



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**AISLAMIENTO DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS CONTRA
BACTERIAS ESENCIALES DE LA BIOTA INTESTINAL DE
Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)**

Por:

Eduardo Heriberto López Guerrero

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTOS AGRICOLAS DE
ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

APROBACIÓN

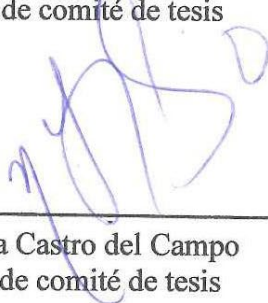
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Eduardo Heriberto López Guerrero, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dr. Cristóbal Chaidez Quiroz
Director de Tesis

LOPEZ CUEVAS OSVALDO

Dr. Osvaldo López Cuevas
Integrante de comité de tesis



Dra. Nohelia Castro del Campo
Integrante de comité de tesis

JOSE A. MEDRANO

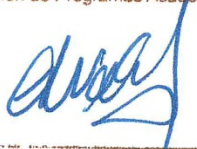
Dr. José Andrés Medrano Félix
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Aislamiento de Bacteriófagos Líticos contra Bacterias Esenciales de la Biota Intestinal de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Eduardo Heriberto López Guerrero, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Gracias a CONACYT por el apoyo otorgado durante el posgrado.

Gracias al CIAD por abrirme sus puertas.

DEDICATORIA

A mis padres, por todo su apoyo incondicional.

A mis abuelos, por estar siempre presentes.

A mis hermanos y cuñadas, por los sobrinos que me regalaron.

A mis dos mejores amigas casi hermanas, Rosa y Alondra.

A mis amigos de generación, por su amistad incondicional y todo el apoyo brindado; especialmente a mi amiga María José y a Mónica, la amiga adoptada de la generación.

Finalmente, este trabajo está dedicado a la memoria de mi abuelo “Don Polo”, que en paz descanse.

CONTENIDO

APROBACIÓN.....	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
DEDICATORIA.....	5
CONTENIDO.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE CUADROS.....	10
RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. ANTECEDENTES	17
2.1. Generalidades de <i>Aedes aegypti</i>	17
2.1.1. Taxonomía	17
2.1.2. Ciclo de Vida	18
2.1.2.1. Huevo	18
2.1.2.2. Larva	18
2.1.2.3. Pupa.....	19
2.1.2.4. Adulto.....	19
2.1.3. Ciclo de Transmisión de Arbovirus	20
2.2. Estrategias para el Control de <i>Aedes aegypti</i>	21
2.2.1. Nuevas Estrategias para el Control de Vectores	21
2.2.2. Localización de Bacterias en el Mosquito	22
2.2.3. Adquisición de la Biota Bacteriana	23
2.2.4. Función de los Simbiontes Bacterianos	25
2.3.3.1. Nutrición	25
2.3.3.2. Reproducción	25
2.3.3.3. Desarrollo	26
2.3.3.4. Inmunidad.	27
2.3. Bacteriófagos: Una Alternativa para el Control Biológico de Mosquitos.....	28
2.3.1. Morfología y Clasificación de los Bacteriófagos	29
2.3.2. Ciclos de Replicación	31
2.4.2.1. Ciclo lítico.....	31
2.4.2.2. Ciclo Lisogénico	32
2.3.3. Características del Genoma de los Bacteriófagos.....	33
2.3.4. Utilización de Bacteriófagos como Control Biológico.....	34
3. HIPÓTESIS	36
4. OBJETIVOS	37

CONTENIDO (continuación)

4.1	Objetivo General.....	37
4.2	Objetivos Específicos	37
5.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
5.1.	Recolección de Mosquitos.....	38
5.2.	Identificación Morfológica de <i>Aedes aegypti</i>	39
5.3.	Disección del Intestino Medio de <i>Aedes aegypti</i>	40
5.4.	Aislamiento e Identificación de la Biota Bacteriana Intestinal de <i>Aedes aegypti</i>	42
5.4.1.	Aislamiento de la Biota Bacteriana Cultivable.....	42
5.4.2.	Extracción de ADN Bacteriano	42
5.4.3.	Amplificación del rRNA 16S	43
5.5.	Aislamiento de Bacteriófagos Líticos Contra Bacterias de la Biota Intestinal de <i>Aedes aegypti</i>	45
5.5.1.	Toma de Muestras.....	45
5.5.2.	Enriquecimiento.....	47
5.5.3.	Identificación de Bacteriófagos por la Prueba de “Spot”	47
5.5.4.	Purificación de Bacteriófagos	48
5.5.5.	Propagación de Bacteriófagos	49
5.5.6.	Concentración y Titulación de Bacteriófagos.....	49
5.6.	Caracterización Molecular de bacteriófagos líticos contra bacterias del intestino medio de <i>Aedes aegypti</i>	50
5.6.1.	Extracción del ADN Viral	50
5.6.2.	Secuenciación del Genoma y Anotación de los Bacteriófagos.....	51
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
6.1.	Aislamiento e Identificación de la Biota Bacteriana Intestinal de <i>Aedes aegypti</i>	53
6.2.	Aislamiento de Bacteriófagos Líticos contra Bacterias de la Biota Intestinal de <i>Aedes aegypti</i>	55
6.3.	Análisis Bioinformático del genoma de los Bacteriófagos	57
6.3.1.	Características Genómicas del Bacteriófago F1M1C.....	61
6.3.2.	Características Genómicas del Bacteriófago F2M1C.....	65
6.3.3.	Características Genómicas del Bacteriófago F5M1C.....	69
6.3.4.	Características Genómicas del Bacteriófago F1M1D.....	74
6.3.5.	Características Genómicas del Bacteriófago F2M1D.....	81
6.3.6.	Características Genómicas del Bacteriófago F4M1D.....	88
6.3.7.	Características Genómicas del Bacteriófago F5M1D.....	94
6.3.8.	Características Genómicas del Bacteriófago F1M1E	101
6.3.9.	Características Genómicas del Bacteriófago F2M1E	112
6.3.10.	Características Genómicas del Bacteriófago F4M1E	123
6.3.11.	Características Genómicas del Bacteriófago F5M1E	134
6.3.12.	Características Genómicas del Bacteriófago F5M2A.....	145
6.3.13.	Anotaciones de los Genomas de los Bacteriófagos Aislados	156
6.3.13.1.	Genes ligados a morfología.....	156

CONTENIDO (continuación)

6.3.13.2. Genes ligados al metabolismo del ADN	156
6.3.13.3. Genes ligados al empaquetamiento del ADN.	157
6.3.13.4. Genes ligados a la lisis bacteriana.....	158
7. CONCLUSIONES	160
8. RECOMENDACIONES Y PROSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN	161
9. REFERENCIAS	162

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1	Ciclo biológico de <i>Aedes aegypti</i>20
2	Esquema general del canal alimentario del mosquito23
3	Ilustración de la adquisición y transmisión de la microbiota intestinal de mosquitos.....24
4	Representación esquemática de un bacteriófago.....29
5	Clasificación de los bacteriófagos.....30
6	Esquema general del ciclo lítico.....32
7	Esquema del ciclo lisogénico.33
8	Herramientas para la toma de muestra.38
9	Morfología característica de mosquitos adultos de la especie <i>Aedes aegypti</i>39
10	Diferencias morfológicas entre mosquitos hembra y macho40
11	Mosquito hembra de la especie <i>Aedes aegypti</i> bajo estereoscopio.40
12	Disección intestinal de <i>Aedes aegypti</i> bajo estereoscopio.41
13	Desarrollo de placa de lisis o “calva”..... 48
14	Diagrama del genoma del bacteriófago F1M1C.64
15	Diagrama del genoma del bacteriófago F2M1C68
16	Diagrama del genoma del bacteriófago F5M1C73
17	Diagrama del genoma del bacteriófago F1M1D.81
18	Diagrama del genoma del bacteriófago F2M1D87
19	Diagrama del genoma del bacteriófago F4M1D94
20	Diagrama del genoma del bacteriófago F5M1D101
21	Diagrama del genoma del bacteriófago F1M1E111
22	Diagrama del genoma del bacteriófago F2M1E.122
23	Diagrama del genoma del bacteriófago F4M1E133
24	Diagrama del genoma del bacteriófago F5M1E.144
25	Diagrama del genoma del bacteriófago F5M2A155

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Verificación de la calidad del ADN bacteriano	44
2 Muestras utilizadas para el aislamiento de bacteriófagos	46
3 Morfología e identificación de bacterias del intestino medio de <i>Aedes aegypti</i> ...	43
4 Actividad lítica de bacteriófagos.....	56
5 Características generales del genoma de los bacteriófagos.....	57
6 Ciclo de replicación y tipo de hospedero predichos mediante el programa PHACTS.....	58
7 Genes de alergenicidad y homología con proteínas alergénicas putativas.....	59
8 Características de los genes del bacteriófago F1M1C	62
9 Características de los genes del bacteriófago F2M1C	66
10 Características de los genes del bacteriófago F5M1C	70
11 Características de los genes del bacteriófago F1M1D	75
12 Características de los genes del bacteriófago F2M1D	82
13 Características de los genes del bacteriófago F4M1D	89
14 Características de los genes del bacteriófago F5M1D	95
15 Características de los genes del bacteriófago F1M1E.....	102
16 Características de los genes del bacteriófago F2M1E.....	113
17 Características de los genes del bacteriófago F4M1E.....	124
18 Características de los genes del bacteriófago F5M1E.....	135
19 Características de los genes del bacteriófago F5M2A	146

RESUMEN

Aedes aegypti es el vector principal del Dengue, Zika y Chikungunya. Debido a la falta de tratamientos específicos contra los virus, se ha optado por el control del vector. Para esto, la única estrategia disponible es el uso de insecticidas, sin embargo, es ineficiente, ya que los mosquitos están generando resistencia contra ellos y el impacto en especies benéficas es alarmante. En los últimos años, se ha implementado la búsqueda de nuevas estrategias para detener el avance de estas enfermedades. La paratransgénesis, la utilización de microorganismos simbiotes y el control biológico, a través de la modulación de la función de la biota bacteriana intestinal, son algunas de las formas que actualmente se investigan con el fin de controlar al vector. Esta última, por su naturaleza amigable con el medio ambiente y por no generar resistencia en los mosquitos, ha sido objeto de profundo análisis. En este sentido, se propone que al eliminar la biota bacteriana intestinal de los mosquitos se afectarán significativamente algunos procesos fisiológicos vitales del vector, tales como la digestión, nutrición y reproducción; lo cual podría abrir una ventana a una nueva estrategia para reducir la población de mosquitos. Una alternativa para la eliminación específica de estas bacterias del intestino del mosquito son los bacteriófagos, ya que tienen alta especificidad por género, especie y subespecies bacterianas. Sin embargo, para ser utilizados como control biológico, los bacteriófagos tienen que ser líticos y carecer de genes de virulencia y resistencia antibióticos. En esta investigación, se identificó la biota bacteriana cultivable de mosquitos *Aedes aegypti* presentes en la ciudad de Culiacán, Sinaloa mediante el análisis de las secuencias del rRNA 16S; se identificaron 17 especies bacterianas pertenecientes a 8 géneros, de los cuales, los predominantes fueron: *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Pantoea*. Por otra parte, se aislaron 12 bacteriófagos líticos contra bacterias de los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pantoea*. El ADN de los bacteriófagos fue secuenciado y el análisis bioinformático reveló que el tamaño de los genomas varía entre 38 kb y 150 kb; además, con base en las proteínas predichas se puede inferir que los 12 fagos pertenecen al orden *Caudovirales*. Por otro lado, la anotación de los genomas permitió determinar que los bacteriófagos (excepto F5M1C y F1M1E) son líticos y no poseen genes de virulencia y de resistencia a antibióticos; lo que los convierte en candidatos para su utilización en la eliminación de la biota bacteriana intestinal, esencial para el vector.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, bacteriófagos, biota bacteriana.

ABSTRACT

Aedes aegypti is considered the main vector of Dengue, Zika and Chikungunya viruses. Due to the lack of specific treatments against viruses, vector control has been chosen. For this, the only strategy available is the use of insecticides, however, it is inefficient, since mosquitoes are generating resistance against them. In recent years, the search for new strategies to stop the progression of these diseases has been implemented. Paratransgenesis, the use of symbiont microorganisms and biological control, through the modulation of the function of the intestinal bacterial biota, are some of the alternatives that are currently being investigated in order to control the vector. This last, due to its environmentally friendly nature and not generating resistance in mosquitoes, has been the subject of deep analysis. In this sense, it is proposed that eliminating the intestinal bacterial biota of mosquitoes will significantly affect some vital physiological processes of the vector, such as digestion, nutrition and reproduction; which could open a window to a new strategy to reduce the vast population of mosquitoes. A biological alternative for the specific elimination of these essential bacteria from the mosquito intestine is the use of bacteriophages, since they have a high specificity for gender, species and bacterial subspecies. However, to be used as a biological control, bacteriophages must be lithic and lack antibiotic resistance and virulence genes in their genome, etc. In this investigation, the cultivable bacterial biota of *Aedes aegypti* mosquitoes present in the city of Culiacán, Sinaloa was identified by analyzing the sequences of the 16S rRNA; 17 bacterial species belonging to 8 genres were identified, of which the predominant were: *Staphylococcus*, *Bacillus* and *Pantoea*. On the other hand, 12 bacteriophages with lytic activity against bacteria of the *Enterobacter*, *Klebsiella* and *Pantoea* genres were isolated. Bacteriophage DNA was sequenced on the MiniSeq platform (Illumina, Inc.) and the bioinformatic analysis revealed that genome sizes vary between 38 kb and 150 kb; in addition, based on the predicted proteins, it can be inferred that the 12 phages belong to the order of the *Caudovirals* (they have an icosahedral head and tail). On the other hand, the genome annotation allowed to determine that bacteriophages (except F5M1C and F1M1E) are lithic and do not have virulence or resistance genes; which makes them candidates for possible use in the elimination of intestinal bacterial biota, essential for the vector.

