

RELACIÓN GENÉTICA Y PERFIL DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA ENTRE AISLAMIENTOS DE *Thielavia* sp. A PARTIR DE UN EJEMPLAR DE *Peperomia sandersii*
Barolo, M.¹, Castelli, M.V.¹, Consolo, F.V.², López, S.N.¹

¹ Farmacognosia, Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, CONICET, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531 (2000) Rosario.² INBIOTEC-CONICET y FIBA, Vieytes 3103, Mar del Plata (7600), E-mail: mcastel@fbioyf.unr.edu.ar

Los productos naturales representan la fuente más compleja y diversa de moléculas bioactivas, capaces de ser utilizadas con o sin modificaciones estructurales posteriores, en el tratamiento de enfermedades. Las probabilidades de éxito en la búsqueda de metabolitos bioactivos aumentan si se estudian organismos genética y evolutivamente diversos. Los microorganismos endofíticos, aquellos que residen dentro de los tejidos vegetales sin producir enfermedad detectable, representan un nicho ecológico interesante para ser explorado con ese fin. Previamente el análisis de partes aéreas de un ejemplar sano de *Peperomia sandersii* C. DC. (Piperaceae) permitió el aislamiento de 26 hongos endofíticos, de los cuales 19 (73 %) fueron identificados como *Thielavia* sp. mediante la amplificación, secuenciación y comparación con bases de datos de los dominios variables D1 y D2 del ADNr 28S. Los extractos de los hongos endofíticos, crecidos en Agar Papa Dextrosa durante 21 días, fueron evaluados por bioautografía frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a 25, 50 y 100 µg. Mientras que menos del 10 % de los extractos evaluados resultaron activos frente a *E. coli*, el 81 % (21) de los mismos mostró actividad frente a *S. aureus* al menos a 100 µg, proviniendo el 86 % (18) de extractos de *Thielavia* sp. Para determinar la relación genética entre los 19 aislamientos de *Thielavia* sp. se realizó el análisis de los marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), un tipo de marcador genético que permite obtener los niveles de variación en las regiones microsatélite que se encuentran dispersas en el genoma, particularmente el nuclear. Para ello, para cada aislamiento se evaluó la presencia o ausencia de fragmentos (gel agarosa 1,5 %) amplificados mediante PCR utilizando 5 cebadores ISSR (IA5, KA5, H, D, GA5) y ADN genómico. Se asignó 1 y 0 a la presencia o ausencia de fragmentos respectivamente y los datos fueron analizados con el programa NTSYS-pc Software 2.1. Se construyó una matriz de similitud utilizando el coeficiente de Dice y se realizó un análisis de clusters y construcción de un dendrograma basado en el método de medias no ponderadas UPGMA (Unweighted Pair Group Method of Averages). Se seleccionaron aquellos cebadores que mostraron patrones de bandas consistentes, polimórficos y reproducibles. Para los cebadores KA5, GA5 y H se amplificaron en promedio 8 bandas por cebador, con un tamaño de entre 400 y 2200 pb, siendo el 95 % de ellas polimórficas. El análisis de los datos obtenidos permitió definir 15 haplotipos entre los 19 aislamientos, evidenciando la alta variabilidad genética de la población analizada teniendo en cuenta que provienen de un solo ejemplar vegetal. Los aislamientos se agruparon en 6 clusters, con un promedio de similitud del 60 % como línea de corte. Mientras que 5 de los 6 clusters incluyeron a los 18 aislamientos que mostraron actividad frente a *S. aureus*, el cluster conformado por el aislamiento P16, el único inactivo, fue el que presentó menor grado de similitud (25 %) con respecto al resto. El análisis de los marcadores ISSR resulta útil como metodología para seleccionar cepas de interés para futuros screenings de bioactividad y la detección de metabolitos activos novedosos.