de los suelos agrícolas utilizando electroforesis en gel con gradiente denaturante (DGGE). Para esto se amplificó la región variable V6 del gen ARNr 16S por PCR desde el ADN metagenómico de suelo. En base al análisis de los patrones obtenidos por DGGE, se calculó la diversidad mediante la riqueza y el índice de Shannon (H). El número de bacterias heterótrofas es similar en los suelos analizados. El número de bacterias heterótrofas tolerantes a cobre fue significativamente mayor en los suelos contaminados que en el suelo control. La riqueza y el índice de diversidad (H) no mostraron diferencias significativas entre los suelos contaminados y el control ($p>0,05$), lo cual sugiere que la diversidad de los suelos no estaría afectada por las concentraciones de cobre. Los resultados obtenidos sugieren que las comunidades bacterianas de los suelos analizados en el valle de Aconcagua se han adaptado a las altas concentraciones de cobre.
Financiamiento: Proyectos CITNT & SB, USM 130948 y FONDECYT 3090071.

16 Microorganismos amonio-oxidantes en sistemas de cultivos out-door de Botryococcus braunii (Ammonia oxidizing microorganisms in out-door cultivation systems of Botryococcus braunii)

Bahamondes C[1,3], Dorador C[2,3], Riquelme C[1,3,4], Rivas M[1,3,4]

[1]Laboratorio de Ecología Microbiana, [2]Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Recursos del Mar, [3]Centro de Biinnovación, Universidad de Antofagasta. [4]CICITEM, Antofagasta, Chile.

Las bacterias nitrificantes son responsables de la oxidación de amonio a nitrato por vía nitrito. La oxidación del amonio es realizado por bacterias (AOB) y archaeas (AOA) quimiolitotróficas oxidantes de amonio que pertenecen a la clases de las Betaproteobacteria y Gammaproteobacteria. En cultivos de *Botryococcus braunii* el nitrato es una fuente de nitrógeno que ayuda considerablemente a la producción a gran escala de esta microalga. Sin embargo, la fuente inicial de nitrógeno cambia durante el período de cultivo de *B. braunii* transformándose en especies químicas no biodisponibles. Los microorganismos amonio-oxidantes cumplen un proceso clave en el ciclo del nitrógeno especialmente en la oxidación de NH_4^+ a NO_2^-. El objetivo de este estudio fue determinar la comunidad de bacterias amonio-oxidantes en sistemas de

cultivos masivos de *B. braunii*, utilizando técnicas moleculares basadas en los genes 16S rRNA y *amoA* utilizado como marcador molecular funcional. En este trabajo, se resumen los resultados de la producción de amonio, nitrito y nitrato de muestras obtenidas de cultivos de *B. braunii* que fueron analizados químicamente. Los resultados muestran un aumento exponencial del NO_3^- en 29 días de cultivo, lo cual indicaría una alta actividad microbiana. Se realizó extracción de ADN genómico total de la muestra ambiental y amplificación por PCR utilizando marcadores moleculares funcionales *amoA* para AOB y AOA mediante los cuales se realizó la descripción filogenética de la comunidad bacteriana del cultivo. Además se realizaron aislados de microorganismos nitrificantes cultivables que fueron analizados por la formación de colonias blancas y rosadas. Se contabilizaron 192 colonias (UFC) por placa, las cuales fueron analizadas mediante el reactivo de GRIESS-ILOSVAY para estimar la producción de nitrito. Actualmente se trabaja en la identificación de los genes funcionales y del 16S rDNA para Bacteria y *Archaea*.

17 Influencia de factores abióticos sobre las poblaciones bacterianas indicadoras de contaminación fecal y patógenas en un ecosistema acuático tropical. (Influence of abiotic factors on bacterial populations of fecal pollution indicators and pathogens in a tropical aquatic ecosystem).

Chiroles Rubalcaba S, González González CMI

Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiologia, Departamento de Microbiologia Sanitaria. La Habana Cuba. sergio.chiroles@infomed.sld.cu

Durante un periodo de dos años se realizaron campañas de muestreo en un ecosistema acuático superficial (río), de la Ciudad de La Habana, Cuba, que incluyó tres estaciones de monitoreo (condición marina E1, estuarina E2 y agua dulce E3). Se calcularon las medias geométricas de poblaciones de indicadores bacterianos de contaminación y porcientos de positividad de patógenos de los géneros *Aeromonas* y *Vibrio*, evaluando la influencia de factores abióticos como: (pH, temperatura del agua, salinidad y niveles pluviómetros) sobre estas poblaciones. Las bacterias indicadoras se mantuvieron en un rango de 10^3-10^4 UFC/100ml, observándose niveles mayores en los períodos lluviosos que en los poco lluviosos, encontrando diferencias estadísticamente significativas con $p = 0.014$ y $p = 0.01$, para los coliformes termotolerantes y enterococos respectivamente, al aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis. Por su parte, las bacterias del género *Vibrio* mostraron una disminución en los niveles de positividad en la medida que disminuyen los valores de salinidad 100%, 92.1% y 81.5% en E1, E2 y E3 respectivamente, siendo la especie *Vibrio cholerae* no O1 la predominante (97.8%) del total de aislamientos. Caso inverso ocurrió para los aislamientos de *Aeromonas* sp en este género *Aeromonas hydrophila* con 50.0%. la especie más aislada. Factores como el pH mostraron valores cercanos a la neutralidad en un rango de máximo y mínimo de 7.50 y 7.20 respectivamente. Por su parte, la temperatura no experimentó grandes variaciones en las medias aritméticas, la que osciló entre 25 ºC y 26 ºC. no encontrándose diferencias entre un año u otro.
Agradecimientos: Dirección de Ciencia y Técnica del MINSAP.

18 Arcobacter defluvii, una nueva especie bacteriana aislada de aguas residuales (Arcobacter defluvii, a new bacterial species isolated from sewage)

Collado L[1,2], Levicán A[1], Perez J[1], Figueras MJ[1]

[1]Unitat de Microbiologia, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili. Reus, España. [2]Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. lrcollado@gmail.com

El género *Arcobacter* incluye 10 especies, tres de las cuales (*A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii*) han sido asociadas a gastroenteritis y bacteremia en humanos. Además, han sido relacionadas con aborto en ganado vacuno, ovino y porcino. El agua y los alimentos contaminados son considerados las vías de trasmisión de este microorganismo. Recientemente se ha demostrado una relación entre la presencia de *Arcobacter* y los altos niveles de bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas superficiales (ríos, lagos y playas) lo que indica que su presencia se debería a una contaminación de origen animal o humano.
Durante un estudio sobre la biodiversidad de *Arcobacter* en aguas residuales recolectadas en una planta de tratamiento de aguas servidas en la ciudad de Reus (España), se obtuvieron 12 aislamientos que fueron inicialmente clasificados como *A. cryaerophilus* mediante una técnica de PCR múltiple[1]. Sin embargo, con el método de identificación basado en los patrones de restricción del gen ARNr 16S desarrollado por nuestro grupo[2], estos aislamientos mostraron un nuevo patrón diferente de las especies pertenecientes a este género. El objetivo del presente estudio fue determinar la posición taxonómica de estos aislamientos utilizando técnicas fenotípicas y genotípicas. La tipificación por Enterobacterial Repetitive Intergenic Concensus (ERIC) -PCR demostró que los 12 aislamientos pertenecían a 8 genotipos y la caracterización genética de estas cepas mediante la secuenciación de los genes ARNr 16S *hsp60*, *rpoB* y *gyrB*, demostró que formaban un nuevo linaje dentro del género *Arcobacter*. Las cepas en estudio se diferenciaron del resto de las especies en base a la producción de ureasa y crecimiento en agar McConkey. Los resultados obtenidos confirman que estos aislamientos representan una nueva especie del género *Arcobacter*, para la cual se ha propuesto el nombre de *Arcobacter defluvii*. El significado epidemiológico de esta nueva especie se desconoce, aunque el hecho de que fueran aisladas de aguas residuales podría implicar un origen humano o animal.

19 Variación temporal de la concentración, diversidad y toxicidad de cianobacterias formadoras de florecimientos en el embalse Rapel, Chile. (Temporal variation of the concentration, diversity and toxicity of bloom-forming cyanobacterium in the Rapel reservoir, Chile).

Delherbe N, Echeñique I, Trefault N, Vásquez, M.

Departamento de Genética Molecular y Microbiología. PontificiaUniversidad Católica de Chile. nadelher@gmail.com

Los ecosistemas dulceacuícolas pueden ser drásticamente perturbados por eventos de floraciones algales nocivas (FAN). Estos producen alteraciones sobre la salud humana y animal, acompañados de efectos negativos sobre el turismo. El embalse Rapel, ubicado en la zona central de Chile, es el hábitat de diversas especies, algunas en peligro de extinción y al mismo tiempo es un foco turístico. En un muestreo realizado en este embalse en enero del 2009, identificamos y aislamos especies de *Microcystis*, productoras de la hepatotoxina microcistina.

Nuestro objetivo, fue caracterizar el evento de FAN acontecido en el verano del 2010. Para lograrlo, se realizó un seguimiento de Enero a Abril. Se observó una mayor concentración de clorofila-a durante los meses de Febrero y Marzo, superando en algunos sitios en un orden de magnitud los valores de "riesgo medio" para aguas recreacionales según la OMS. Mediante PCR, detectamos la presencia de los fragmentos claves de los genes para la biosíntesis de microcistina, *mcyA-B,* en todas las muestras durante los 4 meses, indicando que el evento correspondió a un evento de FAN tóxico. Se analizó la diversidad de cianobacterias a lo largo del tiempo mediante Electroforesis en Gel de Gradiente Denaturante (DGGE). Al comparar las secuencias de las muestras ambientales del 2010 con las de los cultivos tóxicos aislados en el año 2009, se pudo confirmar la presencia de especies de *Microcystis* productoras de microcistina. Se detectó una variación temporal en la diversidad de las especies constituyentes de la floración, sin embargo no detectamos una variación espacial significativa entre los sitios muestreados. Se realizó un análisis mediante PCR cuantitativo para determinar la proporción de genotipos tóxicos y no tóxicos durante el transcurso del evento. Estos resultados sugieren que los FAN tóxicos son recurrentes en el embalse Rapel. Es importante considerar que por acción antropogénica estos eventos pueden hacerse persistentes en el tiempo, produciendo fuertes cambios que ejercerán presión en las comunidades presentes tanto en el sistema acuático como en las que se desarrollan a su alrededor, además de ser un foco de dispersión de especies tóxicas capaces de colonizar otras fuentes de agua dulce.

Financiamiento: Fondecyt 1080075/Programa de Cooperación internacional Conicyt/CNPq.