Key words: *Aedes aegypti*, bacteriophages, bacterial biota.

1 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores (ETV) representan el 17% de las enfermedades transmisibles en el mundo y llegan a provocar más de 700,000 muertes al año. Dentro de las ETV de mayor importancia mundial se encuentran el paludismo, el dengue, oncocercosis, enfermedad de Chagas, la leishmaniasis, la fiebre chikungunya y la fiebre del zika. Las ETV son causadas por virus, bacterias y parásitos que cumplen parte de su ciclo biológico en los vectores. Particularmente en el caso del virus Dengue, se estima que más de 3,900 millones de personas, en más de 128 países, corren el riesgo de contraer la enfermedad (ya que viven en zonas donde se favorece la transmisión de ETV), con un promedio de 96 millones de casos confirmados al año. Por otra parte, el paludismo (ETV de origen parasitaria causada por *Plasmodium*) provoca más de 400,000 defunciones en todo el mundo, la mayor parte de ellas ocurre entre niños menores de cinco años (OMS, 2017).

En su gran mayoría, los vectores son insectos hematófagos (se alimentan de sangre), los cuales dispersan los patógenos entre personas al ingerir el vital líquido. Entre éstos se encuentran los mosquitos, flebótomos, chinches triatomíneas, simúlidos, garrapatas, moscas tsetsé, ácaros, caracoles y piojos (OMS, 2019). Los mosquitos, son los vectores mayormente estudiados, de los cuales, hasta el momento se reportan aproximadamente 3,500 especies, sin embargo solo unas pocas están relacionadas a la transmisión de enfermedades (Strand, 2018). *Culex pipiens*, el mosquito trompetero es el responsable de transmitir el virus del Nilo Occidental causante de la fiebre del Nilo Occidental; *Anopheles gambiae* es responsable de transmitir parásitos del género *Plasmodium* (agente causal de la malaria o paludismo); *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (mosquito tigre), los vectores primario y secundario, respectivamente, de los virus del Dengue, Zika y Chikungunya (Weaver y Reisen, 2009; OMS, 2017).

Aedes aegypti es una especie de mosquitos que se distribuye en áreas urbanas y suburbanas a lo largo de las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Éstos se encuentran estrechamente asociados con ambientes domésticos, por lo tanto, su abundancia está relacionada al aumento en la urbanización (Higa, 2011). Este artrópodo es capaz de transmitir algunos arbovirus (virus

transmitidos por artrópodos) de importancia médica y es considerado el principal vector de los virus del Dengue, Zika, Chikungunya, así como el virus de la fiebre amarilla (Cheng et al., 2016; OMS, 2017).

La falta de vacunas y programas efectivos de vacunación (para el caso que existan) contra los virus, ha generado que los vectores sean objeto de estudio con miras de controlar la dispersión de las enfermedades arbovirales (Weaver y Reisen, 2009). La eliminación de criaderos y la aplicación de insecticidas (como los temefos, novaluron y malatión) en las diferentes etapas del ciclo de vida del mosquito, son las estrategias más asistidas a nivel mundial (Saldaña et al., 2017). Sin embargo, la aplicación intensiva y repetida de estos insecticidas ha culminado en el desarrollo de resistencia por parte de los mosquitos y debido a que estos productos no son específicos para los mosquitos, también se ha afectado a otras especies de insectos polinizadores como abejas y mariposas (Vontas et al., 2012; OMS, 2017; Guégan et al., 2018). Además, el costo económico causado por el tratamiento y control de estas enfermedades es elevado. Sólo para el dengue, el costo mundial total se estimó en unos \$8,900 millones de dólares en 2013; En Sinaloa se destinan más de 64 millones de pesos al año para combatir al vector.

Los efectos negativos de los métodos de control que actualmente se emplean, han conducido a la búsqueda de alternativas que permitan disminuir las poblaciones de mosquitos y la transmisión de enfermedades sin los efectos causados por los insecticidas. Así, en la última década, se han desarrollado extensivos programas de investigación para controlar biológicamente a las poblaciones de mosquitos (Saldaña et al., 2017).

Como resultado de los programas de investigación antes mencionados, se ha concluido que en el intestino medio de los mosquitos residen grupos bacterianos que viven en estrecha simbiosis con el vector, en donde desempeñan funciones vitales para el mosquito. En este sentido, Ramírez et al. (2012) demostraron el rol de las bacterias intestinales en la inmunidad innata de los mosquitos; para esto, eliminaron la biota intestinal de mosquitos *Aedes aegypti* y los colonizaron individualmente con bacterias como *Pantoea* sp., *Proteus* sp. y *Paenibacillus* sp., las cuales producen péptidos antimicrobianos (cecropinas, lisozimas, atacinas y gambicinas); concluyeron que al inocular a los mosquitos con el virus del Dengue, los simbiosientes bacterianos impidieron el

aumento de la carga viral en el mosquito. Además, contrario a lo anterior, se ha descrito la participación de bacterias esenciales en los procesos de digestión, nutrición y la reproducción de los mosquitos (Hill et al., 2014). Apte-Deshpande et al. (2012) aplicaron un antibiótico vía oral en una población experimental de mosquitos, eliminando gran parte de ella, y concluyeron que la presencia de bacterias como *Serratia odorifera* aumentan la susceptibilidad de los mosquitos a la adquisición del virus del Dengue. En este sentido, la eliminación diferencial de *Serratia* podría representar un avance significativo para la disminución de las enfermedades transmitidas por vectores.

Por otro lado, con base en el hecho de que existen bacterias esenciales para algunos procesos fisiológicos como la reproducción y el desarrollo del mosquito, en este estudio se propone que al identificar y eliminar de manera selectiva aquellas bacterias esenciales, podrían afectar alguno de los procesos vitales del insecto y de esta manera estaríamos ante una nueva estrategia de control del vector.

La metodología utilizada para la eliminación de la microbiota bacteriana de los mosquitos en laboratorio involucra el uso de antibióticos (De Gaio et al., 2011; Charan et al., 2013). A pesar de ser muy efectiva, esta técnica no es selectiva contra una sola especie bacteriana y podría generar cepas bacterianas resistentes a los antibióticos, además no es posible identificar a aquellos géneros que están desencadenando la respuesta de susceptibilidad. Por lo tanto, es necesario buscar opciones que nos permitan, en primera instancia, identificar a los géneros bacterianos involucrados en estos procesos, y después eliminar específicamente las bacterias que promueven la reproducción y el desarrollo del mosquito. Una alternativa natural, propuesta por el grupo de microbiología del LANIIA, para eliminar de manera selectiva a estas especies bacterianas es el uso de bacteriófagos (fagos).

Los fagos son virus que infectan y lisan exclusivamente a bacterias y tienen un alto nivel de selectividad por género, especie, serotipo e incluso genotipo de bacterias (Ackermann y DuBow, 1987). Los fagos han sido ampliamente utilizados para reducir enfermedades bacterianas en animales y en humanos (Sklar y Joerger, 2001; Jun et al., 2018), en superficies e incluso en alimentos (Leverentz et al., 2003; López-Cuevas et al., 2012); por lo tanto, podrían representar una

alternativa para eliminar a aquellas bacterias presentes en el tracto intestinal de *Aedes aegypti*. La información derivada de esta investigación, en el mediano plazo, podría develar la participación específica de especies bacterianas en los procesos fisiológicos del mosquito, y a su vez, la posibilidad de aplicar bacteriófagos para el control selectivo de éstas, e incidir en el control de *Aedes aegypti* y otras especies de interés.

Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de encontrar bacteriófagos capaces de eliminar bacterias del tracto intestinal de *Aedes aegypti* que promueven su ciclo de vida o la transmisión de arbovirus.

2 ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de *Aedes aegypti*

Aedes aegypti es el principal vector transmisor de patógenos arbovirales que afectan a los humanos, como el virus del Dengue, el virus de Zika, el virus de la fiebre amarilla y el virus del Chikungunya (Vontas et al., 2012). Éste se distribuye en áreas urbanas y suburbanas a través de las regiones tropicales de África, Asia, Australia, el Pacífico Sur, las Américas y algunas partes del Medio Este (OMS, 2019). Esta especie está fuertemente asociada a los hábitats creados por humanos, ya que se dice que está domesticado. Generalmente no se aleja más de 50 m del lugar donde emergió. Los machos se alimentan del néctar de las plantas, mientras que las hembras son hematófagas (se alimentan de sangre para producir huevos). Sus hábitos de alimentación son diurnos, mostrando mayor actividad por la mañana y en la tarde al ponerse el sol. Después de la alimentación, buscan lugares oscuros y húmedos para reposar (Nelson, 1986).

2.1.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica de *Aedes aegypti* de acuerdo con Bates (1970) es la siguiente:

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Díptera

Familia: *Culicidae*

Subfamilia: *Culicinae*

Género: *Aedes*

Subgénero: *Stegomyia*

Especie: *aegypti*

2.1.2 Ciclo de Vida

Los mosquitos son organismos holometábolos que durante su ciclo de vida atraviesan por cuatro etapas graduales de metamorfosis: huevo, larva, pupa o ninfa y finalmente el adulto o imago (Figura 1) (Nelson, 1986; Minard et al., 2013).

2.1.2.1 Huevo. Después de alimentarse de sangre, *Aedes aegypti* (hembras) busca contenedores oscuros como macetas, llantas, y cualquier recipiente alrededor de las viviendas que contenga agua preferentemente limpia. Puede llegar a poner hasta cien huevos, colocándolos de manera individual por encima de la superficie del agua en las paredes del recipiente; son blancos al momento de la postura, pero inmediatamente se vuelven de color negro, miden aproximadamente 1 mm de longitud y en condiciones óptimas, el desarrollo embrionario se completa a las 48 horas después de la postura. Una vez que se desarrolla el embrión, los huevos son capaces de resistir largos periodos de desecación. Cuando los huevos son mojados, eclosionan y se libera la larva del primer estadio (Nelson, 1986; CENAPRECE, 2015).

2.1.2.2 Larva. Esta fase es estrictamente acuática y se enfoca principalmente en la alimentación y crecimiento de la especie. Como fuente de nutrientes utilizan plancton, material orgánico acumulado en las paredes del recipiente y microorganismos como las bacterias presentes en el agua. Es en esta fase ocurre la primera colonización microbiana del tracto digestivo de *Aedes aegypti* que se suma a la microbiota heredada por la madre. En condiciones óptimas, esta fase se desarrolla a los 5 días después de la eclosión y se compone de cuatro estadios distinguibles principalmente por el tamaño, cada uno de los cuales ocurre después de la muda. Los primeros estadios en general se desarrollan rápido, mientras que el cuarto demora más tiempo debido a que la larva aumenta de tamaño y peso en esta etapa (Ibañez-Bernal et al., 1994; CENAPRECE, 2015).

2.1.2.3 Pupa. En esta fase ya no se alimenta, su función es exclusivamente la metamorfosis de la larva a adulto. Tiene forma de coma y por su propiedad de flotabilidad, se mantiene en la superficie del agua. Se desplazan activamente en el medio acuático, principalmente como reacción inmediata a los estímulos externos tales como las vibraciones o cambios en intensidad lumínica. Durante la metamorfosis, la anatomía del mosquito es modificada radicalmente. En particular, en la etapa temprana de la pupa se genera una primera membrana (membrana peritrófica meconial) y una segunda membrana aparece antes de la emergencia del adulto. Estas membranas funcionan como una barrera que detiene la mayoría de los microorganismos adquiridos durante la alimentación en la fase larval. Esta fase tarda entre dos y tres días en completarse (Minard et al., 2013; CENAPRECE, 2015).

2.1.2.4 Adulto. Representa la parte final del ciclo de vida del mosquito. Esta es la fase reproductiva de la especie, está adaptada al vuelo y la dispersión de la especie y por lo tanto de las enfermedades arbovirales. En condiciones de laboratorio pueden vivir varios meses, pero en la naturaleza su tiempo promedio de vida es de dos a cuatro semanas. Esta etapa se distingue por sus marcas torácicas características, las cuales consisten en dos grupos de escamas plateadas en forma de media luna, una a cada lado de la mitad anterior del escudo, entre las cuales pasan dos líneas plateadas paralelas siguiendo la línea media del cuerpo casi hasta el escudete. Todo esto se conoce como diseño “en forma de lira”. Pueden observarse también bandas blancas en los segmentos tarsales y un patrón de escamas blancas a cada lado del clipeo de la hembra. Las hembras son altamente antropofílicas (se alimentan de sangre) con una marcada preferencia por los humanos y después de aparearse necesitan consumir sangre para completar su ciclo gonotrófico. En el momento que ocurre la primera alimentación sanguínea, se adquieren nuevas poblaciones microbianas que recolonizan su tracto intestinal (Rueda, 2004; CENAPRECE, 2015).

