

**ECOTIPO de *Rahnella contaminans*: SIMBIONTE DEL BACTERIOMA NÚCLEO DEL INTESTINO DE *Dendroctonus* spp., CON CAPACIDAD PARA DEGRADAR XILANO**

Flor N. Rivera-Orduña<sup>1</sup>, Rosa María Pineda-Mendoza<sup>2</sup>, Claudia Cano-Ramírez<sup>2</sup>, Ma. Fernanda López<sup>2</sup> y Gerardo Zúñiga<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Depto de Microbiología y <sup>2</sup>Zoología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, CDMX, C.P 11340. flor\_1413@hotmail.com

*Palabras clave:* Análisis polifásico, expresión heteróloga, xilanasa

**Introducción.** El género *Rahnella* (*Yersiniaceae*) comprende 14 especies nominales, las cuales han sido aisladas de diversos hábitats y ambientes. *Rahnella* sp. ha sido aislado de diferentes regiones anatómicas y galerías de insectos descortezadores del género *Dendroctonus* (*Curculionidae*), cuya alimentación es floéfaga. En el intestino de estos escarabajos es dominante y persistente en los diferentes estadios de su ciclo de vida. Se ha documentado que *Rahnella* sp. juega un papel fundamental en procesos de nutrición<sup>(1)</sup> y desintoxicación en beneficio de estos coleópteros.

A partir de 10 aislados representativos del intestino de especies del género *Dendroctonus*, los objetivos del trabajo fueron: 1) determinar la especie(s) de estos aislados por medio de un enfoque polifásico; 2) a partir del análisis de los genomas de dos aislados de *Rahnella* sp., conocer las glicosil hidrolasas (GHs) implicadas en la degradación del xilano; 3) caracterizar bioquímicamente la funcionalidad de una endo-1,4-β-D-xilanasa (R13Fae) bifuncional.

**Metodología.** Los aislados se caracterizaron fenotípica, genética y quimiotaquímicamente de acuerdo a lo recomendado por el ICNP. A partir de los genomas de las cepas ChDrAdgB13 y JaDmexAd06, se identificaron genes de las GHs asociados con la hidrólisis del xilano en la base de datos KEGG y CAZyme. De éstas se seleccionó la principal de la hidrólisis del xilano, la cual se caracterizó fisicoquímicamente *in silico*. Se realizó un análisis de modelaje molecular de esta enzima para inferir su funcionalidad y se probó su actividad funcional en un sistema de expresión heteróloga. Se realizó la caracterización bioquímica de la enzima recombinante para evaluar el efecto del pH, temperatura, iones, EDTA y β-mercaptoetanol sobre su actividad, estabilidad, especificidad al sustrato y parámetros cinéticos.

**Resultados.** Las filogenias del 16S rRNA, de los genes constitutivos de los 10 aislados, y genomas de ChDrAdgB13 y JaDmexAd06 con las cepas tipo de las 14 *Rahnella* spp., indicaron la formación de un grupo integrado por los aislados de este estudio y *R. contaminans*, independiente de otras *Rahnella* spp. Los valores de ANI y dDDH versus *Rahnella* spp.

confirmaron su asignación a *R. contaminans*. La caracterización fenotípica y los ácidos grasos fueron similares a las *Rahnella* spp. Los flagelos de ChdrAdgB13 y JaDmexAd06 fueron peritricos y presentaron fimbrias, contrario a *R. contaminans* cuyos flagelos se reportaron como polares<sup>(2)</sup>. El análisis genómico mostró la presencia de 25 GHs, cuatro de ellas [endo-1,4-β-xilanasa (R13Fae), α-xilosidasas, α-L-arabinofuranosidasa y β-xilosidasa] implicadas en la hidrólisis del xilano. R13Fae mostró una identidad con esterases putativas y GHs de *Rahnella* spp. El gen *r13fae* codificó para 393 aa (43.5 kDa), con péptido señal, dominio catalítico de esterasa y CBM48. R13Fae mostró mayor afinidad de unión en el modelaje con el ácido ferúlico, seguido del α-naftil acetato, arabinoxilano y almidón. La actividad de la recombinante R13Fae confirmó la predicción teórica. R13Fae mostró características mesófilas, con una actividad óptima a pH 6.0 y 25°C, estable a pHs de 4.5-9.0 donde conservó cerca del 70% de su actividad, así como en presencia de iones metálicos, excepto Hg<sup>2+</sup>. Su vida media fue de 23 días a 25°C con exo-actividad<sup>(3)</sup>.

**Conclusiones.** *R. contaminans* fue descrita como un contaminante creciendo junto a otras cepas aisladas de una bebida de arroz, la cual no se volvió a aislar. Las cepas de este estudio son un ecotipo de *R. contaminans*, cuyo hábitat es conocido y su aislamiento del intestino de las *Dendroctonus* spp recurrente. Este ecotipo hidroliza xilano por medio de la enzima bifuncional xilanasa-ácido ferúlico esterasa. Los productos resultantes de la hidrólisis del xilano, pueden ser parte del aporte nutricional de esta bacteria para estos insectos y microbios intestinales que no poseen esta capacidad.

**Agradecimiento.** Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-Ciencia de la Frontera proyecto 1311330).

**Bibliografía.** 1) Briones-Roblero et al., (2017). *Folia Microbiol.* 62, 1–9. 2) Rivera-Orduña et al., 2023. *Front. Microbiol.* 14:1171164. 3) Pineda-Mendoza et al., 2022. *Front. Microbiol.* 13:911269