20 Evaluación de técnica de cultivo de microorganismos marinos en filtros flotantes (Evaluation of floating filters technique to culture marine microorganisms)

Echeverría A, Araya R

Facultad de Recursos del Mar. Universidad de Antofagasta. Antofagasta, Chile. alex.echeverria@uantof.cl

La técnica de cultivo en placas de agar es uno de los procedimientos más utilizados en microbiología. Sin embargo, es sabido que existen varias limitaciones al utilizar esta técnica para cultivar microorganismos tomados directamente desde el ambiente. Una novedosa propuesta se basa en la utilización de filtros de policarbonato flotantes sobre medio líquido como soporte de cultivo de microorganismos obtenidos desde ambientes marinos. El objetivo de este trabajo fue comparar, mediante el recuento de CFU, el crecimiento microbiano obtenido al utilizar distintos medios sólidos, versus la utilización del método de filtros flotantes con distintas diluciones del medio líquido correspondiente. Se utilizaron tres medios de cultivo, Medio Marino, ST10 y Triptona Soya. Se hicieron pruebas con tres distintas diluciones de cada uno de los medios líquidos en agua de mar filtrada y esterilizada por autoclave, 1:10, 50:50 y 0 con tres réplicas para cada uno. Se utilizaron trozos de filtro de policarbonato, inoculados por filtración y puestos en una placa de Petri sobre un trozo de esponja estéril, con 10 mL de medio de cultivo, de manera de mantener la humedad del filtro. Las pruebas en medio sólido se realizaron en placas de Petri inoculadas mediante siembra en superficie por diseminación con espátula Dygraski. Para todas las pruebas, se utilizó como inóculo agua de mar con un recuento de células aproximado de 10^6 cél/mL. Para las pruebas en medio sólido se agregó directamente una gota de 100 μL. Para las pruebas en medio líquido se filtraron 10 μL de muestra diluida en 10 mL de agua de mar estéril. El recuento de colonias se hizo luego de dos días de incubación en estufa a 25°C. Los resultados muestran un notorio aumento del número de colonias por volumen de muestra al aplicar el método de cultivo en filtro flotante tanto para cultivo en Medio Marino como para ST10. La comparación del número de colonias encontradas respecto a la dilución nos muestra que no existen diferencias en la cantidad de colonias crecidas en el medio líquido versus su dilución al 10%. Estos resultados señalarían que en primera instancia, la técnica de crecimiento de microorganismos en filtros flotantes, es factible de utilizar para cultivar y aislar microorganismos marinos, mejorando incluso la eficiencia respecto al método tradicional de placa de agar. El próximo paso corresponderá a la identificación, mediante biología molecular, de los microorganismos que forman colonias en cada

medio y soporte, a fin de evaluar la eficiencia de esta técnica para la recuperación de microorganismos marinos no-cultivables.

Agradecimientos: Beca de Doctorado CONICYT FIC-Regional, Antofagasta.

21 Identificación de microorganismos en suelos salinos del Desierto de Atacama. (Microorganisms identification in saline soils of the Atacama Desert)

Echeverría A[1], Urtuvia V[1], Chong G[2], Moreno-Paz M[4], Cruz-Gil P[4], Gómez MJ[4], Rodríguez-Manfredi JA[5], Gómez F[6], de Diego-Castilla G[4], Cruz-Gil P[4], Fernández-Remolar D[6], Parro V[4], Demergasso C[1,3]

[1]Centro de Biotecnología y [2]Departamento de Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. [3]Centro de Investigación Científico y Tecnológico para la Minería, CICITEM, Antofagasta, Chile. Departamentos de Evolución Molecular[4], Instrumentación [5], Planetología y Habitabilidad [6], del Centro de Astrobiología (INTA-CSIC), Madrid, España. aecheverri@ucn.cl

El trabajo se orienta a la búsqueda e identificación de microorganismos que habitan los suelos del Desierto de Atacama. Con este fin se tomaron muestras de tres puntos (AT1, AT2 y AT3), ubicados en el sector occidental del Salar Grande, 90 Km al sureste de Iquique. AT1 se ubica en la mina de sal "Tenardita", y se recolectaron muestras desde los bancos, a 9 y 27 m de profundidad. AT2 ubicado al oeste del salar, donde se perforó, mediante una sonda, hasta 4 metros de profundidad. AT3, corresponde a la parte nor-occidental del Salar. En este caso se muestreó hasta una profundidad de 66 cm, cortando la unidad salina conocida genéricamente como panqueque, que corresponde a un paleosuelo con abundantes arcillas, sulfato de calcio, cloruro subordinado y trazas de nitrato. Mediante recuento por DAPI, se evidencia una mayor densidad celular en las muestras superficiales de AT2 y AT3 (4,0E+06 cél/g) en comparación con el sitio AT1 (hasta 2,0E+05 cél/g). El número de células en la muestra AT2 disminuye en forma sostenida a medida que se avanza en la profundidad del testigo, pero a los 2 m existe un brusco incremento acompañado por una mayor cantidad de ADN extraído. Mediante biología molecular, se identificaron secuencias de ADN de bacterias pertenecientes los filos *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Proteobacteria* (AT2) y arqueas perteneciente a los filos *Euryarchaeota* (AT2) y *Crenarchaeota* (AT3). La presencia de microorganismos a 2 m de profundidad en AT2, coincide con un posible cambio en las unidades salinas entre la capa superior y la subyacente. Asimismo, en esta última debiera considerarse el desarrollo de un paleosuelo salino. Si bien, la presencia de microorganismos en distintos ambientes áridos-salinos del Desierto de Atacama es común, en este trabajo se está reportando la presencia de microorganismos a profundidad que deberá ser considerado en futuros estudios.

Financiamiento: Ministerio Español de Ciencia e Innovación (MICINN) subvención N° AYA2008_04013. Agradecemos también al señor Raúl Arias por su asistencia en el trabajo de campo y a Compañía Minera Cordillera por su colaboración durante la Campaña.

22 Identificación de microorganismos en procesos de lodos activados mediante el 16S rRNA. (Identification of microorganisms in activated sludge treatment plants by means of 16S rRNA)

Escobar B[1], Castillo G[2], Bustos K[1], Elgueta JP[1], Mac-Phail H[1], Muñoz[2] y Urmeneta C[1]

[1]Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología y [2]Departamento de Ingeniería Civil Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. bescobar@ing.uchile.cl

El tratamiento de aguas servidas mediante lodos activados es un proceso ampliamente utilizado como tratamiento biológico secundario para degradar la materia orgánica y los contaminantes contenidos en ellas. Uno de los problemas operacionales frecuentes que se presentan en estos procesos es la generación de bulking, una dificultad en la compactación y separación del lodo en el efluente. En este trabajo se presenta un estudio realizado con el objeto de identificar los microorganismos involucrados en el fenómeno de bulking y tratar de predecir la aparición de bulking en base al aumento de la abundancia relativa de dichos microorganismos en el proceso. Los experimentos se realizaron en reactores aeróbicos agitados inoculados inicialmente con lodo proveniente del estanque de aireación de una planta de tratamiento de aguas servidas y alimentados con agua servida sintética. Con el objeto de provocar la aparición de bulking se realizaron una serie de cambios operacionales, como variación de la relación F/M (alimentación/ microorganismos), O.D. (Oxígeno Disuelto) y MCRT (Tiempo de Retención Celular Media). La evolución de la población microbiana en los reactores fue monitoreada mediante la técnica de tRFLP (Polimorfismo de los Largos de los Fragmentos Terminales de Restricción). En todos los experimentos se observó una relación entre la abundancia relativa de determinadosT-RFs (33 y 196 pb) y el IVL (Indice Volumétrico de Lodos) con posterior generación de bulking. Observaciones al microscopio realizadas a muestras con alto IVL mostraron un gran desarrollo de bacterias filamentosas. La amplificación por PCR del 16S rRNA del DNA extraído de muestras provenientes de los reactores, permitió identificar el T-RF de 33 pb como *Thiothrix eikelboomi* y el T-RF de 196 pb como especies de *Thiothrix*, por lo que estas especies estarían involucradas en la generación de bulking en estos reactores.
Agradecimiento: Proyecto Fondecyt 1040949

23 Caracterización de bacterias cultivables en sistemas de cultivo de larvas de *Argopecten purpuratus*. (Characterization of culturable bacteria in larval culture of *Argopecten purpuratus*).

Espinoza M, Wittwer G, Godoy F

CIEN Austral. Universidad Austral de Chile. Puerto Montt. felix.godoy@cienaustral.cl

El cultivo de *Argopecten purpuratus* posee un importante interés comercial, no obstante, las etapas tempranas de cultivo son afectadas por problemas de mortalidad ocasionadas principalmente por la presencia de patógenos. En este estudio se caracterizaron las poblaciones bacterianas presentes en sistemas de cultivos de larvas de *A.purpuratus* en presencia y ausencia de antibiótico (tetraciclina). Para ello, en sistemas de cultivo larvales se efectuaron cada 3 días y durante 20 días de incubación, recuentos bacterianos en placas de medios de cultivo a partir de muestras de agua, larvas, y microalgas utilizadas para alimentación, para luego aislar e identificar cepas bacterianas mediante secuenciación del gen ADNr16S. Se determinó la abundancia relativa de los aislados en las placas de cultivo. Adicionalmente, se realizaron recuentos de bacterias totales del agua mediante microscopía de epifluorescencia. Los recuentos de bacteria viables en agua ($1,7x10^4$

UFC/mL) fueron en promedio un 8% (+/-4,8) de los recuentos de bacterias totales. Los recuentos en larvas fueron del orden de 10^7 y 10^8 UFC/g y se observó que en los días 3, 12, 16, y 20 de incubación los recuentos fueron mayores en ausencia del antibiótico (p>0,05). El aporte de bacterias por la entrada de microalgas para alimentación al sistema, fluctúa entre $1x10^4$ y $9x10^4$ UFC/g. De las 46 cepas aisladas e identificadas a partir de las placas de recuento, 25 (54%) pertenecían a Gamaproteobacterias, 11 a Bacilli (24%), 5 a Actinobacteria (11%), 4 a Alfaproteobacteria (9%), y 1 a Flavobacteria (2%). En las muestras de agua sin antibiótico se encontró la presencia de *Alteromonas* spp, *Brevibacterium* spp, y *Marinobacter* spp como los géneros con mayor abundancia relativa. En muestras de agua con antibiótico, junto con *Alteromonas* spp, y *Marinobacter* spp se encontró la presencia de *Bacillus* spp y *Microbacterium* spp como los géneros más abundantes. Los géneros con mayor predominancia en las larvas fueron *Pseudoalteromonas* spp, *Bacillus* spp, *Marinobacterium* spp., *Alteromonas* spp. y *Vibrio* spp. Estos dos últimos presentes sólo en sistemas sin antibiótico. Se identificaron en total 14 diferentes géneros en las cepas aisladas de larvas, 6 en cepas de agua, y 4 en cepas aisladas de microalgas. El 83% de los géneros identificados en las muestras de agua están presentes en larvas, no obstante la mayoría (65%) de los géneros de bacterias cultivables encontrados en larvas no están presentes en el agua. El aumento de bacterias reconocidamente patógenas como *Vibrio* spp. a medida que avanzaba el tiempo de cultivo larval, podría estar asociado a la alta mortalidad observada en la segunda mitad del periodo de cultivo larval. Los resultados permiten determinar que existe una alta diversidad de bacterias presentes sólo en las larvas en cultivo, y que la presencia de antibiótico no es determinante en la calidad microbiológica del sistema de cultivo.