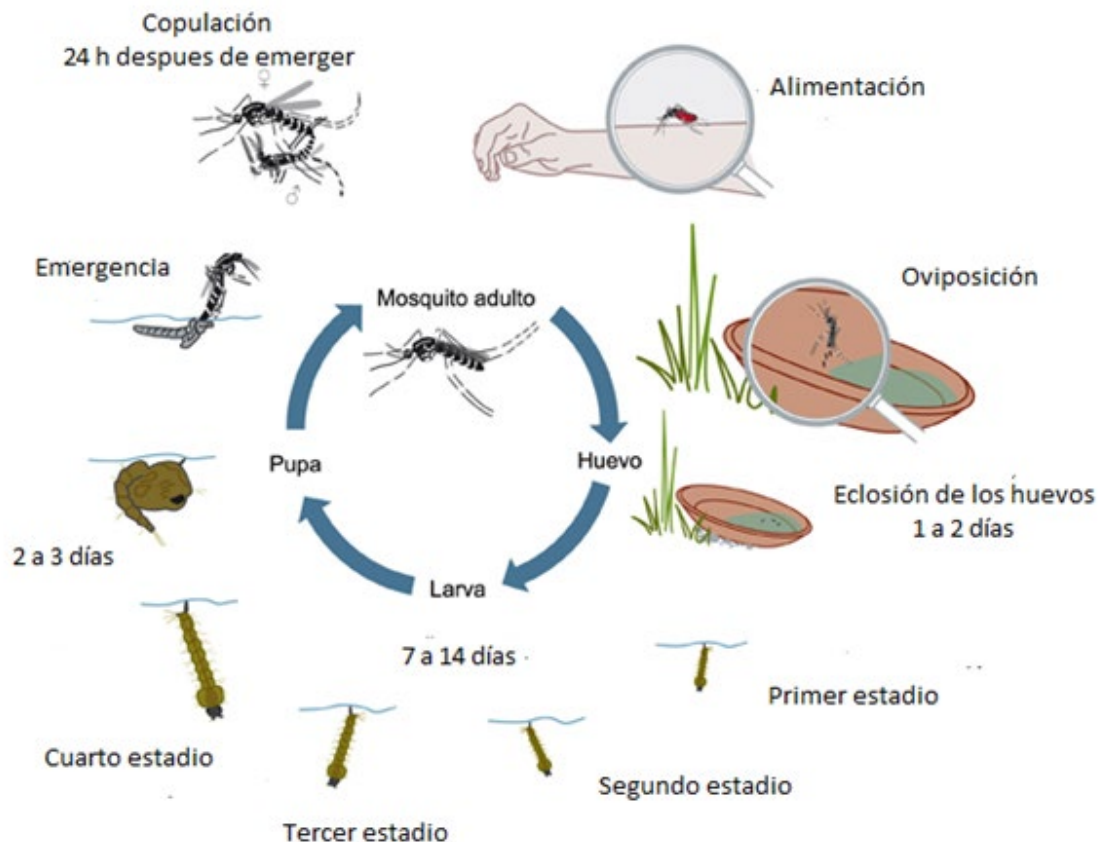


Figura 1. Ciclo biológico de *Aedes aegypti*. En condiciones óptimas, el tiempo que tarda en desarrollarse el mosquito desde el huevo hasta su etapa adulta es de 7 a 14 días (Biogents Mosquito Control, 2018).

2.1.3 Ciclo de Transmisión de Arbovirus

El ciclo de transmisión comienza cuando un mosquito hembra de *Aedes aegypti*, después de copular, se alimenta de la sangre de un humano infectado por algún arbovirus. Este mosquito adquirirá el virus y será capaz de transmitirlo a humanos sanos en picaduras posteriores (Cheng et al., 2016; Tol y Dimopoulos, 2016). El tiempo que el virus tarda en replicarse en el mosquito y hasta que es capaz de transmitirse a los humanos es conocido como periodo de incubación extrínseco. En el caso del virus del Dengue, este periodo generalmente oscila entre 7 y 14 días (Tjaden et al., 2013).

2.2 Estrategias para el Control de *Aedes aegypti*

La estrategia principal para prevenir las infecciones por arbovirus es controlar la población de los vectores, los principales son los mosquitos, lo cual se hace mediante acciones como la eliminación de criaderos, programas de descacharrización o la aplicación de insecticidas organofosforados dirigidos a los estadios larvales y al adulto, sin embargo, existe preocupación por el rápido desarrollo de resistencia que los mosquitos generan a los insecticidas (Vontas et al., 2012). En este sentido, la Asamblea Mundial de la Salud de la OMS, en el 2017 aprobó la “Respuesta mundial para el control de vectores 2017-2030”, que ofrece orientaciones estratégicas a los países para el desarrollo y fortalecimiento de medidas de control de los vectores con el fin de prevenir enfermedades y responder a los brotes (OMS, 2019).

2.2.1 Nuevas Estrategias para el Control de Vectores

Las estrategias actuales para el control de *Aedes aegypti* no han tenido éxito, esto se refleja en la dispersión de las diferentes especies de mosquitos que va en aumento y ahora podemos encontrarlas en lugares donde no habían sido registradas anteriormente. Además, estas estrategias han generado un impacto negativo en el ambiente, como por ejemplo: la afectación de otras especies de insectos polinizadores y la generación de resistencia a insecticidas por parte de los mosquitos (OMS, 2017).

Con base en esta problemática, se están desarrollando investigaciones en la búsqueda de alternativas que aporten avances en el control del vector, y por ende en estas enfermedades. En la última década ha habido un notable aumento en la investigación con el objetivo de la posible aplicación de microorganismos para controlar las enfermedades transmitidas por vectores. Miller (2010) ha propuesto la modificación genética de cepas de *Aedes aegypti* a través de la generación de machos estériles para reducir su propagación. Wilke y Marrelli (2015) proponen técnicas de paratransgénesis para combatir la diseminación del mosquito y así reducir la incidencia de dichas enfermedades. La paratransgénesis se basa en el uso de bacterias simbióticas genéticamente

modificadas que expresen moléculas efectoras dentro del vector; estas bacterias son reintroducidas en el tracto intestinal de los mosquitos, donde producen el efecto deseado ya sea interfiriendo en su reproducción y/u ovogénesis y embriogénesis.

Un ejemplo estudiado en la paratransgénesis es el caso de *Wolbachia*, una bacteria Gram negativa intracelular obligada que infecta de manera natural a muchas especies de mosquitos. Básicamente actúa produciendo moléculas efectoras que impiden el desarrollo de los huevos mediante mecanismos de incompatibilidad citoplasmática, inhibición de la replicación viral y acortan el tiempo de vida del mosquito (Wilke y Marrelli, 2015). En un estudio realizado por Walker et al. (2011), se demostró que los títulos del virus del Dengue (DENV-2) en *Aedes aegypti* modificados con *Wolbachia* disminuyeron hasta en tres logaritmos comparado con mosquitos no infectados con la bacteria.

Estas investigaciones parten del principio de que los mosquitos son organismos holobiontes que se encuentran en estrecha simbiosis con su microbiota bacteriana, es decir, dichas bacterias participan activamente en algunos procesos fisiológicos vitales para el mosquito, tales como la nutrición, metabolismo, reproducción, desarrollo y resistencia a la colonización por patógenos. En este sentido, diversos investigadores proponen que conocer el papel que juegan estas bacterias en la biología del mosquito, permitirá desarrollar nuevas estrategias para el control del vector (Gusmao et al., 2010; Coon et al., 2014; Jupatanakul et al., 2014; Saldaña et al., 2017; Guégan et al., 2018; Strand, 2018).

2.2.2 Localización de Bacterias en el Mosquito

Generalmente, las comunidades bacterianas asociadas a los insectos se clasifican en dos categorías: simbioses primarios (endosimbiontes obligados), los cuales han co-evolucionado con los insectos; y simbioses secundarios, los cuales se han asociado al insecto en alguna etapa de su desarrollo y no son obligados (Minard et al., 2013).

Los mosquitos albergan diversas comunidades de bacterias que colonizan y crecen dentro de sus tejidos, principalmente en el tracto gastrointestinal y en menor medida en las glándulas salivares, divertículo ventral y órganos sexuales (Gusmao et al., 2007; De Gaio et al., 2011; Minard et al., 2013). La estructura básica del tracto digestivo de los mosquitos consta de tres regiones: intestino anterior, intestino medio e intestino posterior (Figura 2). El intestino medio ha sido el órgano mayormente estudiado ya que es el sitio en donde se lleva a cabo la digestión de los alimentos y la absorción de nutrientes; además, aquí ocurren múltiples interacciones tripartitas recíprocas entre el mosquito, su biota bacteriana intestinal y los arbovirus ingeridos con la sangre (Ramírez et al., 2012; Blumberg et al., 2016; Tol y Dimopoulos, 2016; Lee et al., 2017).

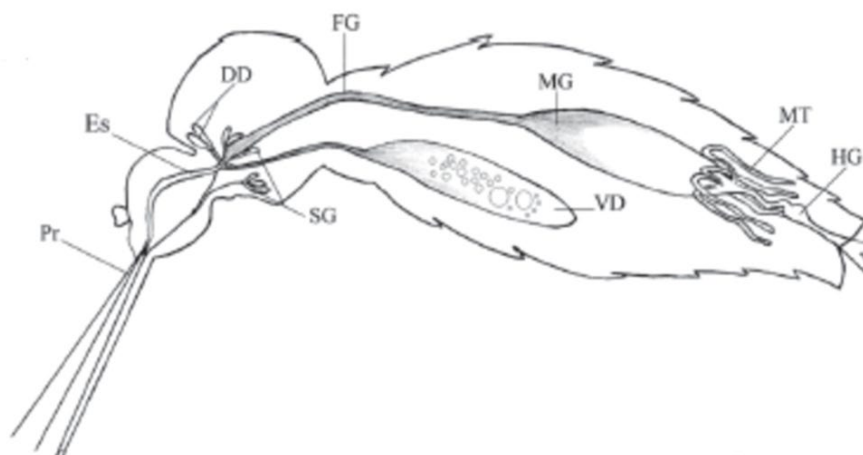


Figura 2. Esquema general del canal alimentario del mosquito: divertículo dorsal (DD), intestino anterior (FG), intestino posterior (HG), intestino medio (MD), túbulos del Malpighi (MT), esófago (ES), probóscide (Pr), glándulas salivares (SG), y divertículo ventral (VD) (Gusmão et al., 2007).

2.2.3 Adquisición de la Biota Bacteriana

Diversos estudios han demostrado que los mosquitos adquieren su biota bacteriana principalmente de dos formas: directamente del ambiente en el que se desarrollan o heredado por sus progenitores (adquisición vertical) (Figura 3) (Colman et al., 2012). Con base en la información disponible, Strand (2018) concluyó que existen tres líneas de evidencia que demuestran que los mosquitos de

cada generación adquieren su biota bacteriana intestinal predominantemente del ambiente en donde éstos se desarrollan. Primero, estudios experimentales demostraron que las larvas de mosquitos eclosionan sin microorganismos extracelulares en sus intestinos (Coon et al., 2016b). Segundo, se han realizado estudios de composición de la comunidad microbiana presente en el intestino de larvas, intestino de mosquitos y en el hábitat acuático donde se desarrollan; indicando que la mayoría de las bacterias identificadas en intestinos se superponen con la comunidad bacteriana identificada en los hábitats acuáticos (Coon et al., 2014; Tandina et al., 2016; Dickson et al., 2017). Tercero, los mosquitos albergan comunidades de bacterias intestinales altamente variables, lo cual no se esperaría si estas comunidades se adquirieran directamente de sus padres o congéneres (Coon et al., 2014; Yadav et al., 2016; Dickson et al., 2017).

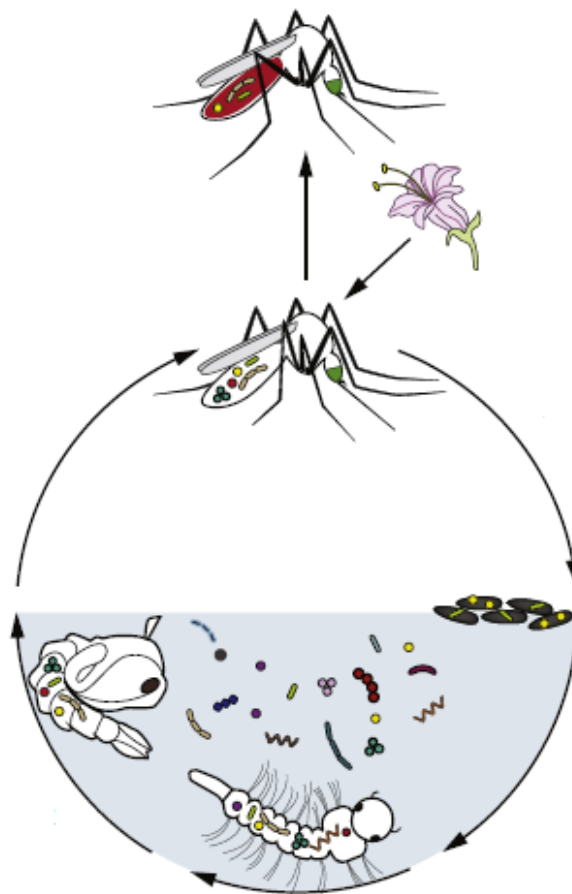


Figura 3. Ilustración de la adquisición y transmisión de la microbiota intestinal de mosquitos (Strand, 2017).

2.2.4 Función de los Simbiontes Bacterianos

Jupatanakul y Dimopoulos (2014) demostraron que la biota bacteriana intestinal del mosquito tiene gran influencia en procesos fisiológicos vitales para el vector, tales como su digestión, nutrición y metabolismo; lo cual impacta directamente en su reproducción. Además se ha observado que la ausencia o presencia de dichas bacterias afecta el desarrollo y la inmunidad del insecto, por lo que la alteración de la biota bacteriana intestinal de *Aedes aegypti* podría jugar un papel fundamental al reducir la dispersión de los arbovirus.

