



SECUENCIACIÓN GENÓMICA DE UNA BACTERIA DEL GÉNERO *Bacillus* CON POTENCIAL ANTAGONISTA AL HONGO FITOPATÓGENO *Fusarium verticillioides*.

Nadia Rubí Douriet-Gómez¹, Enrique Ibarra-Laclette², Carlos Ligne Calderón-Vázquez^{1*}, Ignacio Eduardo Maldonado-Mendoza¹. ¹Instituto Politécnico Nacional CIIDIR-Unidad Sinaloa, Departamento de Biotecnología Agrícola, Guasave, Sinaloa 81000., ²Instituto de Ecología A. C. Red de Estudios Moleculares Avanzados, Xalapa, Veracruz 91070, *ccalderon@ipn.mx

Palabras clave: *Bacillus*, biocontrol, secuenciación genómica.

Introducción. La bacteria *Bacillus sp.* cepa B25 muestra un alto potencial como agente de biocontrol del hongo fitopatógeno *Fusarium verticillioides* (Fv), agente causal de la fusariosis en maíz en Sinaloa. B25 controla eficazmente el crecimiento de Fv en confrontaciones *in vitro* (1) y durante su interacción con plantas de maíz en campos de cultivo (2). El análisis genómico de agentes de biocontrol tiene una gran importancia en la agricultura, ya que permite conocer los mecanismos empleados por estos organismos para lograr dicho control sobre los fitopatógenos de cultivos de interés. Esto nos permite conocer y analizar los genes involucrados con mecanismos de antagonismo en el genoma de *Bacillus sp.* cepa B25.

El objetivo de este trabajo es obtener el primer borrador de la secuencia genómica del agente de biocontrol *Bacillus sp.* cepa B25.

Metodología. Se extrajo el ADN total de la cepa B25 utilizando el kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen), del cual se generaron dos bibliotecas genómicas de 575 y 793 pb. La secuenciación se realizó en la plataforma MiSeq de Illumina en formato *pair-end* 2x300 bases. Las secuencias obtenidas fueron procesadas con el programa SeqPrep, para eliminación de adaptadores y filtrado de bases por calidad (Q_≥25 y longitud _≥30 pb) para realizar un ensamblado *de novo* con los programas Newbler (Roche) y SSPACE. Posteriormente, los *scaffolds* obtenidos se alinearon y orientaron mediante MUMmer3 utilizando el genoma de *Bacillus thuringiensis* BMB171 como referencia. La predicción y anotación funcional de modelos genéticos se llevó a cabo utilizando el servidor RAST (3).

Resultados. Se generaron 23 M de lecturas entre las dos bibliotecas genómicas secuenciadas (575 y 793 pb) para un total de 12 Gb de información. Se obtuvieron 39 *scaffolds* con un tamaño promedio de 111 Kb. El borrador del genoma de *Bacillus sp.* B25 obtenido se compone de 5,848,690 pb con un contenido de GC del 35%. Se identificaron 6,144 genes de los cuales 6,032 fueron asignados como genes codificantes para proteínas y 112 como genes de RNA. Del total de secuencias codificantes al 41% (2,472) se les asignó funcionalidad al ser clasificadas en 27 categorías dentro de 480 subsistemas del servidor RAST, mientras que la funcionalidad del 59% (3560) de las secuencias

codificantes no se encuentra en los subsistemas de dicho servidor (Figura 1). Se identificaron además 8 *scaffolds* extracromosómicos en el material genético de B25, los cuales podrían ser plásmidos, cuyas secuencias varían entre 2.7 Kb y 92.8 Kb con porcentajes de GC entre 30 y 40%. Además, se identificó la secuencia de un bacteriófago con longitud de 5.5 Kb y un porcentaje de GC del 45%.

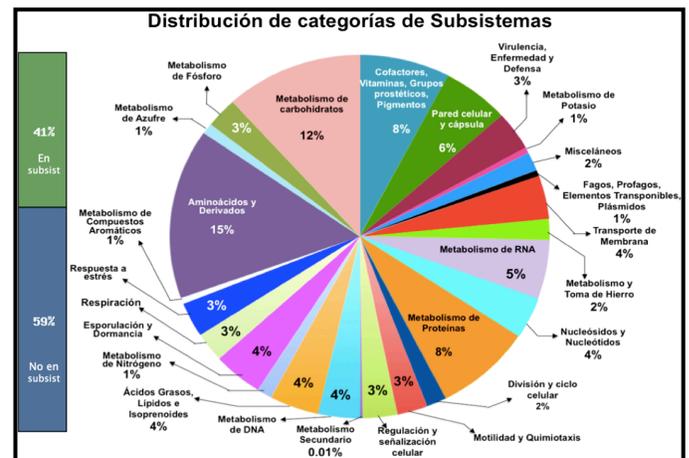


Fig. 1. Distribución de categorías de subsistemas para asignar funcionalidad a las secuencias codificantes en el genoma de *Bacillus sp.* cepa B25.

Conclusiones. Los resultados obtenidos brindan la posibilidad de explorar la información del genoma bacteriano secuenciado para la identificación de genes involucrados con los mecanismos que *Bacillus sp.* B25 emplea para antagonizar a *Fusarium verticillioides*.

Agradecimientos. Se agradece a Fundación Produce Sinaloa y a la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP 20144103 y SIP 20144021) por el financiamiento otorgado para la realización de este trabajo.

Bibliografía.

- Figuerola-López A. M., Cordero-Ramírez J. D., Quiroz-Figueroa F. R. y Maldonado-Mendoza I. E. (2013). *J. Basic Microbiol.* 53:1-9.
- Lizárraga-Sánchez G. J., Leyva-Madriral K. Y., Sánchez-Peña P., Quiroz-Figueroa F. R. y Maldonado-Mendoza I.E. (2015). *Field Crops Res.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2015.02.015>
- Aziz R. K., Bartels D., Best A. A., DeJongh M., Disz T., Edwards R. A., Formsa K., Gerdes S., Glass E. M., Kubal M., Meyer F., Olsen G. J., Olson R., Osterman A. L., Overbeek R. A., McNeil L. K., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G. D., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A. y Zagnitko O. (2008). *BMC Genomics.* 9:75.