24 Diversidad genómica de *Mycobacterium bovis* en Chile. (Genomic diversity of *Mycobacterium bovis* in Chile).

Figueroa A[1], Tejeda C[1], Ulloa M[1], Noli C[2], Pacheco Y[2], Zurita P[3], Segovia MJ[3], Smith N[4], Zárraga AM[1]

[1]Instituto de Bioquimica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. [2]Laboratorio Servicio Agrícola y Ganadero, Osorno. [3]Laboratorio Lo Aguirre, Santiago. [4]Veterinary Laboratory Agency, VLA, Weybridge, New Haw. UK. anamariazarraga@uach.cl / alvaroalejandrofigueroa@gmail.com

La tuberculosis bovina (BTB) causa importantes pérdidas económicas y problemas de salud pública en los países afectados, por ello es necesario controlar la infección en los rebaños. BTB es una enfermedad infecciosa, zoonótica y crónica causada por *Mycobacterium bovis*, patógeno perteneciente al complejo de *Mycobacterium tuberculosis*. A este complejo pertenece también *Mycobacterium tuberculosis*, el agente etiológico de la tuberculosis en el hombre, con el cual comparte un 99,6% de homología a nivel de secuencia genómica. Este trabajo tiene como objetivo analizar la estructura y diversidad genética de la población de *Mycobacterium bovis* en nuestro país, asociado a la condición epidemiológica del rebaño. Con esto, es posible abordar estudios que relacionen el genotipo con la virulencia e inmunopatogenia de esta enfermedad. La estrategia de trabajo involucró la selección de cepas de acuerdo a la prevalencia de BTB en el rebaño y localización geográfica. El cultivo de las cepas se realizó según las normas internacionales en los laboratorios de referencia del Servicio Agrícola Ganadero. La extracción de DNA genómico se estandarizó en base al uso de DNAzol de acuerdo a lo indicado por el proveedor. En una primera etapa, se identificaron los marcadores genéticos adecuados para *M. bovis*. Estos incluyen: 1. Polimorfismo del locus DR propio de micobacterias (DR) definido por la técnica de *Spoligotyping*. 2. Regiones de Diferencia correspondientes a deleciones cromosomales *respecto a M. tuberculosis* (RD). 3. Regiones de repetición variable en tándem (VNTRs) específicas para micobacterias (MIRUs). Los resultados muestran que de un total de 345 aislados, SB0140 (base de datos internacional SPOLDB4) es el espoligotipo prevalente (74,5%) en tanto que el perfil genético de MIRU más frecuente es 7-5-6-4-3. SB0140 es también el genotipo prevalente en Inglaterra y Argentina, países de los cuales proviene el ganado chileno. La región RD que identifica al complejo clonal

europeo Eu1, fue identificada entre los aislados estudiados. Los alelos ETR-A, ETR-C y ETR-E mostraron una variación alélica (h) de 0,3, 0,47 y 0,01 h, respectivamente. Este estudio demuestra por primera vez el perfil genético de cepas chilenas de *M. bovis*.

Financiamiento: FONDOSAG C5-100-10-23. FICR-EQU18, Proyecto FONDECYT 1070800.

25 Diversidad de VNTRs en la población clonal de *Vibrio parahaemolyticus* pandémico y su uso en la diferenciación y clasificación de sus aislados (VNTRs diversity in clonal population of pandemic *Vibrio parahaemolyticus* and its use in differentiation and classification of their isolates)

García K, Torres R, Espejo R

Laboratorio de Biotecnología. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile.
kata.garcia@gmail.com

Los brotes de diarrea asociados al consumo de mariscos crudos aumentaron considerablemente en Chile debido a la llegada de una cepa patógena de *Vibrio parahaemolyticus* conocida como clon pandémico. Los aislados de este grupo constituyen una población altamente monomórfica y a la fecha no existen métodos que permitan distinguir sistemáticamente entre aislados y trazar así el origen de los brotes de diarrea causados por este grupo de bacterias. Aquí describimos una posible herramienta para distinguir aislados de este grupo consistente en la determinación del número de secuencias cortas repetidas presentes en varios sitios del genoma de esta bacteria.

Las secuencias cortas repetidas de número variable, son secuencias de 3 o más nucleótidos repetidas en serie (*variable number tandem repeats*, VNTR) y representan los *loci* genómicos más diversos en las poblaciones bacterianas estudiadas. Existen decenas de VNTRs en el genoma de la cepa pandémica de *V. parahaemolyticus*. El análisis del número de repetidos en varios de estos *loci* es conocido como MLVA por "*multiple loci VNTR analysis*".

Hemos determinado que las tasas de mutación en los VNTRs de *V. parahaemolyticus* son del orden de 10^{-4} generación^{-1}. La distribución de la frecuencia de mutantes generadas coincidió con una variación de un repetido a la vez (*Single step mutation*, SSM). El agrupamiento de mutantes de acuerdo al número de repetidos en los VNTRs analizados, permitió determinar relaciones plausibles entre variantes generadas tanto *in vitro* como entre aislados naturales independientes obtenidos en Chile y otros países. Se presentan y discuten las relaciones establecidas usando los programas *goeBURST* y *Structure*, basados en un modelo de variación de SSM.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1070658.

26 Identificación y caracterización de bacterias halotolerantes y tolerantes a arsénico desde muestras ambientales del Altiplano Chileno
(Identification and characterization of halotolerant and arsenic tolerant bacteria from environmental samples of the Chilean Altiplano)

Garín A[1], Ordoñez J[2], Gallardo S[1], Dorador C[1,2], Mercado A[1,2,3]

[1]Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Recursos del Mar & [2]Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. [3]Centro de Investigación Científico Tecnológico para la Minería. CICITEM. ana.mercado@uantof.cl

El Altiplano Chileno es un territorio no homogéneo con cuencas sedimentarias, entre las cuales se forman salares, géiseres, bofedales, ríos y lagos, cuya biodiversidad microbiana ha sido poco estudiada hasta la fecha. En este trabajo se describen bacterias aisladas desde cursos de aguas que atraviesan las localidades de Turi, Ayquina, Caspana y Jaura. Estos sitios, ubicados en la Región de Antofagasta, se encuentran por sobre los 3000 m.s.n.m. y se diferencian en la concentración de sales disueltas y la actividad antropogénica que los afecta.
Se tomaron muestras de agua desde los cursos mencionados en el mes de Septiembre del 2009 y se obtuvieron 32 aislados utilizando el medio agar marino suplementado con 50g/L de NaCl o con 1g/L de As_2O_3. Se obtuvo un total de 15 y 17 aislados crecidos en NaCl y arsénico, respectivamente. Se amplificó el ADN utilizando partidores bacterianos universales del gen 16S rADN (27F/1492R) y se analizaron las secuencias de cada aislado obtenido. De los resultados preliminares se concluye que *Serratia* spp. (>99% similitud) es el género predominante para las muestras con 1g/L As_2O_3 (17 aislados) y *Halomonas* spp. (100% similitud) es el género predominante para la muestras con 50g/L NaCl (15 aislados). Otras cepas aisladas pertenecen a las divisiones Actinobacteria y Firmicutes. En comparación con las bases de datos de RDP y GenBank, un 50% de los géneros encontrados corresponden a cepas no cultivadas hasta la fecha. Además, de las cepas aisladas, cinco tienen identidad menor al 96% lo cual sería indicador de posibles nuevas especies bacterianas.
Actualmente se están realizando otros análisis entre los que se cuentan la caracterización macro y microscópica de las colonias, su caracterización bioquímica, cinética de crecimiento y resistencia a metales y arsénico. Estos resultados permiten generar información sobre la biodiversidad bacteriana cultivable de cursos de agua del Altiplano Chileno.
Financiamiento: CICITEM, Gobierno Regional de Antofagasta; Proyecto DI-CODEI-2010-08, Universidad de Antofagasta.

27 Identificación de los genes 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico desaminasa y β-propeller fitasa en rizobacterias cultivables asociadas con las plantas vivientes más antiguas del mundo
(Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase and β-propeller phytase genes in culturable bacteria associated with the oldest living plants on Earth)

Milko A. Jorquera[1], María de La Luz Mora[1], David E. Crowley[2]

[1]Center of Plant, Soil Interaction and Natural Resources Biotechnology, Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. [2]Department of Environmental Sciences, University of California Riverside, Riverside, USA.
En la rizósfera, definida como la zona del suelo bajo la influencia de las raíces, las rizobacterias realizan funciones que son esenciales para la nutrición y salud de las plantas. Sin embargo, casi todo nuestro conocimiento sobre las rizobacterias proviene de estudios en suelos agrícolas y forestales, y casi nada se sabe sobre las comunidades microbianas en suelos bajo vegetación natural. *Larrea tridentata* es arbusto predominante en el desierto de Mojave

(noroeste de Estados Unidos), con algunos individuos que sobrepasan los 10.000 años de edad. El presente estudio tuvo como objetivos: 1) estudiar las comunidades rizobacterianas asociadas a *L. tridentata* mediante la técnica DGGE, 2) y detectar la presencia de los genes *acdS* y *BPP*, asociados a la promoción del crecimiento de plantas a través de la degradación de 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) y fitato, respectivamente. Los grupos bacterianos y genes amplificados fueron secuenciados y comparados con la base de datos Genbank. Los resultaron de DGGE revelaron la asociación de rizobacterias pertenecientes a las siguientes familias: *Chitinophagaceae*, *Bradyrhizobiaceae*, *Rhodospirillaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Aurantimonadaceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Thermoanaerobacteraceae*, *Flavobacteriaceae*, *Flexibacteraceae*, *Bacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Xanthomonadaceae* y *Alcaligenaceae*. Además, los resultaron revelaron que algunas cepas de *Pseudomonas* y *Bacillus* aisladas albergan los genes *acdS* y *BPP*. El análisis de secuencias reveló que los genes de *acdS* son cercanos a los reportados para *Pseudomonas* y *Burkholderia*, mientras que los genes *BPP* son cercanos a los reportados para *Bacillus pseudomycoides*. Cabe destacar, el aislamiento de una cepa de *Pseudomonas* la cual presentó ambos genes. El presente estudio revela que rizósfera de *L. tridentata* albergan diversos grupos bacterianos, los cuales contienen mecanismos que pueden jugar un rol relevante en la salud y nutrición de *L. tridentata*, contribuyendo a su sobrevivencia por largos periodos de tiempo en ambientes extremos, como el desierto de Mojave en Estados Unidos.

Agradecimientos: The International Human Frontier Science Program, US-Israel Binational Agricultural Research and Development y Fondecyt 11080159.

28 Archaeal diversity along a subterranean salt core from the Salar Grande (Chile) (Archaeal diversity along a subterranean salt core from the Salar Grande, Chile)

Audrey Gramain[1], Tim K. Lowenstein[2], Cecilia Demergasso[3,5], Guillermo Chong Díaz[4,5], Terry J. McGenity[1]

[1]University of Essex, Department of Biological Sciences, Wivenhoe Park, Colchester CO4 3SQ, UK. [2]SUNY Binghamton, Department of Geological Sciences and Environmental Studies, Binghamton, NY 13902, USA. [3]Universidad Católica del Norte, Centro de Biotecnología, Antofagasta, Chile. [4]Universidad Católica del Norte, Departamento de Ciencias Geológicas, Antofagasta, Chile. [5]Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería, Antofagasta, Chile. TJMcGen@essex.ac.uk

The Salar Grande in the Coastal Range of Northern Chile is a fossil evaporitic basin filled with almost pure halite (95% NaCl average). It is assumed that the basin has not received input of brines since the Pliocene (5.3–1.8 million years). Below 1 m the halite has remained undissolved since this time, whereas the upper layer has been dissolved and recrystallised by dripping fogs and occasional rainfall. After validating a new and rigorous surface sterilisation procedure, we compared the archaeal community at different depths using both nested PCR and cultivation approaches. The upper halite crust contained a diverse community of haloarchaea, many of which belong to novel genera. In contrast the deeper halite contained only species of the genus *Halobacterium* (*Hbt.*). *Hbt. salinarum*-like sequences were detected by PCR. Evidence that these were from ancient DNA include: comparison with negative controls, differences in 16S rRNA sequences that cannot be PCR-cloning artefacts, the independent isolation of *Hbt. salinarum* from ancient halite, and diverse mechanisms possessed by this species for minimising radiation damage and thus enhancing possibilities of long-term survival. *Hbt. noricense*-like sequences were detected in enrichment cultures from ~0.4 and 15.4 m depth. We further investigated *Hbt. noricense* strain A1 and found that when trapped inside halite crystals its recovery was as fast after 27 months of entombment as at day 0, faring much better than other extreme halophiles. A biogeographical investigation showed that *Hbt. noricense*-like organisms were commonly: found in surface-sterilised ancient halite, associated with salt mines, in halite crusts, and, despite a much more intense search, only rarely detected in surface environments. We conclude that *Halobacterium* species are specialists at long-term survival in halite. Fondecyt 1030441, partially.