2.3.3.1 Nutrición. Las bacterias contribuyen a la nutrición de los insectos de diferentes maneras. Las bacterias del intestino medio pueden producir compuestos que son asimilados directamente por el huésped o pueden mejorar la digestión al producir enzimas que facilitan la degradación y asimilación de moléculas complejas (Minard et al., 2013). Coon et al. (2014; 2016; Dickson et al. (2017); Vogel et al. (2017) y Travanty et al. (2019) generaron larvas axénicas (libres de bacterias) al desinfectar la superficie de huevos con hipoclorito de sodio y colocándolos en agua estéril para su eclosión; para asegurarse de que no ingirieran microorganismos, mantuvieron las larvas a base de una dieta estéril. Concluyeron que la ausencia de bacterias intestinales detuvo el desarrollo de las larvas y aceleró su muerte. Estos resultados permiten inferir que al no existir bacterias que metabolicen el alimento de las larvas axénicas, éstas no asimilan los nutrientes y por consiguiente mueren de inanición. Por su parte, De Gaio et al. (2011) utilizaron antibióticos para eliminar la microbiota bacteriana de hembras de *Aedes aegypti*; encontraron que al reducir la biota bacteriana se afectó la lisis de los glóbulos rojos, lo cual retardó la digestión de las proteínas de la sangre. Las especies de *Enterobacter* y *Serratia* aisladas en este estudio exhibieron actividad hemolítica, lo cual sugiere que estas bacterias producen enzimas que juegan un rol importante en la digestión de la sangre.

2.3.3.2 Reproducción. Existen bacterias simbióticas intracelulares obligadas en el tracto intestinal de *Aedes aegypti* como *Wolbachia*, la cual es capaz de afectar la reproducción de los mosquitos al

producir moléculas efectoras que impiden el desarrollo de sus huevos mediante un mecanismo conocido como incompatibilidad citoplasmática (Wilke y Marrelli, 2015). Por otro lado, se ha demostrado que al eliminar la biota bacteriana intestinal de mosquitos *Aedes aegypti* se afectó significativamente la lisis de glóbulos rojos, se retardó la digestión de las proteínas de la sangre y finalmente se vió afectada la disponibilidad de nutrientes esenciales para la ovogénesis; lo cual se manifestó con una disminución en la producción de huevos por parte de los mosquitos (De Gaio et al., 2011). Coon et al. (2016b), demostraron la contribución de la biota bacteriana intestinal en la producción de huevos por *Aedes aegypti* y *Aedes atropalpus* al comparar larvas axénicas (libres de bacterias intestinales), larvas gnotobióticas (inoculadas con una cepa conocida) y larvas criadas de manera convencional; concluyeron que *Aedes atropalpus* puede producir su primer carga de huevos sin consumir sangre pero depende de bacterias específicas de su biota intestinal para producirlos, mientras *Aedes aegypti* necesita consumir sangre obligatoriamente para producir huevos. Los autores sugieren que probablemente la biota de *Aedes atropalpus* genera reservas de nutrientes durante el desarrollo larvario, que son necesarias para la primera oviposición sin necesidad de consumir sangre.

2.3.3.3 Desarrollo. En los últimos años ha habido un notable avance en la investigación del rol que juegan las bacterias en el desarrollo de los mosquitos. Coon et al. (2014; 2016 a,b); Dickson et al. (2017) y Travanty et al. (2018) partieron del principio de que la superficie de los huevos acarrean microorganismos al momento de la oviposición, y que las larvas se alimentan de la cascara del huevo cuando eclosionan, produjeron larvas axénicas (libres de microbiota intestinal) al esterilizar la superficie de huevos de diferentes especies de mosquitos; ellos demostraron que las larvas axénicas de cada especie, al mantenerlas bajo un régimen dietario nutricionalmente adecuada, pero libre de microorganismos, no se desarrollaban más allá de su primer estadio larval y morían al poco tiempo. En contraste, la inoculación de larvas axénicas con una mezcla de bacterias o con miembros individuales de la biota bacteriana intestinal (larvas gnotobióticas), rescató el desarrollo de los insectos hasta su etapa adulta. En conjunto, estos estudios sugieren que las larvas dependen de las bacterias presentes en su intestino para desarrollarse exitosamente hasta la etapa adulta. Para demostrar cuáles son los mecanismos mediante los cuales las bacterias promueven el desarrollo del insecto, Coon et al. (2017), mostraron que las larvas de *Aedes aegypti* inoculadas con *E. coli*

redujeron significativamente los niveles de oxígeno en el intestino medio (hipoxia) en comparación con larvas axénicas y larvas gnotobióticas. La reducción de oxígeno activa los factores de transcripción inducidos por hipoxia (HIFs) y a su vez, éstos desencadenan una cascada de señales que conducen a la activación de la vía del factor de crecimiento insulina/insulina, a la selección de quinasas activadas por mitógenos y otros procesos con funciones de crecimiento. Esto sugiere que la hipoxia producida por las bacterias intestinales podría funcionar como una señal para el crecimiento y desarrollo del insecto. Por su parte, Vogel et al. (2017) realizaron un análisis transcriptómico en larvas axénicas, larvas gnotobióticas y larvas convencionales para observar patrones de expresión de genes. Sus resultados mostraron que el 12% de los genes expresados en las larvas axénicas eran diferentes a los expresados por los otros grupos. En general, los resultados indican que las larvas axénicas presentaron alteraciones (defectos) en la expresión de genes relacionados la digestión y asimilación de los nutrientes necesarios para el crecimiento.

2.3.3.4 Inmunidad. La biota bacteriana asociada a los mosquitos puede influenciar la capacidad intrínseca del vector para infectarse con algún arbovirus, permitir su replicación y posteriormente su transmisión a algún hospedero susceptible; a todo esto se le conoce como “competencia vectorial”, la cual puede ser mejorada o suprimida por la acción de las bacterias intestinales (Hegde et al., 2015). Apte-Deshpande et al. (2012) eliminaron la biota bacteriana intestinal de *Aedes aegypti* usando antibióticos y recolonizaron el tracto intestinal con la bacteria *Serratia odorifera*. Demostraron que la presencia de esta bacteria en los mosquitos, después de recibir una dosis de sangre infectada con el virus del dengue, aumentaba determinadamente la susceptibilidad del vector a adquirir la infección. Charan et al. (2013) identificaron que la presencia de *Pseudomonas* spp. en el tracto intestinal de *Aedes aegypti* lo volvía más susceptible a la adquisición del virus del Dengue. Contrario a lo anterior, se han descrito especies bacterianas que inhiben la capacidad del mosquito para transmitir de manera efectiva a los arbovirus, sugiriendo que la biota intestinal de *Aedes aegypti* modula su sistema inmune y/o produce moléculas que impiden la presencia de los virus en su sistema, reduciendo así su susceptibilidad a la infección de patógenos, y por lo tanto, reduciendo la transmisión de enfermedades (Xi et al., 2008).

Los antecedentes anteriormente mostrados, demuestran que existen bacterias en el tracto intestinal de *Aedes aegypti* que modulan su sistema inmune y producen moléculas inhibidoras de arbovirus, impidiendo su presencia en los mosquitos y así su capacidad de transmitir enfermedades. A estas bacterias las podríamos denominar “benéficas” y la promoción de su crecimiento en el intestino de los mosquitos podría jugar un papel importante en su control; sin embargo, también existe la presencia de bacterias que promueven la oviposición de *Aedes aegypti* y otras bacterias aumentan la susceptibilidad de los mosquitos a la adquisición de arbovirus; en este caso consideradas bacterias no deseadas, por lo que la eliminación diferencial de especies bacterianas que promueven la oviposición o aumentan su susceptibilidad a arbovirus, podría aportar un avance en la disminución y erradicación de enfermedades como el Dengue, Zika y Chikungunya.

Una alternativa natural muy efectiva para eliminar de manera selectiva a estas especies bacterianas es el uso de bacteriófagos líticos que tengan selectividad específicamente por las bacterias que se desean eliminar, por lo que se visualiza el potencial para desarrollar investigación que podría develar el papel específico que tienen las especies bacterianas en los procesos fisiológicos básicos de los mosquitos, además del potencial para desarrollar una alternativa de control biológico selectivo a base de formulados de bacteriófagos contra aquellas bacterias que modulan dichos procesos.

2.3 Bacteriófagos: Una Alternativa para el Control Biológico de Mosquitos

Los bacteriófagos (fagos) son virus que infectan exclusivamente a bacterias y tienen un alto nivel de selectividad por género, especie, serotipo e incluso genotipo de bacterias (Ackermann y DuBow, 1987). Su descubrimiento es atribuido al bacteriólogo Ingles Frederick William Twort en 1915 y al científico Franco-Canadiense Félix d’Hérelle en 1917 (Clokier y Kropinski, 2009). Los bacteriófagos son ubicuos y se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente; son considerados como las entidades biológicas más abundantes en el planeta, se estima que existen aproximadamente 10^{31} partículas de fagos en el mundo (Gu et al., 2012).

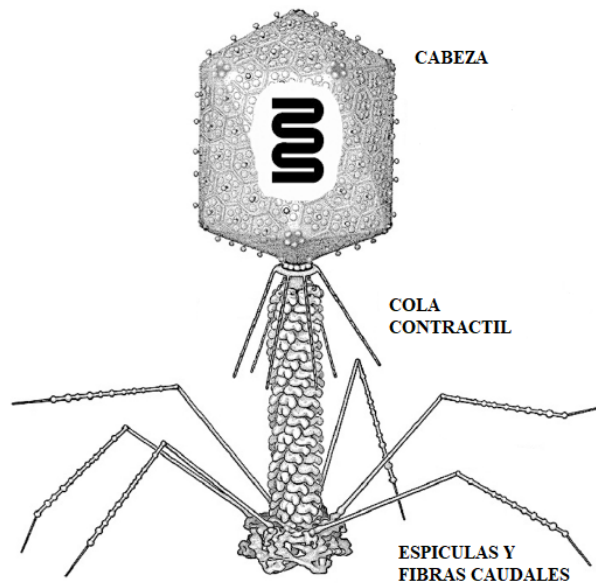


Figura 4. Representación esquemática de un bacteriófago (Harada et al., 2018).

2.3.1 Morfología y Clasificación de los Bacteriófagos

Una partícula de bacteriófago (virión) está compuesta por un solo tipo de ácido nucleico (ADN o ARN), el cual puede ser de cadena doble o de cadena sencilla, rodeado por una estructura proteínica llamada “cápside” la cual protege el material genético. Más del 96% de los bacteriófagos aislados a la fecha pertenecen a orden *Caudovirales* (que poseen cauda [cola]). En este orden de fagos, unido a la cápside se encuentra el cuello y posteriormente una estructura proteica conocida como “tallo” o “cola” a través de la cual, el bacteriófago inyecta su material genético dentro del huésped; al extremo del tallo se encuentran las fibras caudales y las espículas, las cuales reconocen a los receptores de superficie de las bacterias y permiten la adsorción de la partícula viral (Figura 4) (Clokier y Kropinski, 2009).

Los miembros del orden de los *Caudovirales* pueden dividirse en cinco familias según la morfología de la cola: *Siphoviridae* (colas largas no contráctiles; 60% de fagos conocidos),

Myoviridae (colas largas contráctiles), *Podoviridae* (colas muy cortas) y recientemente aceptadas por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) se encuentran las familias *Ackermannviridae* y *Herelleviridae* (**Figura 5**) (Moineau y Tremblay, 2013; ICTV, 2019).

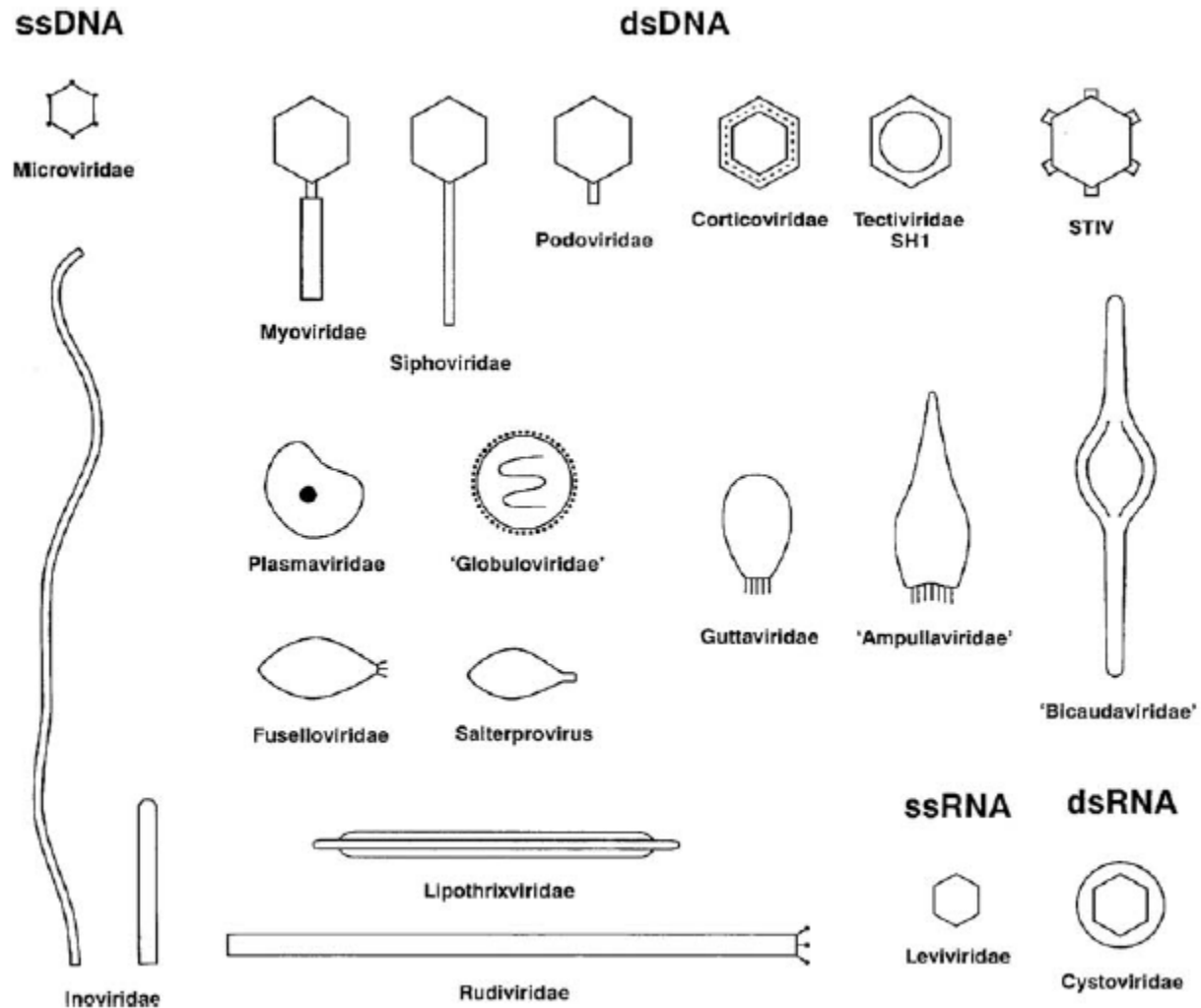


Figura 5. Clasificación de los bacteriófagos de acuerdo al ICTV. Representación esquemática de las principales familias y grupos de fagos (Ackermann, 2009).