29 Detección de genes de virulencia de *Vibrio parahaemolyticus* en muestras ambientales de la bahía de Antofagasta durante el periodo estival (2008–2009).
(Detection of virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus* in environmental samples of bahía de Antofagasta in summer season (2008-2009)).

Leiva JC [1,2], Hengst MB[2], Riquelme C[2]

[1]Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas mención Biología Celular y Molecular. [2] Mesocosmos Marino, Facultad de Recursos del Mar & Centro de Bioinnovación de Antofagasta (CBIA), Universidad de Antofagasta.

La presencia de los genes de virulencia hemolisina termolábil (*tlh)* y hemolisina termoestable directa (*tdh)*, se encuentran asociados a casos clínicos de gastroenteritis documentados a nivel mundial, siendo *tdh* uno de los principales mecanismos de patogenicidad descritos para *V. parahaemolyticus*. La Bahía de Antofagasta es un sistema semicerrado, con orientación sur, que presenta 2 focos de surgencia en ambas puntas norte y sur, manifestando históricamente en el año 1998, los primeros casos clínicos en Chile de gastroenteritis causados por el patógeno *V. parahaemolyticus*. Durante el período diciembre 2008 - abril 2009, se recolectaron muestras ambientales desde el balneario de Juan Lopez (entrada norte) y bahía Cendyr Náutico (zona central urbana) a 10 y 25 m de profundidad. Las muestras fueron obtenidas desde: agua de superficie, agua de fondo, macroalgas, *Argopecten purpuratus*, y sedimentos marinos. Se realizaron análisis mediante NMP-PCR de los genes *tlh* y *tdh*. Los resultados positivos del NMP fueron posteriormente analizados para detectar la presencia de los genes *trh* y *orf8*. Los resultados mostraron que los valores más altos para NMP-PCR de bacterias con presencia de gen *tlh* fue de 2350 céls*100 g^{-1} de *A. purpuratus*, y para bacterias con presencia de gen *tdh* fue de 3830 céls*100 g^{-1} de *A. purpuratus*, en los meses de enero y abril respectivamente. Ninguna de las muestras positivas para los genes *tlh* y *tdh* presentó gen *orf8*. Una de las muestras proveniente de *A. purpuratus* fue positiva para el gen *trh*, alcanzando un valor de 554 céls*100 g^{-1}. Las muestras positivas para *tlh* y/o *tdh* fueron analizadas por DGGE y comparadas con un estándar de cepas clínicas de *V. parahemolyticus* provenientes de la bahía de Antofagasta para verificar la presencia de esta especie.
Actualmente se están realizando análisis de las secuencias de las muestras positivas para los marcadores de virulencia (*tlh*, *tdh* y *trh*) y del marcador *rpoB*, para confirmar la filiación taxónomica de ellas a *Vibrio parahaemolyticus*.
Financiamiento: Proyecto Iniciación UA 1363; Proyecto FONDEF MR07I1006. JC Leiva es becario CONICYT FIC-R.

30 Efecto de bacterias marinas productoras de antibacterianos sobre el crecimiento de microalgas y su microbiota asociada.
(Efects of antagonistic marine bacteria on the growth microalga and its associated microbiota)

Martínez M, Leyton Y, Infante C, Hengst MB, Riquelme C

Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Recursos del Mar & Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

Existe evidencia que el crecimiento de microalgas puede ser afectado positiva o negativamente por la presencia de bacterias, interacción que puede estar regulada por vitaminas u otros compuestos orgánicos. De esta forma las bacterias asociadas a microalgas pueden ser un factor clave en el crecimiento de éstas. A su vez las microalgas utilizadas comúnmente como alimento en acuicultura son un potencial vector de bacterias con propiedades antagonistas de patógenos. El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de bacterias productoras de antibacterianos sobre el crecimiento de dos microalgas bentónicas (*Nitzschia sp, Navícula sp*), dos microalgas de vida libre (*Isochrysis galbana T-ISO y Chaetoceros gracilis*) y su microbiota asociada, además de evaluar la factibilidad de establecer consorcios de microalgas con bacterias antagonistas de patógenos. Para evaluar esta interacción se evaluó el crecimiento microalga mediante microscopía de campo claro y el recuento de bacterias totales por microscopía de epifluorescencia en tratamientos con la adición de las bacterias antagonistas *Bacillus* sp. C32 y *Vibrio* sp. C33 añadidas en la fase logarítmica del cultivo microalgal. También se evaluó el efecto de estas bacterias sobre la microbiota cultivable heterótrofa asociada a la microalga mediante la técnica de Dopazo. Los resultados evidencian que el crecimiento de las microalgas se correlaciona positivamente con sus bacterias asociadas. Las bacterias antagonistas mostraron una significativa inhibición de las bacterias cultivables asociadas a las microalgas. Las bacterias antagonistas presentaron efectos tanto estimulantes e inhibitorios del crecimiento de las microalgas estudiadas. Las bacterias antagonistas C32 y C33 favorecieron el crecimiento de *Chaetoceros gracilis* e inhibieron el crecimiento de *Navícula* sp., *Isochrysis galbana* y *Nitzshia* sp., mientras que el Mix (C32+C33) inhibió el crecimiento de todas las microalgas estudiadas. Las microalgas son utilizadas comúnmente en la industria acuícola y en base a nuestros resultados *Chaetoceros gracillis* seria una buena candidata para ser utilizada como vector en el alimento de los sistemas acuícolas como un alimento probiótico amigable con el medio ambiente ya que podría ayudar a reducir el uso indiscriminado de antibióticos en los sistemas de cultivo.
Financiamiento: Proyecto de Inciación UA 1363; FONDEF MR07I1006; Fondo de Investigación Trabajos de Titulación Universidad de Antofagasta.

31 Bacterias asociadas a plantas nativas de Chile antagonistas de quorum sensing y crecimiento de fitopatógenos.
(Chilean native plant-associated bacteria: antagonists of quorum sensing and phytopathogens growth).

Oyarzua P, Montero V, Sossa K

Centro de Biotecnología. Universidad de Concepción, Chile. pia.oyarzua.a@gmail.com

El desarrollo agroforestal se ve económicamente afectado por la acción de microorganismos patógenos, donde las bacterias son agentes causales de más de dos mil tipos de enfermedades. Esta capacidad de producir enfermedades, generalmente, en bacterias fitopatógenas depende de un sistema de comunicación célula-célula, llamado quorum sensing (QS), que regula numerosos fenotipos, incluyendo la producción de factores de virulencia.
El estudio de estas bacterias fitopatógenas ha permitido diseñar estrategias de prevención y control, generalmente basados en el uso de microorganismos antagónicos de crecimiento, actualmente un blanco atractivo de biocontrol es interferir el sistema comunicación celular.
En base a lo anterior, se evaluó el efecto de cepas bacterianas aisladas desde rizosfera, filosfera y suelo de plantas nativas chilenas, en el quorum sensing de biosensores y como antagonistas de crecimiento de bacterias fitopatógenas. Se utilizaron metodologías microbiológicas como el ensayo de difusión en agar para determinar inhibición de crecimiento y ensayos de producción de alquil homoserina-lactonas (AHLs) y bloqueo de quorum sensing, usando *Chromobacterium violaceum* y *Agrobacterium tumefaciens* como biosensores.
De un total de 122 cepas bacterianas, no se encontró cepas antagonistas del crecimiento de bacterias fitopatógenas. 64 cepas fueron productoras de AHLs, pertenecientes principalmente, a los géneros Pantoea y Erwinia. Se determinó que existe una asociación entre la zona de aislamiento y la capacidad de las cepas de producir dicha molécula y que la proporción de cepas productoras de AHLs aisladas desde hojas es significativamente mayor que en las demás zonas. 27 cepas fueron inhibidoras de QS, pertenecientes principalmente, a los géneros Erwinia, Pantoea y Agrobacterium y se determinó que no existe asociación entre la zona de aislamiento de las cepas y la capacidad de inhibir quorum sensing.
Estos resultados generan un punto de partida para posteriores investigaciones que permitan desarrollar estrategias de control de enfermedades en plantas producidas por bacterias que utilizan este sistema de señalización.

32 Identificación de la comunidad bacteriana epífita de diatomeas marinas aisladas desde la Bahía San Jorge, Antofagasta.
(Identification of epiphytic bacterial community associated to microalgae isolated from San Jorge bay, Antofagasta).

Pérez V, Infante C, Martínez M, Hengst MB, Riquelme C

Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Recursos del Mar & Centro de Bioinnovación de Antofagasta (CBIA). Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. vilma.bq@gmail.com

Las bacterias y microalgas son microorganismos ubicuos y abundantes en ambientes acuáticos. Previas investigaciones demuestran interacciones especie-específicas entre bacterias y fitoplacton, lo que sugiere la existencia de una función relevante en el control de las dinámicas fitoplanctónicas dependientes de la microbiota bacteriana existente. El objetivo de este trabajo fue identificar la comunidad bacteriana asociada a las diatomeas marinas *Nitzschia sp* y *Amphora sp*, componentes habituales del biofouling en ambientes marinos, aisladas desde la Bahía de Antofagasta. Matraces de 2 L con medio f/2 fueron inoculados con cultivos de microalga en fase estacionaria temprana. Se determinó cada 48 h la comunidad bacteriana asociada a las microalgas, durante 1 semana. Todos los experimentos fueron realizados en triplicado. La cuantificación de la abundancia de la microbiota epífita total fue obtenida por DAPI y las microalgas fueron cuantificadas por autofluorescencia de la clorofila, por microcospía.
Las bacterias epífitas fueron obtenidas por sonicación en baño ultrasónico por 10minutos, para separar las bacterias adheridas a las microalgas y luego filtradas a través de filtros GF/F, para retener las microalgas. El filtrado fue centrifugado y el pellet obtenido fue almacenado a -20°C hasta la extracción de DNA. La caracterización de la comunidad epífita fue realizada en base al polimorfismo del gen 16S rARN por DGGE, donde se seleccionaron las bandas dominantes, las que fueron escindidas del gel y reamplificadas por PCR. Resultados preliminares muestran al menos 5 ribotipos asociados a las microalgas estudiadas. La identificación de la comunidad bacteriana epífita permitirá elucidar la especificidad de las bacterias asociadas a estas diatomeas y su efecto en diferentes condiciones.
Financiamiento: Proyecto de Iniciación UA 1363. Fondo de Investigación Trabajos de Titulación Universidad de Antofagasta. Claudia Infante es becaria de Doctorado Conicyt.