2.3.2 Ciclos de Replicación

El ciclo de replicación de los bacteriófagos sigue una serie de pasos programados, en donde la eficiencia y el tiempo del proceso dependen en gran medida del estado metabólico del huésped. La infección comienza una vez que las fibras caudales y las espículas del fago se unen a las moléculas de reconocimiento específicas (oligosacáridos, polisacáridos, mureína) que se encuentran en la superficie de la bacteria. A este proceso se le conoce como adsorción del fago y es irreversible. Posteriormente, se internaliza el material genético del fago dentro del citoplasma de la bacteria. Una vez que el material genético ha ingresado a la bacteria, éste se replica siguiendo el ciclo lítico o el ciclo lisogénico (Ceyssens y Lavigne, 2010).

2.4.2.1 Ciclo lítico. Una vez dentro de la bacteria hospedera, el material genético del fago se puede expresar y replicar. El paso inicial generalmente implica el reconocimiento de los promotores del fago por la RNA polimerasa del huésped, lo que conduce a la transcripción de genes tempranos. Los productos de estos genes protegen el genoma del fago. Posteriormente, se sintetiza el nuevo ADN del fago, seguido de la síntesis de proteínas estructurales. Después de la síntesis de los componentes macromoleculares, las partículas del fago se ensamblan. El ADN se empaqueta en las cápsides; en un vértice de la cápside se encuentra un punto de partida para el ensamblaje de la cabeza, el sitio de acoplamiento para las enzimas de empaquetamiento del ADN, un conducto para el paso del ADN (vaina) y un sitio de unión para el tallo de fago, el cual se ensambla por separado. Finalmente, los bacteriófagos utilizan dos enzimas: lisina y/u holina para destruir la pared celular del huésped y posteriormente liberar la progenie del fago hacia la matriz extracelular y las células vecinas (**Figura 6**) (Raya y Hébert, 2009).

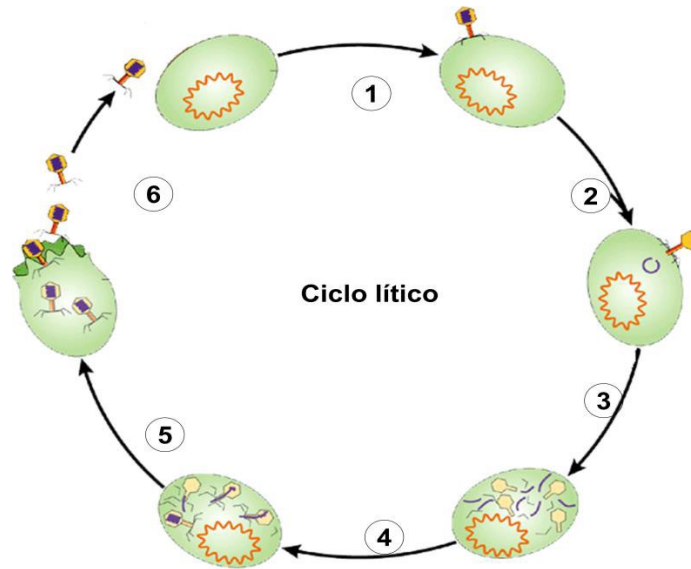


Figura 6. Esquema general del ciclo lítico por etapas. (1) adhesión del fago a la bacteria, (2) inyección del material genético, (3) replicación del material genético y síntesis de componentes estructurales, (4) ensamblaje de los viriones, (5) lisis de la célula bacteriana y (6) liberación de las nuevas partículas virales (imagen modificada de Campbell, 2003)

2.4.2.2 Ciclo Lisogénico. En el ciclo lisogénico el ácido nucleico del bacteriófago se integra en el genoma de la bacteria huésped. Los fagos lisogénicos (temperados) tienen la capacidad de cambiar entre el ciclo lítico y lisogénico. La elección del ciclo de replicación depende de las tasas de expresión relativas de las proteínas reguladoras CI, que promueven la lisogenia, y Cro, que favorece el ciclo lítico. Durante la lisogenia, el regulador clave es la proteína CII, que reprime la transcripción de los promotores líticos y regula positivamente su propia síntesis (Kropinski et al., 2009). El ciclo lisogénico se distingue por dos características: primero, el profago se replica lo suficiente para permitir que las células huésped hijas hereden al menos una copia del ADN del fago; y segundo, no se producen viriones estructurales, sino que la replicación se produce verticalmente en conjunto con la división de la bacteria huésped (**figura 7**) (Raya y Hébert, 2009).

Los genes de los bacteriófagos están organizados en módulos funcionales, los genes que codifican proteínas con funciones relacionadas se agrupan entre sí y están regulados por promotores comunes (Brussow et al., 2001). El orden de los genes en estos módulos suele ser conservado, aunque sus posiciones pueden variar en diferentes grupos de virus (Hendrix, 2002).

2.3.4 Utilización de Bacteriófagos como Control Biológico

Los fagos han sido ampliamente utilizados para reducir enfermedades bacterianas en animales y en humanos (Sklar y Joerger, 2001), en superficies e incluso en alimentos (Leverentz et al., 2003; López-Cuevas et al., 2012) y son posiblemente la única alternativa natural para eliminar de manera selectiva a bacterias de interés en el intestino de los mosquitos. Sin embargo, para su utilización como herramienta de control biológico, los bacteriófagos tienen que cumplir con algunos criterios de selección y para ello, es necesario que pasen por estudios de caracterización morfológica, biológica y genómica (Jones et al., 2012).

Dentro de las características deseables que debe poseer un bacteriófago, se encuentran el tener amplio rango de hospedero (lisando a los miembros de la especie y/o género objetivo), no contener genes de resistencia a los antibióticos en su genoma, así mismo, no contener genes que codifiquen para factores de virulencia ni alergenicidad y finalmente, deben seguir estrictamente el ciclo lítico de replicación para la eliminación del huésped bacteriano y la liberación de la progenie; además, para evitar la transferencia de genes entre bacteriófagos y bacterias (Hagens y Loessner, 2010; Monteiro et al., 2019; Culot et al., 2019).

En la literatura revisada hasta el momento, no se ha encontrado información en donde se hayan utilizado bacteriófagos en mosquitos con fines de control biológico contra bacterias de su tracto intestinal. Sin embargo, en un estudio realizado por Xu et al. (2016) demostraron que *Burkholderia* spp, una bacteria intestinal de la chinche *Blissus insularis*, es esencial para su desarrollo y reproducción y que al eliminarla con antibióticos y bacteriófagos se afectó el desarrollo de la chinche y su resistencia a los insecticidas.

Por lo tanto, los bacteriófagos podrían representar una alternativa viable para eliminar a aquellas bacterias presentes en el tracto intestinal de *Aedes aegypti* que promueven la oviposición y/o la capacidad de transmitir arbovirus. Por lo que esta investigación podría ser la primera en la que se propone el uso de bacteriófagos líticos con dichos fines, lo que representa un potencial para la generación de conocimiento científico en el tema y el desarrollo de una nueva tecnología aplicada para reducir la transmisión de enfermedades por arbovirus como Dengue, Zika y Chikungunya.

3 HIPÓTESIS

1. Las especies bacterianas más predominantes en el intestino de los mosquitos *Aedes aegypti* de la ciudad de Culiacán, son los géneros *Serratia*, *Klebsiella*, *Pantoea* y *Enterobacter*.
2. Existen bacteriófagos en fuentes ambientales con capacidad de eliminar eficientemente a *Serratia*, *Klebsiella*, *Pantoea* y *Enterobacter*.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Aislar y caracterizar bacteriófagos con actividad lítica contra bacterias cultivables de la biota intestinal de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán.

4.2 Objetivos Específicos

1. Aislar y caracterizar morfológicamente la biota bacteriana cultivable asociada al intestino medio de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán.
2. Identificar la biota bacteriana aislada del intestino medio de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán, a partir de la secuenciación del rRNA 16s.
3. Aislar bacteriófagos para el control biológico de la biota bacteriana cultivable asociada al intestino medio de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán.
4. Caracterizar a nivel molecular los bacteriófagos líticos contra bacterias aisladas del intestino medio de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Recolección de Mosquitos

Para la captura de mosquitos en su etapa adulta, se diseñó un dispositivo aspirador de mosquitos al cual se acopló un vaso de polipropileno modificado con una malla mosquitera en el fondo (**Figura 8**). La recolección de los mosquitos silvestres se llevó a cabo entre mayo y agosto de 2018 en diferentes puntos de la ciudad de Culiacán, Sinaloa. Los criterios de selección de los puntos de toma de muestras fueron los siguientes: lugares frescos, húmedos y oscuros para aumentar las probabilidades de encontrar mosquitos adultos. Los mosquitos fueron capturados por succión mientras se encontraban en reposo o en vuelo y fueron trasladados en refrigeración al Laboratorio Nacional para la Investigación en inocuidad Alimentaria (LANIIA) en las instalaciones del CIAD unidad Culiacán.

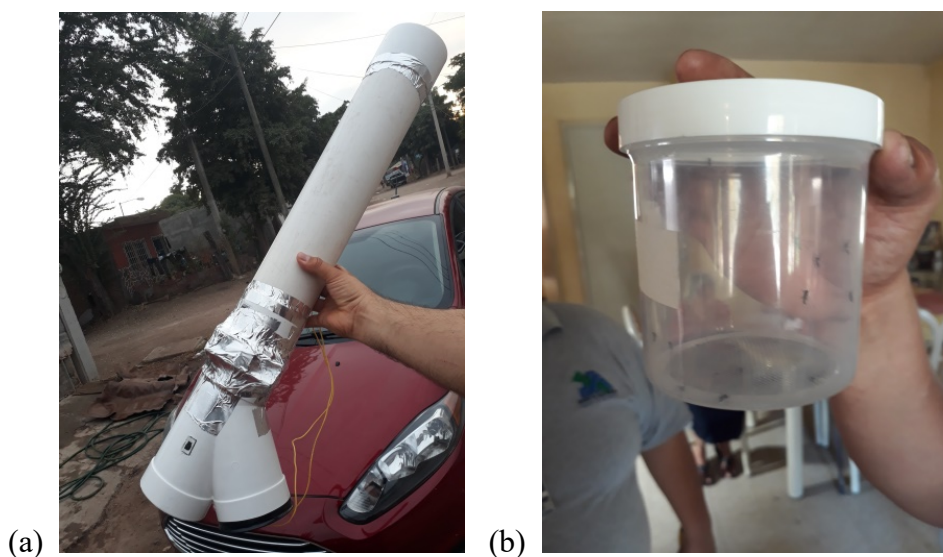


Figura 8. Herramientas para la toma de muestra. (a) dispositivo aspirador de aire utilizado para la captura de mosquitos; (b) vaso de polipropileno modificado con malla mosquitera.

5.2 Identificación Morfológica de *Aedes aegypti*

La identificación de los mosquitos hembra de la especie *Aedes aegypti* se realizó de manera visual, utilizando un microscopio estereoscopio (Leica MDG33, Alemania) y con base en las claves taxonómicas propuestas por Rueda (2004). Brevemente, *Aedes aegypti* en su etapa adulta se distingue fácilmente de otras especies de mosquitos debido a su coloración oscura y abdomen agudo; además, presenta algunas características específicas como anillos blancos en la base de los segmentos tarsales, tibia y fémures de las patas y un patrón de bandas blancas sobre el mesonoto del tórax conocido como diseño de lira invertido (**Figura 9**). Como en otras especies de mosquitos, el macho puede distinguirse de la hembra por poseer antenas plumosas y palpos más largos (**Figura 10**). Los especímenes que no cumplieron con las características taxonómicas de *Aedes aegypti* se descartaron del estudio.

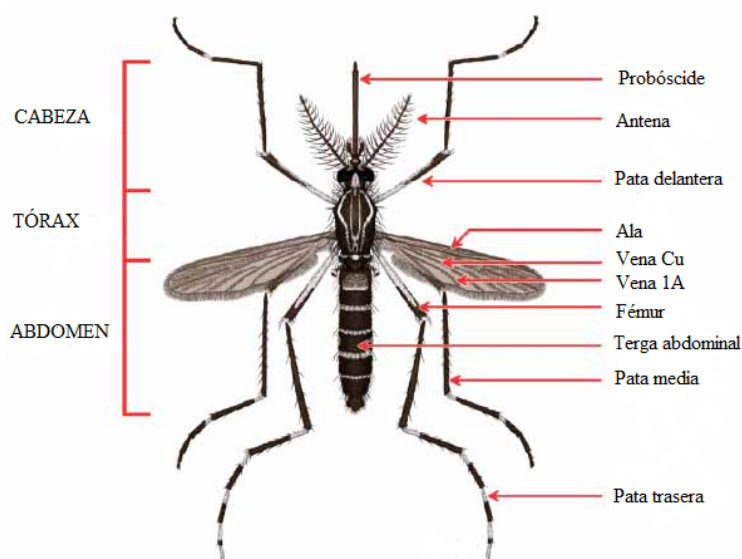


Figura 9. Morfología característica de mosquitos adultos de la especie *Aedes aegypti* (Rueda, 2004)

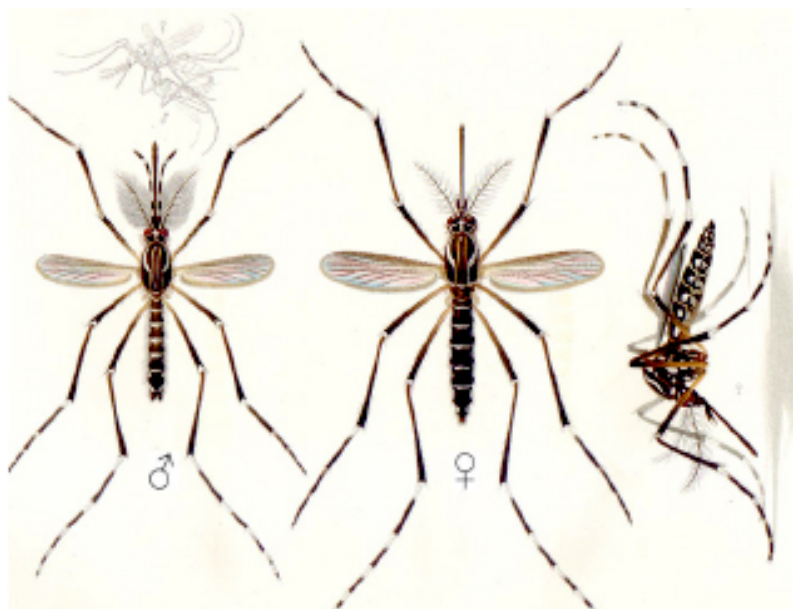


Figura 10. Diferencias morfológicas entre mosquitos hembra y macho de la especie *Aedes aegypti* (CENAPRECE, 2017).



Figura 11. Mosquito hembra de la especie *Aedes aegypti* bajo estereoscopio.

5.3 Disección del Intestino Medio de *Aedes aegypti*

El frasco de toma de muestras que contenía los mosquitos fue colocado en un refrigerador a 4°C durante 5 min, esto con la finalidad de inmovilizar o anestesiarse a los insectos. Para evitar la

contaminación de los mosquitos anestesiados, estos se lavaron con alcohol al 70% durante 5 min y se enjuagaron tres veces en buffer de fosfatos (PBS, pH 7.4). Para asegurar la sanitización exterior del mosquito, del último enjuague se tomó una alícuota de 100 μ L y se inoculó en medio de cultivo Agar de Soya y Tripticaseina (TSA, siglas en inglés; BIOXON, México) por el método de extensión en placa (se realizó por duplicado), posteriormente se incubó durante 24 h a 36°C. Posteriormente, los especímenes se transfirieron a un portaobjetos montado bajo el estereoscopio (Leica MDG33, Alemania) adicionando una gota de PBS. Posteriormente se pinchó el tórax del mosquito con un alfiler de disección y suavemente se retiró el abdomen utilizando otro alfiler de disección; el intestino medio se recuperó con el alfiler de disección (Coleman et al., 2007) (**Figura 12**). En un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL se transfirieron 10 intestinos (por muestra) con 250 μ L de PBS estéril y se maceraron por 30 s con un pistilo estéril hasta homogeneizar (Apte-Deshpande et al., 2012). Todo el material utilizado para esta prueba fue esterilizado en autoclave a 121°C durante 15 min y las áreas y equipos de trabajo fueron sanitizadas con etanol al 70%.



Figura 12. Disección intestinal de *Aedes aegypti* bajo estereoscopio.

5.4 Aislamiento e Identificación de la Biota Bacteriana Intestinal de *Aedes aegypti*

5.4.1 Aislamiento de la Biota Bacteriana Cultivable

A partir del aislamiento del intestino medio del mosquito, se tomaron 100 μL del homogeneizado y se realizaron diluciones seriadas ($10^{-1} - 10^{-5}$) usando búfer de fosfatos estéril. De cada dilución se tomaron alícuotas de 100 μL y se sembraron por duplicado en cajas Petri con TSA (BIOXON, México) por el método de extensión en placa. Las cajas se incubaron a 37°C por 48 h.

Después del proceso de incubación, las colonias bacterianas fueron inicialmente diferenciadas por sus características de color, tamaño, forma, opacidad, margen, elevación y viscosidad. Una vez identificadas, las colonias fueron tomadas de manera individual con un asa estéril y transferidas a una nueva placa de Petri con TSA (BIOXON, México); este procedimiento se realizó varias veces hasta obtener colonias puras (Gusmao et al., 2010); una vez que la bacteria estaba purificada, se realizó la tinción de Gram. Finalmente, las bacterias aisladas y caracterizadas físicamente fueron preservadas en una solución de Glicerol y Caldo de Soya y Tripticaseina (TSB, siglas en inglés; BIOXON, México) y se almacenaron a temperatura de congelación (-20°C) hasta sus análisis posteriores (Gusmao et al., 2010).

5.4.2 Extracción de ADN Bacteriano

Esta actividad fue realizada en el laboratorio de bacteriología del CIAD unidad Mazatlán. Para la extracción del ADN se utilizó el kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, EUA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las bacterias preservadas fueron reactivadas en 5 mL de TSB (BIOXON, México) y se incubaron a 37°C durante 24 a 48 h. El cultivo se centrifugó (Eppendorf mini Spin plus, Alemania) a $14,000 \times g$ durante 5 min, el sobrenadante se desechó y se recuperó el pellet bacteriano.

El pellet bacteriano obtenido en el paso anterior se resuspendió con 600 μ L de solución de lisis de nuclear (Promega, EUA); la suspensión se incubó a 80°C durante 5 min, en este paso se lisó la pared y membranas celulares. Una vez transcurridos los 5 min, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente. Acto seguido, se agregaron 3 μ L de RNAsa y se incubó a 37°C durante 60 min para degradar cualquier residuo de ARN presente que pudiese interferir con la calidad del ADN extraído. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregaron 200 μ L de solución de precipitación de proteínas, se mezcló en vortex durante 20 s y se incubó en hielo por 5 min, se centrifugaron los tubos a 14,000 xg durante 3 min. En este proceso, el ADN quedó en el sobrenadante, el cual fue recuperado y transferido a otro tubo que contenía 600 μ L de isopropanol.

Los tubos se mezclaron gentilmente con inversión hasta que las hebras de ADN formaron una masa visible, la suspensión se centrifugó a 14,000 xg durante 2 min. Al terminar el ciclo, el sobrenadante fue desechado cuidadosamente y el tubo fue drenado sobre papel absorbente limpio. Posteriormente, se añadieron 600 μ L de etanol al 70% a temperatura ambiente y se invirtieron los tubos varias veces para lavar el pellet de ADN. Las muestras se centrifugaron a 14,000 xg durante 2 min. El etanol fue aspirado cuidadosamente. Los tubos se drenaron sobre papel absorbente limpio y el pellet se dejó secar al aire libre por 10-15 min. Finalmente, se agregaron 100 μ L de solución de rehidratación de ADN y se incubaron a 65°C por 1 h.

5.4.3 Amplificación del rRNA 16S

Esta actividad fue realizada en el laboratorio de bacteriología del CIAD unidad Mazatlán. El material genético extraído fue analizado en un espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo SCIENTIFIC, EUA) para conocer su concentración y pureza (**Cuadro 1**); posteriormente se comprobó la integridad del ADN por electroforesis en gel de agarosa al 1%.

Cuadro 1. Verificación de la calidad del ADN bacteriano extraído.

Muestra	Concentración De Ac. Nucleicos	Unidad	260/280	260/230	Tipo de muestra
M1A	128	ng/μL	2.56	2.15	ADN
M1B	2875.75	ng/μL	57.51	1.73	ADN
M1C	517.7	ng/μL	10.35	1.68	ADN
M1D	678.35	ng/μL	13.56	1.89	ADN
M1E	5635.25	ng/μL	112.7	2.14	ADN
M1F	3139.95	ng/μL	62.79	1.95	ADN
M2A	996.05	ng/μL	19.92	1.9	ADN
M2B	72.75	ng/μL	1.45	1.95	ADN
M2C	160.4	ng/μL	3.21	2.15	ADN
M2D	5402.9	ng/μL	108.06	2.13	ADN
M2E	2301.45	ng/μL	46.3	2.08	ADN
M2F	582.5	ng/μL	11.65	2.08	ADN
M2G	2645.9	ng/μL	52.99	1.96	ADN
M2H	335.15	ng/μL	1.85	1.84	ADN
M2I	30.85	ng/μL	2.44	2.69	ADN
M2J	165.35	ng/μL	2.02	1.02	ADN
M3A	337.6	ng/μL	1.78	1.46	ADN
M3B	2278.1	ng/μL	2.13	2.47	ADN
M3C	3216.5	ng/μL	2.12	2.39	ADN
M3D	4273.95	ng/μL	2.16	2.43	ADN
M3E	3.3	ng/μL	5.5	16.5	ADN
M3F	29.3	ng/μL	2.35	1.71	ADN

Una vez que se comprobó que el material genético era de buena calidad en términos de una relación $260/280 > 1.7$ (ADN/proteínas), además de comprobar la integridad del ADN mediante electroforesis, se realizó la amplificación del rRNA 16S por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, siglas en inglés) siguiendo la metodología empleada por Gusmão et al. (2010) con algunas modificaciones. Se utilizaron los primers universales 1492R (5'- TAC GGY TAC CTT GTT ACG

ACT T -3') y 27F (5'- AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3'). Para la mezcla de reacción se agregó ADN templado (1 µL/100 ng); primer 27F (1.25 µL/6 pmol); primer 1492R (1.25 µL/6 pmol); MgCl₂ 25 mM (1.5 µL); buffer 5x (5 µL); DNTP's (0.5 µL); Taq DNA polimerasa (0.15 µL) y 14.86 µL de agua ultra pura. Las condiciones para la amplificación por PCR fueron las siguientes: un paso de desnaturalización inicial a 95°C durante 5 min; seguido de 35 ciclos que incluyeron una desnaturalización a 95°C por 35 s, un alineamiento de los primers a 56°C durante 35 s y una extensión a 72°C durante 90 s; por último un paso final de 10 min a 72°C. La amplificación generó un producto de aproximadamente 1,500 pb.

La calidad y concentración de los amplicones fue verificada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %. Las muestras amplificadas fueron secuenciadas en la empresa MacroGen ubicada en Corea del Sur. Las secuencias obtenidas fueron alineadas en la base de datos de EZBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/identify>) y la identificación bacteriana se realizó mediante alineamiento local básico de secuencias (BLAST), utilizando como criterio de homología e identidad un porcentaje de similitud mayor del 90%.

5.5 Aislamiento de Bacteriófagos Líticos Contra Bacterias de la Biota Intestinal de *Aedes aegypti*

5.5.1 Toma de Muestras

La selección de las muestras para el aislamiento de bacteriófagos se realizó tomando en cuenta el origen de las bacterias en estudio. En total, se tomaron catorce muestras de diversas matrices para el aislamiento de bacteriófagos. El objetivo original fue aislar bacteriófagos de las muestras intestinales de mosquitos utilizadas para el aislamiento de bacterias en la etapa anterior; sin embargo, debido a que se perdieron después de los sucesos ocurridos en septiembre de 2018, en donde las instalaciones de CIAD Culiacán se vieron comprometidas debido a la depresión tropical 19E, se optó por tomar diferentes tipos de muestra para aumentar las probabilidades de encontrar

bacteriófagos. Principalmente se tomaron muestras de agua con un alto grado de contaminación y que presentaran la presencia de larvas de mosquitos, también se tomó una muestra de heces para aumentar la probabilidad de encontrar fagos para enterobacterias y finalmente se tomó una muestra de mosquitos (**Cuadro 2**) Para la identificación de la muestra se utilizó la letra “F” (fago) y el número consecutivo de la muestra analizada. Las muestras fueron trasladadas en condiciones de refrigeración a las instalaciones del LANIIA ubicadas en la Universidad Tecnológica de Culiacán (UTC) para su procesamiento.

Cuadro 2. Muestras utilizadas para el aislamiento de bacteriófagos líticos contra bacterias intestinales de *Aedes aegypti*

Número de muestra	Identificación	Tipo de muestra	Naturaleza de la muestra	Sitio de toma de muestra
1	F1	Agua	Arroyo pluvial	Colonia Adolfo López Mateos, Culiacán
2	F2	Agua	Arroyo pluvial	Stanza Córcega, Culiacán
3	F3	Agua	Estanque de peces	CIAD Mazatlán
4	F4	Agua	Dren	La Palma, Navolato
5	F5	Agua	Dren	El Quemadito, Culiacán
6	F6	Agua	Dren	El Diez, Culiacán
7	F7	Agua	Criadero (bebedero de ganado)	Los Agaves, Culiacán
8	F8	Agua	Estanque deportivo	UTC, Culiacán
9	F9	Agua	Criadero en panteón	Panteón 21 de marzo, Culiacán
10	F10	Heces	Ganado vacuno	Los Agaves, Culiacán
11	F11	Agua	Criadero en panteón	Panteón La Lima, Culiacán
12	F12	Agua	Arroyo pluvial	Chulavista, Culiacán
13	F13	Agua	Criadero (tambos, piletas)	Culiacán
14	F14	Mosquitos	Mosquitos silvestres	Culiacán

5.5.2 Enriquecimiento

Las bacterias preservadas en la etapa anterior fueron reactivadas de manera individual por el método de estriado en placas con TSA (BIOXON, México); posteriormente se tomó una colonia de cada bacteria y de manera individual se cultivaron en TSB (BIOXON, México) y se incubaron por 24 h a 37°C. Enseguida, del cultivo anterior se mezcló 1 mL de cada bacteria en tubos Corning de 50 mL (Para hacer un pool de bacterias) los cuales fueron inoculados con las diferentes muestras (22 mL de muestra líquida, 5 g de muestra sólida, según el caso) e incubados en condiciones aerobias a 37°C durante 18-24 h. Transcurrida la incubación, los tubos fueron agitados en vortex y centrifugados a 13,800 $\times g$ por 10 min a 4°C; se recuperó el sobrenadante y se filtró a través de membranas de nitrocelulosa con un tamaño de poro de 0.22 μm ; a este filtrado se le denomina “Lisado”.