33 *Cylindrospermopsis raciborskii* y la fijación de nitrógeno en una cianobacterias filamentosa con heterocistos terminales.
(Nitrogen fixation in the filamentous, terminal heterocyst forming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*).

Plominsky AM[1], Osses I[1], Bergman B[2], Vásquez M[1]

[1]Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Chile. [2]Stokholm University, Department of Botany.

Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos de gran importancia en la fijación de nitrógeno (N_2) y carbono atmosférico. Debido a que la enzima nitrogenasa es inactivada irreversiblemente por el O_2, las cianobacterias filamentosas capaces de fijar N_2 (diazótrofos) separan este proceso de la fotosíntesis de forma temporal (fijando N_2

durante la fase oscura de su fotoperiodo) o espacialmente (diferenciando células especializadas para la fijación de N_2 llamadas heterocistos).

Se ha descrito que la mutación del gen *pat*A en la cianobacteria filamentosa *Nostoc* sp. PCC7120, la cual bajo condiciones diazotróficas forma heterocistos intercalados en su filamento, diferencia sólo heterocistos terminales. A pesar de que estos heterocistos terminales de la mutante Δ*pat*A son funcionales, no son capaces de satisfacer los requerimientos de N_2 de todo el filamento. Entonces, cuáles son los mecanismos que permiten a las cianobacterias que normalmente diferencian heterocistos terminales sobrevivir en ambientes diazotróficos?

En este trabajo se estudió a *Cylindrospermopsis raciborskii* cepa CS-505, para determinar cuándo y dónde se fija el N_2 en una cianobacteria que diferencia heterocistos terminales. Se determinó, por medio del ensayo de reducción de acetileno, que la mayor tasa de actividad nitrogenasa ocurre durante las primeras horas de luz del fotoperiodo 12/12 y que después esta actividad va disminuyendo hasta ser nula 12h después del peak de la mañana. Se separaron los heterocistos y células vegetativas, mediante sonicacion y un sistema de dos fases de polímeros acuosos (de Dextran 500 y Polyethylene glycol 3500), y se utilizaron estas fracciones para determinar qué tipo celular expresa la nitrogenasa (por RT-PCR). Finalmente, se utilizó microscopía de transmisión acoplada a anticuerpos contra NifH para determinar la localización de la proteína nitrogenasa.

Se descartó la posibilidad de que las células vegetativas sean capaces de fijar N_2 durante la fase de oscuridad del fotoperiodo y se sentaron las bases para que, futuros estudios, analicen cómo es que el N_2 fijado en los heterocistos terminales es distribuido a las otras células del filamento.

Financiamiento: Fondecyt 1080075, Fondef MR07I 1005

34 Diversidad Bacteriana Psicrótrofa en Lagos Australes de la Patagonia Chilena (Psychrotrophic Microbial Diversity in Lakes of the Southern Chilean Patagonia)

Severino E[1], Caputo L[1], Dorador C[1,2]

[1]Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar & [2]Centro de Bioinnovación, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. esteban666_666@hotmail.com

Los sistemas límnicos fríos de la Patagonia Chilena se caracterizan por presentar bajas temperaturas, alta radiación solar y muy escasa presencia de materia orgánica. Estas condiciones ambientales tan particulares en la región genera un gran interés científico-biotecnológico por dos razones principales: i) conocer la diversidad bacteriana presente en este tipo de sistemas límnicos fríos y ii) dada las condiciones ambientales en que estos microorganismos habitan, la posibilidad de encontrar sustancias bioactivas de interés biotecnológico aplicable en el sector industrial. Para llevar a cabo estudios de la microbiota bacteriana presente, se estudiaron 15 lagos pre-andinos ubicados entre los 35 y 42°S. Muestras de aguas superficiales fueron enriquecidas *in situ* en medio nutritivo. La temperatura de cultivo y aislamiento fue de 5°C. La comunidad microbiana fue estudiada mediante el análisis del gen 16S rDNA de los enriquecimientos y los aislados seguido de un análisis de DGGE. En cuanto a la identificación de producción de sustancias bioactivas, se realizó una selección de los aislados de acuerdo a características fenotípicas (pigmentos, olor y producción de exopolisacáridos). Se realizó PCR del gen 16S rDNA para la identificación y la secuenciación de las cepas aisladas las cuales presentaron alta similitud con miembros de los géneros *Pseudomonas spp.* (99%), *Janthinobacterium spp.* (99%), *Aeromonas spp.* (99%), *Serratia spp.* (97%) y *Stenotrophomonas spp.* (99%), todos del filo γ-proteobacteria excepto *Janthinobacterium* (β-proteobacteria). La especie *Janthinobacterium lividum* produce un pigmento púrpura llamado violaceína. Se han llevado a cabo estudios sobre su efecto contra líneas celulares cancerígenas del colon, leucemia, pulmón, entre otras afecciones. De acuerdo a los aislados obtenidos de esta cepa (siete) sólo uno presentó el pigmento, todos crecidos bajo las mismas condiciones. Para examinar aislados seleccionados (productores de pigmentos, colonias elásticas y alto indicio de ácidos grasos poliinsaturados) se utilizó la Galería API, tinción Gram y microscopía óptica, ensayos de viabilidad, curvas de

crecimiento y búsqueda de genes funcionales PKS/NRPS (responsables de la síntesis de metabolitos secundarios como sustancias bioactivas). Resultados de una caracterización más profunda de la colección de aislados desde ambientes en regiones escasamente estudiadas permitirá expandir el conocimiento sobre la diversidad microbiana y los mecanismos de producción de sustancias bioactivas naturales.

Financiamiento: Proyecto de Iniciación UA 1362; Fondecyt 11080228; Fundación Huinay.

35 Ciclo biogeoquímico del arsénico en el Salar de Ascotán, Chile. Producción de cultivos tipos. (The arsenic biogeochemical cycle in the Salar de Ascotán, Chile. Production of type cultures).

Tebes C[1], Escudero L[1,2], Demergasso C[1,2]

[1]Centro de Biotecnología "Alberto Ruíz", Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. [2]Centro de Investigación Científica y Tecnológica para la Minería (CICITEM), Antofagasta, Chile. cinthya_net@hotmail.com

El Salar de Ascotán ubicado a 3.700 msnm en la II Región de Chile presenta altas concentraciones de arsénico en sus sedimentos (desde 781 a 6504 mg kg-1) y en sus aguas de (0,7 a 4,38 mg L-1), un rango de pH entre 5,0 y 8,6 y un rango de la salinidad que va de 1 a 3.090 g L^{-1}, convirtiéndolo en un excelente lugar para estudiar el ciclo biogeoquímico del arsénico. Se analizaron las comunidades microbianas capaces de metabolizar el arsénico en sedimentos de diferentes profundidades del Salar de Ascotán con técnicas dependientes e independientes de cultivo. Se enriquecieron las poblaciones de microorganismos reductores, oxidadores y fotosintéticos anaerobios oxidantes de arsénico utilizando medios selectivos, suplementados con sustratos orgánicos como acetato (10mM), citrato (15 mM) y lactato (2 mM) y diferentes concentraciones de As (V) y As (III). El estudio de la identificación filogenética de estos cultivos se llevó a cabo mediante técnicas moleculares, como amplificación por PCR y DGGE del gen ribosómico 16S rRNA. Además, se estudió la presencia de genes involucrados en los sistemas de respiración, detoxificación y oxidación de arsénico mediante marcadores específicos (genes arrA, arsC y aox, respectivamente) de cultivos que resisten 2mM de arsenato y 10 mM de arsenito. Se obtuvieron cultivos capaces de oxidar y reducir arsénico desde los sedimentos entre 0 y 20 centímetros de profundidad. Se realizaron aislamientos sobre placas a partir de los enriquecimientos obteniéndose 28 colonias con morfología diferente, que oxidan arsenito en concentraciones menores e iguales a 10 mM, utilizando como donador de electrones el acetato y el citrato, y 7 colonias capaces de reducir arsenato utilizando lactato como donador de electrones. Los aislamientos oxidadores y reductores de arsénico se caracterizaron mediante curvas de crecimiento a diferentes temperaturas, y se encontró que los cultivos son capaces de crecer en un rango entre 10 y 30 °C. Los resultados de las bandas obtenidas del análisis de DGGE fueron enviados a secuenciar. Mediante PCR se evidenció la presencia del gen *arrA* y no del gen arsC en los cultivos reductores de arsenato.. En los cultivos oxidantes de arsenito no se detectó la presencia de arrA pero sí del gen arsC y aox.

Los resultados previos de este estudio pondrían de manifiesto la presencia de cultivos oxidadores y reductores en este ambiente, confirmándolo con la detección del los genes asociados al ciclo del arsénico (arrA, arsC y aoxB), por lo que lograr identificar y caracterizar los distintos aislamientos nos permitiría entender mejor el ciclo biogeoquímico del arsénico en el Salar de Ascotán.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1100795.

36 Cambios en la proporción de análogos de toxinas paralizantes en respuesta a diferentes salinidades en el dinoflagelado tóxico *Alexandrium catenella*.
(Changes in the proportion of paralytic toxins analogues in response to different salinities in the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*).

Trefault N[1], Delherbe N[1], Mujica, JF[1], Krock, B[2] y Vásquez, M[1]

[1]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research, Bremerhaven, Alemania. ntrefault@gmail.com

Los florecimientos algales son fenómenos ecosistémicos naturales, y en la mayoría de los casos beneficiosos, que ocurren en todos los océanos en el mundo. Sin embargo, cuando el organismo que prolifera produce algún tipo de perturbación sobre los ecosistemas, se denominan florecimientos nocivos. En las regiones australes de Chile se producen florecimientos algales nocivos recurrentes del dinoflagelado *Alexandrium catenella*. Su nocividad y peligrosidad radica en que esta microalga es capaz de producir un grupo de análogos de toxinas llamadas colectivamente toxinas del tipo "Paralytic Shellfish Poisoning" (PSP), las cuales bloquean canales de sodio dependientes de voltaje e impiden la transmisión del impulso nervioso. Una de las múltiples razones que dan cuenta de la dinámica de formación de florecimientos de *Alexandrium spp.* corresponde a cambios en salinidad debido a ingreso de aguas dulces en sistemas marinos. Investigaciones recientes realizadas en nuestro laboratorio indican que en los últimos años se ha producido un incremento en la toxicidad de los clones predominantes en la región de Aysén, los cuales son casi 8 veces más tóxicos que los clones aislados a mediados de los años 90.

En este trabajo, se realizó un análisis del efecto de la salinidad sobre el perfil de toxinas PSP producidas por un clon obtenido recientemente desde la región de Aysén, *A. catenella* A50C1, mediante caracterización por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa en tándem (LC-MS/MS). Los resultados indican que al crecer *A. catenella* A50C1 a 15, 20, 25, 30 y 35 PSU los análogos producidos son Saxitoxina, Neosaxitoxina y Gonyautoxinas, los análogos de mayor toxicidad, y se producen cambios en la proporción de éstos. Sin embargo, no se detectaron cambios en el perfil de toxinas producidas, siendo siempre los análogos más abundantes las Gonyautoxinas. A 20 PSU se detectan los mayores contenidos de análogos de toxinas PSP por célula, sugiriendo que este factor físicoquímico tiene incidencia sobre la producción de toxinas por parte de *A. catenella*. En conjunto, estos resultados sugieren que la salinidad afecta la síntesis y/o conversión de los diferentes análogos en *A. catenella*, lo que se podría relacionar con un potencial efecto de estas toxinas sobre la regulación osmótica en dinoflagelados.