5.5.3 Identificación de Bacteriófagos por la Prueba de “Spot”

Para evidenciar la presencia de bacteriófagos líticos contra las bacterias en estudio, se realizó la prueba de goteo (Spot) mediante la técnica de la doble capa de agar con los lisados de cada muestra. Para ello, se mezcló 1 mL de bacteria en fase de crecimiento exponencial, en un tubo que contenía 3 mL de TSB-Agarosa 0.4% (p/v) precalentado y licuado a 45°C y se vertió el contenido sobre cajas Petri con TSA (BIOXON, México). Éstas se dejaron secar y finalmente se colocaron 5 μL de cada lisado sobre la capa de agar suave; una vez que la gota se secó, las cajas se invirtieron y se incubaron a 37°C durante 18-24 h (Este procedimiento se repitió para cada una de las bacterias en estudio y cada lisado donde se suponía la presencia de bacteriófagos). La presencia de una placa de lisis o “calva” en donde se colocó la gota, indica la presencia de bacteriófagos líticos contra esa bacteria (**figura 13**) (Clokier y Kropinski, 2009).

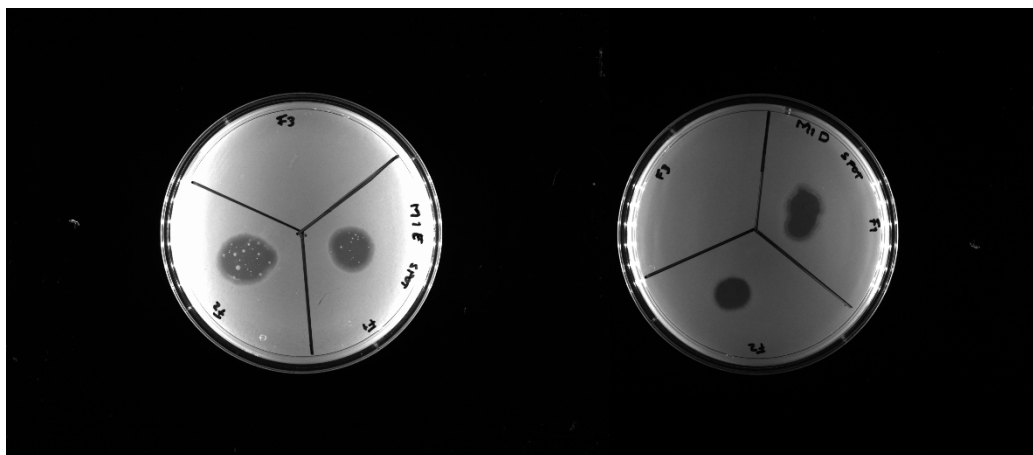


Figura 13. Desarrollo de placa de lisis o “calva”, indicativo de la presencia de bacteriófagos líticos contra las bacterias M1E y M1D.

5.5.4 Purificación de Bacteriófagos

Una vez que se confirmó la presencia de bacteriófagos en los lisados, fue necesario aislarlos y purificarlos, para esto, se utilizó la técnica de la doble capa de agar convencional. Las cepas bacterianas que demostraron sensibilidad ante los bacteriófagos presuntivos, fueron cultivadas de manera individual en TSB (BIOXON, México) por 24 h a 37°C. Enseguida, se mezclaron 1 mL de bacteria y 100 µL del lisado que contenía los bacteriófagos, en un tubo que contenía 3 mL de TSB-Agarosa 0.4% (p/v) precalentado y licuado a 45°C; se homogeneizó la mezcla y se vertió sobre cajas Petri con TSA (BIOXON, México), se dejó secar y se incubaron las cajas a 37°C durante 18-24 h. Transcurrido el tiempo, se seleccionaron placas con base a su tamaño y claridad, y se transfirieron a tubos Eppendorf de 1.5 mL conteniendo 1 mL de buffer de fosfatos estéril. El procedimiento del doble agar y recuperación de placas individuales se repitió cuatro veces para obtener fagos únicos y purificados (Clokier y Kropinski, 2009)

5.5.5 Propagación de Bacteriófagos

Para la propagación de los bacteriófagos se utilizó la metodología propuesta por Carey-Smith et al. (2006), con algunas modificaciones. Brevemente, se mezcló 1 mL de la cepa hospedadora en su fase de crecimiento exponencial con 100 μ L del bacteriófago purificado, en un tubo de ensayo que contenía 3 mL de TSB-Agarosa 0.4% (p/v) licuado a 45°C; el contenido se vertió en cajas de Petri con TSA (BIOXON, México) y se dejó secar. Las cajas fueron incubadas a 37°C durante 18-24 h. Una vez desarrolladas las placas (replicación de los bacteriófagos), se agregaron 6 mL de búfer de fosfatos estéril a cada caja Petri y se recuperó la capa suave utilizando un raspador de células estéril, el eluido final se centrifugó a 8,500 $\times g$ durante 10 min a 4°C para eliminar células bacterianas y residuos del medio de cultivo. El sobrenadante fue filtrado por membranas de nitrocelulosa con tamaño de poro de 0.45 μ m de diámetro. El filtrado fue almacenado a 4°C protegido de la luz.

5.5.6 Concentración y Titulación de Bacteriófagos

Para la concentración y titulación del fago, se tomaron 40 mL del bacteriófago propagado en el paso anterior y se centrifugaron a 40,000 $\times g$ durante 2 h. El sobrenadante fue decantado y el sedimento se resuspendió en 10 mL de búfer de fosfatos estéril y finalmente se filtró a través de un acrodisco de tamaño de poro de 0.22 μ m de diámetro. El título de los bacteriófagos fue determinado mediante el método propuesto por Kropinski et al. (2009); brevemente, se prepararon diluciones decimales seriadas en búfer de fosfatos estéril ($10^1 - 10^{10}$) del bacteriófago concentrado y se realizó la técnica de la doble capa de agar. Finalmente, se seleccionaron las diluciones en donde se pudieran contar entre 30 y 300 placas y se calculó la concentración mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{UFP}}{\text{mL}} = \text{Número de placas} \times 10 \times \text{Recíproco de la dilución contada}$$

5.6 Caracterización Molecular de bacteriófagos líticos contra bacterias del intestino medio de *Aedes aegypti*

5.6.1 Extracción del ADN Viral

Para la extracción de ADN de los bacteriófagos se utilizó la metodología propuesta por Sambrook y Russell (2001), con algunas modificaciones. Para ello, se colocó 1 mL de la suspensión de bacteriófagos concentrados en un tubo para microcentrífuga de 1.5 mL, en el cual se adicionaron 2 U de DNAasa I (Sigma-Aldrich, EUA) y 2 U de RNAasa A (Sigma-Aldrich, EUA), enseguida fueron incubados a 37°C, durante 30 min. Después de la incubación se adicionaron 40 µL de EDTA (Sigma, EUA) 0.5 M (pH 8.0), 2.5 µL proteinasa K (Qiagen, Alemania) (20 mg mL⁻¹) y 50 µL de Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) (Sigma, EUA) al 10%, mezclándose por inversión de 5-10 veces. Después, los tubos que contenían la mezcla se incubaron a 56°C durante 2 h. Finalizada la incubación, se agregó un volumen de fenol equilibrado (Sigma-Aldrich, EUA) y se mezcló por inversión hasta que se observó la mezcla completamente emulsificada. Posteriormente, se centrifugó en una microcentrífuga (Eppendorf mini Spin plus, Alemania) a 3,500 xg durante 10 min a 25°C. La fase acuosa fue transferida a un tubo para microcentrífuga de 1.5 mL. Posteriormente, se añadió un volumen de fenol equilibrado-cloroformo 1:1 (v/v) (Sigma-Aldrich, EUA) y se repitió la centrifugación bajo las mismas condiciones (este paso se repitió tres veces). Finalizada la centrifugación, se transfirió la fase acuosa a un tubo para microcentrífuga de 1.5 mL y se adicionaron 200 µL de acetato de sodio 3 M (Sigma-Aldrich, EUA) y alcohol etílico absoluto (Sigma-Aldrich, EUA) hasta llenar el tubo. Después, se incubó a -20°C, durante toda la noche. Concluida la incubación, se centrifugó a 15,000 xg durante 30 min, se decantó el sobrenadante y se adicionó un volumen de alcohol etílico al 70% y de nueva cuenta se centrifugó en una microcentrífuga (Eppendorf mini Spin plus, Alemania) a 15,000 xg durante 15 min. Después se decantó el sobrenadante y se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente. Finalmente se adicionaron 100 µL de agua libre de nucleasas. La concentración y pureza del ADN se verificaron en un espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, EUA) y la integridad del mismo se evaluó en un gel de agarosa al 1%.

5.6.2 Secuenciación del Genoma y Anotación de los Bacteriófagos

La secuenciación del ADN se realizó en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) unidad Mazatlán usando el sistema de secuenciación MiniSeq (Illumina, Inc.). Cada genoma secuenciado fue ensamblado *de novo* utilizando el programa bioinformático Iterative Virus Assembler (IVA) (v1.0.9). Para remover las secuencias de los adaptadores que pudieron ser acarreadas del proceso de secuenciación y hacer un filtrado de los “reads” de acuerdo a su calidad, se utilizó la opción Trimmomatic (v0.38).

Los Marcos de Lectura Abiertos (ORFs, por sus siglas en Inglés) mayores a 100 pb fueron identificados en GeneMark (<http://exon.gatech.edu/GeneMark/>) y en ORF finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>). Los ORFs, predichos en GeneMark, fueron analizados por alineamiento local (BLAST) mediante la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en Inglés) contra la base de datos de secuencias de proteínas no redundantes; mientras que para ORF finder se utilizó la identificación automática mediante SmartBlast del NCBI; además se realizó la búsqueda de dominios de proteínas conservadas utilizando la base de datos InterProScan (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence-search>).

El ciclo de replicación de cada fago, así como su tipo de hospedero (Gram + o Gram -) fueron determinados en la base de datos de PHACTS (<http://edwards.sdsu.edu/PHACTS/retrieve.php>). La determinación de los genes de virulencia se realizó mediante la construcción de ensamblajes utilizando ARIBA (v2.10); para ello, fue necesario utilizar los “reads” generados para cada genoma. Finalmente, los factores de virulencia fueron predichos en la base de datos Virulence Factors Database (VFDB) (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/main.htm>). Para la identificación de los genes de resistencia se utilizó ResFinder (v3.2) (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>), la cual identifica genes adquiridos por transferencia horizontal o mutaciones cromosómicas; explorando la resistencia adquirida a aminoglucósidos, betalactámicos, colistina, fluoroquinolonas, fosfomicina, ácido fusídico, fenicoles, rifampicina, tetraciclina y trimetoprim.

La secuencia nucleotídica de cada fago se tradujo a secuencia aminoacídica mediante la página de EMBL-EBI con la herramienta EMBOSS Transeq (https://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/). Posteriormente, dicha secuencia fue analizada en Allergen Online (v19) (<http://www.allergenonline.org/>) con un máximo de 20 alineamientos y valores Bit Score por debajo de 1 para identificar proteínas con potencial alérgeno. Posteriormente, se identificó la bacteria huésped tentativa para cada fago mediante la comparación de la similitud de la secuencia contra la base de datos HostPhinder (V1.1) (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/HostPhinder/>), la cual alberga genomas de fagos con hospedero conocido.

Finalmente, se utilizó el programa bioinformático Geneious prime (v2019.2.1) para la generación de los mapas organizacionales del genoma de los fagos. Para esto, las proteínas putativas identificadas por alineamiento local (BLAST) fueron catalogadas de acuerdo a su función predicha en los siguientes módulos: proteínas estructurales (color azul), proteínas relacionadas con el metabolismo (color amarillo), proteínas de empaquetamiento del ADN (color rojo), proteínas de lisis del hospedero (color negro), proteínas hipotéticas (color verde) y secuencias no identificadas (color gris). Posteriormente se cargaron los genomas de los fagos en el programa y se procedió a concatenar aquellos que contenían más de un contig, con la finalidad de obtener una secuencia única. Por último, se ingresaron los datos (identificación, transcrita en sentido o anti sentido, color del módulo, posición de inicio y posición de paro del transcrito) de cada una de las proteínas en su genoma correspondiente.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Aislamiento e Identificación de la Biota Bacteriana Intestinal de *Aedes aegypti*

Uno de los objetivos del presente trabajo fue estudiar la diversidad de bacterias asociadas al intestino medio de mosquitos *Aedes aegypti* en la ciudad de Culiacán. En este aspecto, se obtuvieron 22 aislados bacterianos, de los cuales, el grupo de mayor prevalencia está representado por cocos Gram positivos (10 aislados), también se aislaron bacilos Gram negativos (8 aislados) y finalmente en menor proporción (4 aislados) bacilos Gram positivos (**cuadro 3**).