Financiamiento: Fondef MR07I-1005; Fondecyt 1080075.

37 Caracterización molecular de microorganismos hipertermófilos de los Géiseres de Candarave en Tacna, Perú (Molecular characterization of hyperthermophile microorganisms from Candavare Geysers in Tacna, Peru).

Valdez S[1], Esparza M[2,3], Cáceda J[1], Dorador C[2,3]

[1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú. [2]Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta, Chile. [3]Centro de Bioinnovación de Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Chile.

Los cuerpos de aguas termales y los géiseres constituyen una fuente natural para ejecutar estudios de diversidad microbiana. La vida microbiana existente en estos ambientes está sometida a condiciones extremas de temperatura, baja presión de O_2 y alta altitud lo cual puede informarnos de cómo en tales condiciones se realizan los diferentes procesos celulares y qué mecanismos utilizan para vivir en tales condiciones. En tal sentido, se estudiaron los microorganismos hipertermófilos de tres géiseres ubicados a 4400 m.s.n.m. en la localidad de Calientes en el distrito de Candarave (17°S, Cordillera de los Andes en Tacna, Perú).
Se obtuvieron muestras de agua y sedimento de tres géiseres (G) que presentaron las más altas temperaturas del campo geotermal (G1=88°C; G2=88°C; G3=84°C) y se observó por microscopía óptica la presencia de microorganismos. Posteriormente, se aisló y purificó ADN total de cada muestra y se analizó la presencia del gen que codifica para el ARNr 16S en bacterias y arqueas mediante técnicas moleculares (PCR, DGGE), secuenciación y análisis filogenéticos.
Al observar la muestra en forma directa se encontraron bacterias gramnegativas de forma cocoide y bacilar en los tres géiseres, como también diatomeas *Denticula* spp. y *Nitzschia* spp. Los análisis moleculares mediante PCR y DGGE muestran una marcada diferencia entre las comunidades de bacterias de agua y sedimento. La riqueza de especies es baja y varía entre 3-10 en *Bacteria* y 1-3 en *Archaea*.
El estudio detallado de bacterias y arqueas termófilas en los Géiseres de Candarave, constituye una fuente importante de microorganismos que pueden ser explorados en investigaciones futuras que aborden ecología, genómica y aplicaciones biotecnológicas.
Financiamiento: Fondecyt 11080228, Municipalidad de Candarave, Tacna, Perú

38 Caracterización molecular *in situ* de la diversidad de bacterias ruminales mediante análisis del gen cpn60. (*In situ* molecular characterization of ruminal bacteria diversity by *cpn60* gen analysis).

Vásquez L[1], Valderrama X[2], Matamala E[2], Hill J[3]

[1]Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias, U. Austral de Chile. [2]Instituto Producción Animal. Facultad de Ciencias Agrarias U. Austral de Chile. [3]Department of Veterinary Microbiology, University of Saskatchewan-Canadá

Dentro de los microorganismos presentes en el rumen destacan las bacterias, debido a que determinados grupos bacterianos son capaces de degradar las fibras vegetales, ricas en celulosa y otros polisacáridos y metabolizarlos hasta compuestos utilizables por el animal, además de ser una importante fuente de proteínas. Sin embargo, en la literatura actual se indica que sólo se conoce alrededor de un 10% de las bacterias presentes en el rumen, debido a las dificultades para cultivarlas *in vitro*. El objetivo de este estudio fue determinar *in situ* las poblaciones bacterianas en vacas lecheras, mediante la amplificación y secuenciación del gen *cpn60*. El uso de este gen como marcador molecular ha demostrado

grandes ventajas frente a otros, debido a su tamaño, alto grado de conservación y principalmente a la presencia de una sola copia en todos los organismos vivos, lo que permite una cuantificación eficiente tanto a nivel de especie como de subespecies.
Se utilizaron vacas lecheras fistuladas no lactantes de la raza Holstein (n=3), recibiendo una dieta de ensilaje/pradera (35%respectivamente) y 30% de concentrado. Se generó un pool de ADN genómico, mediante la extracción de bacterias de contenido ruminal recolectado en 3 horarios, durante 2 ciclos de alimentación. La determinación bacteriana se realizó por medio de la amplificación por PCR de fragmentos de ADN genómico, con partidores universales degenerados específicos para el gen *cpn60*, generándose una librería correspondiente a 627 clones.
Los resultados indicaron que la diversidad de especies bacterianas asociadas al rumen es muy alta, debido a que, del total de secuencias de la librería, 437 correspondieron a secuencias distintas. Además el 68% de las secuencias obtenidas, presentó una similitud inferior al 97% respecto a las cepas tipo de las especies existentes en la base de datos.Las secuencias correspondieron predominantemente a los Phylum *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, destacándose la presencia del género *Prevotella*, en un 41% y principalmente la especie *P. ruminicola* con un 30% del total de secuencias. Dentro de los *Firmicutes* son predominantes las secuencias asociadas a la clase *Clostridia*, correspondiendo a géneros y especies conocidos por su asociación con la fermentación ruminal, sin embargo, resulta importante la proporción correspondiente a secuencias asociadas al género *Clostridium*, pudiendo tener grandes implicancias desde el punto de vista de potenciar la nutrición y salud del animal.
Financiamiento: Proyecto FONDECYT 110800211

39 Cultivo de Archaea amonio-oxidantes mesófilas desde el Salar de Huasco, Chile (Cultivation of mesophile ammonia-oxidizing *Archaea* from Salar de Huasco, Chile)

Vázquez Y[1], Cubillos C[1], Dorador C[1,2]

[1]Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Acuicultura, Facultad de Recursos del Mar & [2]Centro de Bioinnovación de Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Chile. lain.ta@gmail.com

El Salar de Huasco es un humedal ubicado en la Región de Tarapacá a 3.780 msnm en el Altiplano Chileno, se caracteriza por presentar alta aridez, alta radiación UV y diferencias de temperatura entre el día y la noche, configurando un interesante modelo de estudio. Se postula que algunos microorganismos que se encuentran en este Salar estarían cumpliendo un rol fundamental en ciclos biogeoquímicos, principalmente en el ciclo del Nitrógeno. El proceso de Nitrificación (oxidación biológica de NH_4^+ a NO_2^-) es llevado a cabo por microorganismos oxidantes de amonio (AOM), tanto del dominio *Bacteria* como *Archaea*, sin embargo, existe un desconocimiento sobre el mecanismo de nitrificación realizado por *Archaea* debido a la casi ausencia de aislados y cultivos de *Crenarchaeota* de ambientes mesófilos. En este trabajo se realizaron cultivos de enriquecimientos de muestras de sedimento del Salar de Huasco en medio mineral con amonio como única fuente de energía. Se determinó la producción de NO_2^- en los enriquecimientos y aislados mediante la reacción Griess-Ilosvay, indicando producción de nitrito en el enriquecimiento y en 5 de 12 aislados. Los análisis moleculares del gen ribosomal 16S rRNA y del gen funcional amoA muestran presencia de *Archaea* y *Bacteria*. También se realizaron análisis de microscopía óptica y DAPI, obteniéndose como resultado una población de microorganismos con morfología y características similares a las descritas por Könneke et al. (2005) para *Nitrosopumilus maritimus* (única *Crenarchaeota* mesófila cultivada). Resultados preliminares de secuencias del gen 16S rRNA indicarían presencia de *Crenarchaeota* en el cultivo de enriquecimiento. Actualmente se realiza la identificación molecular de los aislados nitrificantes y de las genotecas de los enriquecimientos.
Financiamiento: Proyecto Iniciación UA 1362; Fondecyt 11080228

40 Diversidad bacteriana de sedimento marino bajo las jaulas de cultivo de salmones. (Bacterial diversity in marine sediments from salmon farming)

Wittwer G, Grandón M, Godoy F

CIEN Austral, Universidad Austral de Chile. Puerto Montt. felix.godoy@cienaustral.cl

Los sedimentos marinos bajo las jaulas de cultivo de salmones, reciben un importante aporte de materia orgánica proveniente de las fecas de los salmones y del alimento no consumido. En este trabajo se analizó la diversidad bacteriana presente en los sedimentos marinos bajo las jaulas de cultivo durante el tiempo de engorda.
Para el análisis de la diversidad bacteriana se construyeron librerías de clones a partir de muestras tomadas desde sedimento superficial (0-5 cm) provenientes de centros de cultivo a los 2, 4, 8, y 13 meses de iniciado el proceso de engorda. A partir de estas muestras, el DNA fue extraído, y el fragmento ADNr 16S fue amplificado, clonado, y secuenciado. El análisis filogenético de las librerías de ADNr 16S de 516 clones, muestra que las secuencias afiliadas al grupo Bacteroidetes, Plantomycetes, y Alpha-, Gama-, y Deltaproteobacteria están representados en las 4 librerías estudiadas. Los clones pertenecieron a 14 de las principales divisiones bacterianas: Firmicutes, Fusobacteria, Actinobacteria, Nitrospira, Acidobacteria, Planctomycetes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia. Chloroflexi, Lentisphaerae y proteobacterias (alfa, beta, gama, delta y epsilon), OD1, TM7, WS3. Las secuencias más abundantes pertenecieron a Deltaproteobacteria (26%), Bacteroides (37%), Epsilonproteobacteria (44%) y Deltaproteobacteria (29%) a los 2, 4, 8, y 13 meses de iniciado el proceso de engorda, respectivamente. Las secuencias asignadas a la bacteria oxidante de sulfuro, *Sulfurovum sp*, se presentó en un alto porcentaje especialmente en las muestras de sedimentos con jaulas de 8 meses de engorda (44%). Otras secuencias afiliadas al grupo de bacterias reductoras de sulfatos como: *Desulforhopalus* sp., *Desulfosarcina* sp., y *Desulfobulbus* sp. fueron encontradas en menor abundancia.
Los resultados permiten indicar que el sedimento marino bajo las jaulas de cultivo de salmones presenta una alta diversidad bacteriana, y que los grupos metabólicos relacionados a la descomposición de materia orgánica como las bacterias anaerobias relacionadas al ciclo del azufre tienden a predominar.
Financiamiento: Proyecto INNOVA 05CT6PPT-21, e INNOVA 09MCSS 6721.

AREA TEMÁTICA: MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

41 Comparación de la producción de derivados fenólicos entre levaduras contaminantes de vinos (Comparison of the phenolic derivatives production between wine spoilage yeasts)

Aguilera, S.[1], Ravanal, M.C.[1], Sangorrin, M.P.[3], Lopes, C.A.[3], Martínez, C.[1,3], Ganga, M.A.[1].

[1]Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. [2]Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile. Obispo Manuel Umaña 050. Estación Central. [3]Laboratorio de Microbiología y Biotecnología, Instituto de Investigación y Desarrollo de la Patagonia Norte (IDEPA, ONICETUNCOMA) Universidad Nacional del Comahue. Buenos Aires 1400 (8300) Neuquén. sergio.aguilera@usach.cl

Dekkera bruxellensis es el principal responsable del deterioro aromático de vinos debido a la producción de fenoles volátiles a partir de los ácidos cinámicos presentes en el mosto de uva. Estos ácidos cinámicos son metabolizados por la acción de las enzimas cinamato descarboxilasa (CD) y vinil reductasa (VR), produciendo vinilderivados y etilderivados, respectivamente. Por otro lado, la levadura *Pichia guilliermondii* ha sido descrita como productora de fenoles volátiles en vino. Sin embargo, en esta levadura, no se conoce la ruta de producción de estos compuestos. En este trabajo se aislaron cepas de *D. bruxellensis* y *P. guilliermondii* de distinto origen geográfico, las cuales fueron diferenciadas por medio de RAPD-PCR. Además se determinó la producción de vinilfenol y etilfenol en medios de cultivos y las actividades enzimáticas CD y VR. Los resultados muestran diferencias en la producción de estos compuestos, siendo mayor la cantidad de etilfenol en las cepas de *D. bruxellensis*. Asimismo, todas las cepas de *D. bruxellensis* presentan actividad CD y VR. En *P. guilliermondii* las cepas españolas tienen ambas actividades enzimáticas, mientras que la cepas argentinas sólo presentan actividad CD. Por otra parte, el ácido *p*-cumárico consumido por las levaduras *P. guilliermondii* españolas y algunas cepas de *D.* bruxellensis no equivale a la cantidad de derivados fenólicos producidos. Este resultado avala la hipótesis que el vinilfenol presente en el medio podría ser metabolizado a otro compuesto diferente al etilfenol. La presencia de actividad CD y VR en cepas de *P. guilliermondii* sugiere que esta especie utilizaría la misma ruta metabólica que ha sido descrita para *D. bruxellensis*. Por otra parte, las cepas de *P. guilliermondii* que sólo producen vinilfenol podrían potenciar la acción deteriorante de *D. bruxellensis* debido al hábitat común de ambas levaduras,.

Agradecimientos: FONDECYT 1080376, Programa de Cooperación Científico Internacional CONICYT/MINCYT 2009, Programa de Profesores Visitantes Universidad de Santiago de Chile.

42 Efecto de los ácidos hidroxicinámicos, temperatura y etanol sobre la expresión del gen cd que codifica una cumarato descarboxilasa en *Dekkera bruxellensis*.
(Effect of cinnamic acid, temperature and ethanol on the expression cd gen that encode a cumarate decarboxylase in *Dekkera bruxellensis*).

Carrasco C[1], Aguilera S[1], Salinas S, Martínez C[2], Ganga MA[1]

[1]Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos [2]Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile. Obispo Manuel Umaña 050. Estación Central. angelica.ganga@usach.cl

Dekkera bruxellensis es el principal microorganismo contaminante de vinos y responsable de importantes pérdidas económicas en la industria vitivinícola. Esto se debe a que afecta negativamente las características organolépticas, por la transformación de los ácidos hidroxicinámicos, presentes normalmente en la uva, a compuestos fenólicos volátiles. La enzima cinamato descarboxilasa (CD) transforma los ácidos hidroxicinámicos en el derivado vinilo y la enzima vinilfenol reductasa (VR) transforma este último en el derivado etilo. Estos compuestos presentan aromas a "medicina", "fenol" y "humo", los que desde un punto de vista enológico, resultan indeseados a altas concentraciones. Se han realizado numerosos estudios para entender como actúa la enzima CD en la vía de producción de los fenoles volátiles en *D. bruxellensis*, sin embargo, no hay estudios sobre la regulación del gen que codifica esta actividad enzimática en la levadura. En este trabajo se implementó la técnica de PCR en tiempo real para la cuantificación de la expresión del gen *cd*, permitiendo evaluar el efecto de diferentes parámetros de importancia enológica sobre la expresión del citado gen en la cepa nativa *D. bruxellensis* L-2480. Para ello, se estudió la interacción de la concentración de etanol, la temperatura y la concentración de los ácidos cafeico, cumárico y ferúlico en el medio de cutivo. Los resultados de este trabajo determinaron que los factores que incrementaron significativamente la expresión del gen *cd* fueron temperatura y concentración de etanol, mientras que las concentraciones de los ácidos hidroxicinámicos que se utilizaron en este trabajo no ejercerían ningun efecto sobre la expresión de este gen.
Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1080376

43 Estudio de factores de virulencia en distintos fagotipos de *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*.
(Study of virulence factors in diferents phagotypes of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*).

Escobar K[1,2], Sayes C[1], Galetovic A[1], Aravena C[1]

[1]Laboratorio de Bioquímica, Departamento Biomédico, Universidad de Antofagasta. [2]Estudiante tesista pregrado carrera Bioquímica. karinae.bq@gmail.com

Las bacterias del género *Salmonella* son agentes causantes de intoxicaciones por alimentos a nivel mundial. Estudios demuestran que *Salmonella enterica* subesp. enterica serovar *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) es uno de los serotipos que con mayor frecuencia producen intoxicaciones alimentarias. Se han identificado como causantes de brotes epidémicos a los fagotipos (FTs) de *S.* Enteritidis: FT4, FT8 y F13a predominantemente en Inglaterra y Estados Unidos, como también a FT1, FT21 y FT4 en Europa y Latinoamérica. No existe claridad sobre los factores que influyen para que algunos fagotipos sean más prevalentes que otros en las toxiinfecciones alimentarias. Por lo que este estudio tiene por objetivo determinar factores de virulencia como producción de biofilm y resistencia a intermediarios reactivos de nitritos (IRN) en diferentes fagotipos de *S.* Enteritidis. Para ello, se estudiaron la capacidad de formar biofilm por el método de tinción con Cristal Violeta y la resistencia a IRN en medio LB con $NaNO_2$ en cepas de S. Enteritidis FTs: FT1, FT2, FT4, FT6,

FT7a, FT7, FT13a y FT21 aisladas de infecciones humanas (ISPCH). Se usaron como controles en este estudio cepas de *Salmonella* de referencia LT2 y TY2. Se obtuvo una mayor formación de biofilm en los fagotipos FT7 y FT2 ($p<0.05$) y una menor formación en FT1 y FT13a; mientras que en los ensayos de susceptibilidad a IRN se obtuvo una mayor resistencia por parte de los fagotipos FT21 y FT7a. De los resultados se puede concluir que la mayor incidencia en brotes epidémicos por S. Enteritidis de algunos FTs no está relacionado con los factores de virulencia analizados. En una próxima etapa se evaluaran otros factores como la invasión y la adhesión celular que podrían explicar la diferencia en la prevalencia de algunos fagotipos de S. Enteritidis.

Financiamiento: Beca tesis pre-grado DIR INV-Universidad Antofagasta 2010.

44 La actividad lactosidasa del probiótico Kéfir es influenciada por el contenido de materia grasa y la presencia de prebióticos.
(Lactosidase activity of Kéfir, a probiotic food, is determinated by lipid concentration and the presence of prebiotic compunds).

Ibacache-Quiroga C, Ascencio E, Casanova T, Riquelme V, Villalon K, Dinamarca MA

Laboratorio de Biotecnología Microbiana, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. alejandro.dinamarca@uv.cl

Actualmente, alrededor del 75% de la población mundial presenta intolerancia a la lactosa. Esta condición se caracteriza por la incapacidad de acceder y asimilar la lactosa, el principal azúcar presente en la leche, lo que afecta la salud y la calidad de vida de las personas. En este contexto, el kéfir de leche, un probiótico producido por un consorcio de microorganismos, se presenta como una alternativa para quienes presentan esta afección. Esto se explica por la acción de enzimas del tipo lactosidasas producidas durante el proceso de fermentación. Al igual que en otros microorganismos, esta actividad enzimática se encuentra regulada a nivel genético, lo que modula su actividad en función de las condiciones fisiológicas, metabólicas y ecológicas. El presente trabajo evaluó el efecto de la matriz láctea utilizada para la producción de kéfir, sobre la actividad lactosidasa. En específico, se midió cómo el contenido de materia grasa de diferentes marcas comerciales de leche UHT, y la presencia de azúcares como inulina y fructo-oligosacáridos (FOS) afectan la actividad lactosidasa. Para la producción de kéfir de leche se utilizaron dos consorcios de microorganismos, denominados KA y KB. La actividad lactosidasa se evaluó en las diferentes muestras por la capacidad de escindir ONPG y el resultado fue cuantificado colorimétricamente mediante espectrofotómetro. Los resultados obtenidos y el análisis estadístico indican que la actividad lactosidasa en el probiótico kéfir es influenciada por la cantidad de materia grasa, siendo mayor la actividad en leches enteras de 3,1 % (p/vol.). A su vez, se pudieron establecer diferencias entre la marcas de leche analizadas para un mismo contenido de materia grasa, indicando que, además de la cantidad, el tipo de ácidos grasos puede afectar la actividad lactosidasa. Por otra parte, la presencia de inulina inhibe la actividad lactosidasa en el kéfir producido por ambos consorcios. Finalmente, se determinó el efecto de FOS presentes en fórmulas lácteas destinadas a neonatos. Como conclusión se establece que los consorcios de microorganismos utilizados para la producción de kéfir presentan una importante actividad lactosidasa, modulada por la presencia (y posiblemente tipos) de ácidos grasos y azúcares prebióticos del tipo FOS. Así mismo se establece que el método empleado puede ser de utilidad en la evaluación de las propiedades prebióticas y probióticas de alimentos funcionales comerciales.

45 Aislamiento de promotores y orígenes de replicación de Brettanomyces bruxellensis funcionales en *Saccharomyces cerevisiae*.
(Isolation of promoters and replication origins of *Brettanomyces bruxellensis* functional in *Saccharomyces cerevisiae*).

Valenzuela M[1], García V[1], Peña R[1], Martínez C[1,2], Ganga, MA[1]

[1]Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada. Universidad de Santiago de Chile. [2] Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile. Obispo Manuel Umaña 050. Estación Central
manuel.valenzuelaco@usach.cl

Brettanomyces bruxellensis es el principal contaminante de vino debido a la producción de aromas indeseados. La transformación de esta levadura es importante para el estudio de factores que afectan su expresión y regulación génica. En este trabajo se identificaron orígenes de replicación y promotores de *B. bruxellensis* funcionales en *S. cerevisiae*, con el propósito de obtener un sistema de transformación. Para ello se utilizó el plásmido pUG6, que posee el cassette de resistencia a geneticina bajo el comando de un promotor funcional en *S. cerevisiae*, y no presenta origen de replicación de levadura. La clonación de fragmentos de DNA genómico de *B. bruxellensis* en dicho plásmido, permitió el aislamiento de un fragmento de 3844 pb el cual le confirió la capacidad de replicar en *S. cerevisiae*. El análisis de la secuencia del fragmento aislado, arrojó la presencia de segmentos similares a secuencias consenso de ARSs de *S. cerevisiae*. Por otra parte, la clonación de construcciones en el vector episomal YEpACT4, consistentes en el cassette de resistencia a geneticina bajo el comando de hipotéticas zonas promotores de *B. bruxellensis* identificadas a partir de genes descritos, posibilitó el aislamiento de promotores de *B. bruxellensis* funcionales en *S. cerevisiae*. Los promotores identificados fueron los de los genes *ynr1* y *ura3* de *B. bruxellensis*, los cuales codifican para una nitrato reductasa y orotidina 5 fosfato descarboxilasa, respectivamente. Con los elementos descritos en este trabajo será posible el diseño de un vector de expresión para la transformación de *B. bruxellensis*.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1080376

AREA TEMÁTICA: MICROBIOLOGÍA ORAL

46 Extracto de ciruela pasa y su efecto *in vitro* sobre cultivos de *Streptococcus mutans*. (Ciruela pasa extract and its effect *in vitro* on cultures of *Streptococcus mutans*).

Arancibia M, Guzmán A

Facultad de Odontología, Universidad del Desarrollo-Concepción, Chile

Introducción: La caries dental es una enfermedad infecto contagiosa la cual puede ser causada por una variedad de factores de riesgo dentro de los cuales encontramos *Streptococcus mutans* que está presente en la biopelícula de placa bacteriana supragingival. Este trabajo evalúa el efecto del extracto de ciruela pasa sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans.*

Metodología: Se preparó sensidiscos con extracto alcohólico de ciruela pasa y de las diluciones 1:10, 1:100, 1:1.000, 1:10.000, 1.100.000 y 1:1.000.000. Se usó clorhexidina 0.12% como control positivo, agua destilada como control negativo y alcohol 35%. *Streptococcus mutans* se cultivó en agar mitis salivarius suplementado con 20 % de sacarosa en condiciones de microaereofilia; luego se aplicó los sensidiscos correspondientes (por triplicado) e incubados a 37° C por 48 horas, en anaerobiosis. Los datos se analizaron mediante medidas de tendencia central (media aritmética) y de dispersión (desviación estándar). Además, los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal-Wallis.

Resultados: las media de halos de inhibición fueron control positivo 15.6 mm, control negativo 0 mm, alcohol 35% 0 mm, extracto puro 0 mm; dilución (1:10) 0 mm, dilución (1:100) 10,4 mm, dilución (1:1.000) 10,5 mm, dilución (1:10.000) 9,9 mm, dilución (1:100.000) 10,8 mm y dilución (1:1.000.000) 9,3 mm.

Discusión: el efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* fue evidente sólo en los extractos más diluidos. La ausencia de efecto en el extracto puro y en la dilución 1:10 se podría explicar por el alto contenido de azúcares como fuente de carbono para los microorganismos (Sladek et al, 2007). El mecanismo de inhibición de la ciruela podría estar dado por la presencia de triterpenoides (Judd et al, 2002 y Dzubak et al, 2006), pendiente para estudios posteriores.

Conclusiones: El extracto de ciruela pasa tiene un efecto inhibitorio en el crecimiento de *Streptococcus mutans en las diluciones desde* 1:100 hasta 1:1.000.000. No se observó efecto en el extracto sin diluir y dilución 1:10. El efecto inhibitorio no tiene relación directa con la concentración del extracto utilizado. La concentración mínima inhibitoria la encontramos en la dilución (1:100). En las placas con alcohol 35° no se observó inhibición, descartando así el posible efecto inhibitorio del alcohol del extracto de ciruela pasa. Ya que, productos derivados de las plantas han sido usados durante años en el tratamiento de las caries y algunos han sido incluidos dentro de enjuagues; el efecto del extracto de ciruela pasa lo hace un buen candidato para ser usado en la prevención oral de las caries.

47 Detección de *Prophyromonas gingivalis* mediante la amplificación del gen 16rDNA desde pacientes con Periodontitis crónica generalizada.
(Detection of *Porphyromonas gingivalis* by 16rDNA gene amplification from subjects with chronic periodontitis).

Diaz L[1], Gonzalez L[2], Ulloa M[2], Pozo P[1]

[1]Departamento de Química y Farmacia, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile. [2]Departamento de Odontología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile. ppozo@ucn.cl

Porphyromonas gingivalis (Pg) es un organismo anaerobio, Gram (-), pigmentado de negro, representativo de la microbiota patógena asociada a la enfermedad periodontal, sin embargo, estudios previos sugieren que la presencia de este periodontopatógeno depende en sujetos que presentan origen étnico distinto.
El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de Pg en el surco periodontal de pacientes diagnosticados con periodontitis crónica generalizada, empleando una metodología basada en la PCR, amplificando la región hipervariable en el DNA ribosomal 16S directamente desde muestras de placa o a partir de cultivos provenientes de pacientes con periodontitis crónica generalizada, como una manera de Validar la técnica de PCR .
Se seleccionaron 41 pacientes y se tomaron 107 muestras de placa bacteriana subgingival utilizando conos de papel para endodoncia. Del total de muestras sólo 36 muestras fueron analizadas a través la técnica de PCR directo utilizando partidores específicos para este patógeno periodontal. Como control positivo se utilizaron cultivos de ATCC 33277. Las muestras de placa subgingival tomadas desde 4 pacientes se mezclaron, dispersaron y diluyeron en forma seriada con una solución fosfato salina (PBS). A partir de la suspensión bacteriana (10^{-3}) se sembraron en un medio no selectivo, para la detección de *P. gingivalis;* agar sangre, 5% de sangre de caballo enriquecido con Hemina – Menadiona. Se seleccionaron morfológicamente al menos 16 tipos distintos de colonias y luego fueron re-sembradas en el mismo medio y para posteriormente, la emisión de luz roja bajo lámpara uv, verificar la capacidad auto - fluorescente de la bacteria y posteriormente mediante PCR. Los resultados obtenidos confirman la presencia de *P. gingivalis* en un 19% de los sitios totales. Además, de los pacientes reclutados sólo un 13% presenta al menos un sitio con *P. gingivalis.* Es controversial el hecho que se haya detectado un porcentaje bajo de Pg en estos sitios dado que este patógeno ha sido descrito como altamente asociado a esta enfermedad, pero no es el único periodonto-patógeno presente en periodontitis.
En conclusión, la utilización de la técnica de PCR nos permite obtener un resultado de manera rápida, efectiva y con un bajo límite de detección a diferencia de los métodos microbiológicos tradicionales como el cultivo–identificación, permitiendo una rápida y fácil técnica para el diagnóstico.

AREA TEMÁTICA: PATÓGENOS Y VIROLOGÍA

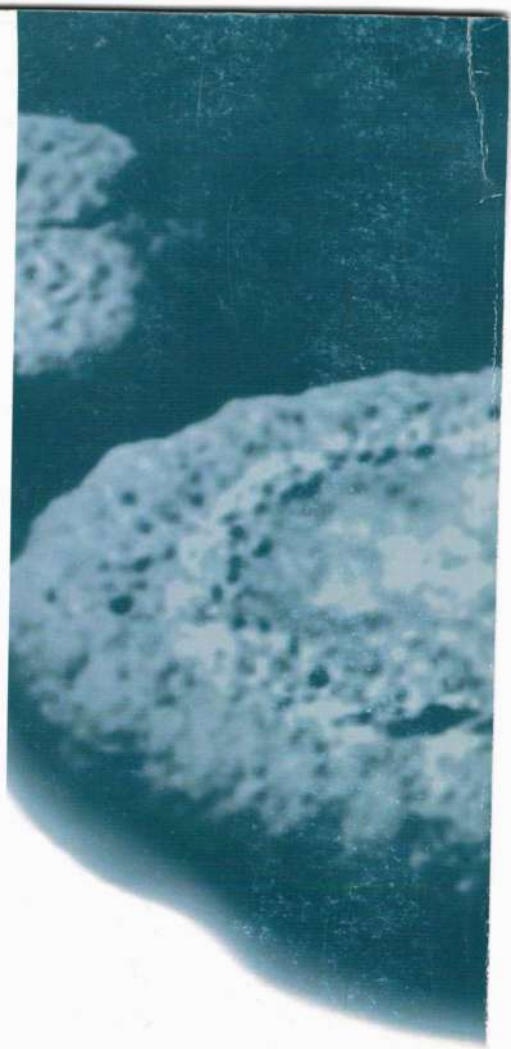
48 Prevalencia de beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones urinarias en la comunidad de Antofagasta.
(Prevalence of extended spectrum beta-lactamase (BLEE) in *Escherichia coli* strains isolated from urinary infections in the Antofagasta community)

Báez J, González C, Alvarez J, Gahona J, Herrera N, Valenzuela N, Pairo S, Urdanivia R, Guerrero K, Silva J.

Programa de Magister en Ciencias Biomédicas, Facultad Ciencias de la Salud. Unidad de Microbiología, Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta.

Las β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que hidrolizan y confieren resistencia a penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera generación, como cefotaxima y ceftazidima, y también, aztreonam. Son inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de ß-lactamasas, como el tazobactam y el sulbactam. La producción de BLEE ha sido descrita mayoritariamente en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. En la actualidad, constituyen un problema terapeútico y epidemiológico, porque la mayoría de las BLEE son de origen plasmidial y llevan asociada resistencia a otras drogas antimicrobianas. Recientemente, se han descrito aislamientos de cepas de *E. coli* productoras de BLEE en la comunidad. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de β-lactamasas (BLEE) y su prevalencia en aislamientos de *E. coli* causantes de infección urinaria en la comunidad de Antofagasta. Un total de 53 cepas de *E. coli* aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario (ITU) atendidos en Consultorios de Atención Primaria de Antofagasta, durante el año 2009, fueron incluidas en este estudio. La identificación y la susceptibilidad de las cepas de *E. coli* a diversos antibióticos fueron realizadas en un equipo Vitek. Las cepas que presentaron resistencia a cefotaxima y/o ceftazidima, fueron descritas como BLEE positivas. En el total de las cepas de *E. coli*, se identificaron los fenotipos bioquímicos mediante el sistema Phene-Plate y se investigó la presencia de BLEE por la técnica de difusión en agar por doble disco. Se usaron discos de cefotaxima y ceftazidima, y los mismos discos adicionados con ácido clavulánico. Además, la presencia de los genes que codifican para las β-lactamasas TEM, SHV, CTX-M, AmpC y TOHO-1 fueron investigadas mediante PCR, usando partidores específicos. Los resultados mostraron que el sistema Phene-Plate permitió la identificación de 12 fenotipos diferentes, encontrándose como predominante el PhP-1 con 24 cepas [45%]. La mayor resistencia fue observada a ampicilina [96%], cefalotina [83%], quinolonas [72%], cefotaxima [65%] y en menor proporción a otros antibióticos. La mayor susceptibilidad se presentó a imipenem [100%]. La técnica de doble disco identificó un 76% de las cepas de *E. coli* como BLEE positivas; en cambio, la técnica de PCR detectó 70% de las cepas como BLEE positivas. La mayor prevalencia fue para CXT-M [53%], seguido de TEM [34%], SHV [8%] y mucho menos AmpC y TOHO-1. En este estudio se demostró la presencia de BLEE en cepas de *E. coli* aisladas en IITU en la comunidad de Antofagasta. Aunque su frecuencia es baja pueden llevar a serias fallas en los tratamientos de las ITU. Por ello, es recomendable mantener un adecuado manejo del tratamiento con cefalosporinas de tercera generación e incrementar los mecanismos de control de las infecciones urinarias.

Zamorano,C 57
Zamorano,P 159
Zárate,G 122
Zárraga,AM 24, 72
Zunino,E 162
Zúñiga, A 161
Zurita,P 24



Organizan

SoMCh
Sociedad de Microbiología de Chile

Universidad Católica del Norte
ver más allá

UA Universidad de Antofagasta

Auspician

BARRICK

Sociedad Chilena de Litio Ltda.

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY

ESO

MINERA ESCONDIDA
Operada por BHP Billiton

BIOSIGMA

COLLAHUASI

CIENTEC
INSTRUMENTOS CIENTIFICOS S.A.

FERMELO

GALENICA
BIOTECNOLOGIA • BIODIAGNOSTICO

GENEXPRESS