Los aislados fueron sometidos al análisis de las secuencias del rRNA 16S en la base de datos de EZBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/identify>) en donde fueron identificados los siguientes géneros bacterianos: *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Serratia* y *Staphylococcus* (**Cuadro 3**). El género *Staphylococcus* fue el dominante en los aislados y estuvo presente en todas las muestras; seguido de los géneros *Bacillus*, *Enterobacter* y *Pantoea*. En total se obtuvo una diversidad de 17 especies bacterianas pertenecientes a 8 géneros.

Cuadro 3. Morfología celular e identificación de bacterias aisladas del intestino medio de *Aedes aegypti* basados en la secuenciación del rRNA 16S

Aislado	Morfología y Tinción Gram	Identificación	% de similitud
M1A	Coco G+	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	98.24
M1B	Coco G+	<i>Micrococcus yunnanensis</i>	100
M1C	Bacilo G-	<i>Pantoea deleyi</i>	99.46
M1D	Bacilo G-	<i>Klebsiella variicola</i>	94.39
M1E	Bacilo G-	<i>Enterobacter xiangfangensis</i>	99.6
M1F	Bacilo G-	<i>Enterobacter xiangfangensis</i>	98.95
M2A	Bacilo G-	<i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>indologenes</i>	99.18

M2B	Coco G+	<i>Micrococcus aloeverae</i>	99.9
M2C	Bacilo G+	<i>Microbacterium hibisci</i>	98.97
M2D	Bacilo G-	<i>Pantoea dispersa</i>	99.79
M2E	Bacilo G-	<i>Serratia rubidaea</i>	99.68
M2F	Coco G+	<i>Staphylococcus warneri</i>	92.72
M2G	Bacilo G+	<i>Bacillus cereus</i>	98.96
M2H	Bacilo G+	<i>Bacillus foraminis</i>	99.7
M2I	Coco G+	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	99.4
M2J	Bacilo G-	<i>Bacillus subterraneus</i>	100
M3A	Coco G+	<i>Staphylococcus petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i>	99.48
M3B	Coco G+	<i>Staphylococcus warneri</i>	99.7
M3C	Coco G+	<i>Staphylococcus warneri</i>	98.58
M3D	Coco G+	<i>Staphylococcus warneri</i>	99.47
M3E	Coco G+	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	99.58
M3F	Bacilo G+	<i>Bacillus aryabhattai</i>	98.38

Todos los géneros bacterianos aislados, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza (en las plantas, agua, o como biota normal de la piel de los humanos). Investigaciones recientes proponen que los mosquitos pueden adquirir su biota bacteriana intestinal de forma vertical, es decir, heredadas de sus madres; o de forma horizontal al adquirirlas directamente de la naturaleza, principalmente de los sitios en donde se alimentan (Coon et al., 2014; 2016).

Los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pantoea* y *Serratia* han sido aislados consistentemente tanto en mosquitos *Aedes aegypti* como en otras especies de mosquitos; esto, ha permitido a diversos investigadores inferir que esos géneros bacterianos son capaces de mantener una asociación estable con su insecto hospedero y que posiblemente desempeñan algún rol importante en la vida del mosquito, lo que las convierte en bacterias objetivo para futuros ensayos (Gusmão et al., 2010; Terenius et al., 2012; Yadav et al., 2016; Ramírez et al., 2012).

En el presente estudio se identificó la presencia de *Serratia rubidaea*, miembro de la familia *Enterobacteriaceae* (anaerobio facultativo, Gram negativo, citocromo oxidasa negativo y catalasa positivo). *Serratia marcescens* y *Serratia odorifera* se han reportado como residentes comunes de la biota intestinal de mosquitos, en donde son capaces de lisar glóbulos rojos y de acidificar azúcares, ambas funciones esenciales para el metabolismo del mosquito (Gusmão et al., 2007; Apte-Deshpande et al., 2012). Por su parte, De Gaio et al. (2011) determinaron que *Serratia* spp. y *Enterobacter* spp. fueron las bacterias dominantes en el intestino de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en Brasil y demostraron que al eliminarlas mediante el uso de antibióticos, se afectaron los procesos de digestión y producción de huevos. Por otro lado, también se ha descubierto que la presencia de *Serratia odorifera* vuelve a los mosquitos *Aedes aegypti* de Pune, en la India, más susceptibles a infectarse con el virus del dengue (Apte-Deshpande et al., 2012).

En el caso de las especies de *Pantoea*, se sabe que éstas son adquiridas del medio ambiente pero también de manera vertical, ya que colonizan los órganos sexuales del mosquito (Valiente-Moro et al., 2013). Caso contrario a *Serratia* spp. que se ha descubierto que produce bacteriocinas que afectan a los patógenos, actuando como parte del sistema inmune de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en Panamá (Ramírez et al., 2012).

Llama la atención que en los aislados de la presente investigación dominaron bacterias del género *Staphylococcus*. Este género ya había sido reportado anteriormente en el mosquito *Aedes albopictus* capturados en la India, en donde se encuentra dominando más del 60% de los aislados (Yadav et al., 2016). Es ampliamente conocido que estas bacterias viven como comensales en nuestra piel y por lo tanto es posible que sea su origen. Una de las características más importantes de *Staphylococcus* es que son productores de hemolisina, por lo tanto, se podría inferir que al igual que las especies de *Serratia*, estas bacterias están relacionadas con el proceso de digestión de la sangre y por consiguiente en la producción de huevos en *Aedes aegypti* (De Gaio et al., 2011).

6.2 Aislamiento de Bacteriófagos Líticos contra Bacterias de la Biota Intestinal de *Aedes aegypti*

Se aislaron 12 bacteriófagos: F1M1C, F1M1D, F1M1E, F2M1C, F2M1D, F2M1E, F4M1D, F4M1E, F5M1C, F5M1D, F5M1E y F5M2A (provenientes de agua de dren y de arroyos pluviales), los cuales mostraron fuerte actividad lítica contra 6 de las 22 bacterias aisladas en la etapa anterior. Las bacterias que presentaron susceptibilidad a los bacteriófagos aislados son: *Enterobacter xiangfangensis*, *Klebsiella variicola*, *Pantoea deleyi*, *Pantoea dispersa* y *Pantoea stewartii* subsp. indologenes; todas ellas bacilos Gram negativos, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (**Cuadro 4**). El lisado F14 que corresponde a la muestra de mosquitos, no mostró actividad lítica contra ninguno de los aislados bacterianos. Es importante señalar que en esta investigación no se encontraron bacteriófagos capaces de lisar a las diferentes especies de *Staphylococcus* o cualquier otra bacteria Gram positiva aislada en este estudio.

Cuadro 2. Actividad lítica de bacteriófagos contra bacterias aisladas de la biota intestinal de mosquitos *Aedes aegypti*

Bacteriófago	Cepas					
	<i>Pantoea deleyi</i>	<i>Klebsiella variicola</i>	<i>Enterobacter xiangfangensis</i>	<i>Enterobacter xiangfangensis</i>	<i>Pantoea stewartii</i>	<i>Pantoea dispersa</i>
F1M1C	*	—	—	—	—	*
F1M1D	—	*	—	—	—	—
F1M1E	—	—	*	*	—	—
F2M1C	*	—	—	—	—	—
F2M1D	—	*	—	—	—	—
F2M1E	—	—	*	*	—	—
F4M1D	—	*	—	—	—	—
F4M1E	—	—	*	*	—	—
F5M1C	*	—	—	—	—	*
F5M1D	—	*	—	—	—	—
F5M1E	—	—	*	*	—	—
F5M2A	—	—	—	—	—	*

*: Mostró actividad lítica; —: no mostró actividad lítica

6.3 Análisis Bioinformático del genoma de los Bacteriófagos

El material genético de todos los bacteriófagos analizados consiste en ADN de doble cadena con un tamaño de genoma que oscila entre las 38,764 pb y las 149,428 pb con un contenido de Guanina-Citosina (G-C) alrededor del 50%, como se muestra en el **cuadro 5**. La cantidad de Marcos de Lectura Abiertos (ORFs) oscila entre los 46 y los 292 y depende del tamaño del genoma del fago analizado; en el **cuadro 5**, se resume la cantidad de ORFs predicha para los bacteriófagos aislados.

Cuadro 3. Características generales del genoma de los bacteriófagos

Bacteriófago	Tamaño del genoma (pb)	ADN codificante	ADN no codificante	Contenido G-C	ORFs
F1M1C	38,764	89.06%	10.94%	50.70%	46
F1M1D	105,727	91.09%	8.91%	50.70%	150
F1M1E	138,561	90.75%	9.25%	50.60%	264
F2M1C	39,615	89.84%	10.16%	50.70%	47
F2M1D	77,915	91.65%	8.35%	50.10%	128
F2M1E	148,352	90.89%	9.11%	50.60%	289
F4M1D	88,714	90.00%	10.00%	51.10%	140
F4M1E	148,907	90.83%	9.17%	57.20%	289
F5M1C	69,388	88.18%	11.82%	50.20%	102
F5M1D	95,572	91.35%	8.65%	51.20%	149
F5M1E	147,542	89.79%	10.21%	50.60%	280
F5M2A	149,428	90.84%	9.16%	50.60%	292

La predicción del ciclo de replicación de los bacteriófagos utilizando el programa PHACTS, sugiere que el bacteriófago F1M1E tiende a emplear el ciclo lisogénico como estrategia de replicación; mientras que los once bacteriófagos restantes utilizan el ciclo lítico como estrategia de replicación. Adicionalmente, el programa PHACTS predice que los bacteriófagos infectan exclusivamente a bacterias Gram negativas (**cuadro 6**). Esto fue corroborado en la base de datos de HostPhinder, en donde se sugiere que el hospedero de los bacteriófagos F1M1C, F2M1C y F5M1C es la bacteria Gram negativa *Salmonella enterica*; mientras que *Klebsiella pneumoniae* es el principal hospedero para los bacteriófagos F1M1D, F2M1D, F4M1D y F5M1D; por otro lado, para los bacteriófagos F1M1E, F2M1E, F4M1E, F5M1E y F5M2A la base de datos propone a *Cronobacter sakazakii* como su hospedero, todas ellas enterobacterias Gram negativas. El análisis de ciclo de vida y hospederos principales sugiere que los bacteriófagos presentan actividad lítica específicamente contra bacterias Gram negativas, lo cual pudimos confirmar mediante las pruebas de rango de hospederos, en las cuales los once bacteriófagos aislados presentaron actividad lítica contra enterobacterias como *Enterobacter xiangfangensis*, *Klebsiella variicola*, *Pantoea deleyi*, *Pantoea dispersa* y *Pantoea stewartii* subsp. Indologenes.

Cuadro 4. Ciclo de replicación y tipo de hospedero predichos mediante el programa PHACTS.

Bacteriófago	Hospedero	Ciclo de replicación	Probabilidad
F1M1C	Gram negativo	Lítico	54.3%
F1M1D	Gram negativo	Lítico	50.5%
F1M1E	Gram negativo	Lisogénico	52.0%
F2M1C	Gram negativo	Lítico	57.5%
F2M1D	Gram negativo	Lítico	51.9%
F2M1E	Gram negativo	Lítico	57.6%
F4M1D	Gram negativo	Lítico	52.2%
F4M1E	Gram negativo	Lítico	51.8%

F5M1C	Gram negativo	Lítico	57.4%
F5M1D	Gram negativo	Lítico	51.5%
F5M1E	Gram negativo	Lítico	50.5%
F5M2A	Gram negativo	Lítico	50.9%

El análisis del genoma reveló que no existen genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos en ninguno de los bacteriófagos. El análisis de la cadena aminoacídica del genoma de los fagos realizada en la base de datos de Allergen Online, reveló que existen genes en once de los bacteriófagos aislados, que codifican para alérgenos putativos (**Cuadro 7**). Uno de los requisitos para el uso de bacteriófagos como control biológico es la ausencia de genes de alergenicidad. Sin embargo, la Comisión del Codex Alimentarius (2003) desarrolló pautas para la evaluación de la posible alergenicidad de proteínas nuevas; en donde recomiendan una búsqueda bioinformática utilizando un algoritmo FASTA o BLASTP, y sugieren que para indicar la posibilidad de reactividad cruzada, las coincidencias en el porcentaje de identidad sean de al menos el 35% en segmentos de al menos 80 aminoácidos. Por lo tanto, debido a que ninguno de los alérgenos encontrados en el análisis cumple a la par con los criterios establecidos por el Codex Alimentarius (siendo de 781 pb el alergeno más grande pero con una similitud de apenas el 14.7% y el más pequeño con un tamaño de apenas 52 pb y una similitud del 36.5%), se concluye que no tienen la capacidad para generar reactividad cruzada, por lo que los bacteriófagos aislados pueden ser considerados como libres de alérgenos, lo cual representa una característica deseable para su uso.

Cuadro 5. Características de los genes de alergenicidad y homología con proteínas alergénicas putativas

Fago	Longitud pb	% Identidad	Valor E	Homología
F1M1D	275	0.7	2.6×10^{-10}	Glutenina de bajo peso molecular tipo D
	277	6.9	4.5×10^{-8}	Putativa glutenina de bajo peso molecular
	212	0.9	1.5×10^{-7}	Glutenina de bajo peso molecular tipo D

	199	5	2.7×10^{-5}	Similar a la gliadina
	199	5.5	3.7×10^{-5}	Similar a la proteína alfa / beta gliadina
	199	5	4.3×10^{-5}	Precursor de la alfa / beta-gliadina
	750	14.1	0.98	Glutenina subunidad 1Ax1 de alto peso molecular
	52	36.5	0.6	Alérgeno de polen Phl p Vb
F1M1E	65	40	0.4	Alérgeno principal del polen Pha a 5.4 putativo
	324	17.3	1.7×10^{-7}	Globulina 11S putativa
F2M1C	97	23.7	0.056	Alérgeno similar a peroxisomal
	337	13.4	7×10^{-7}	Precursor de la globulina 11S
F2M1D	677	13.1	0	Precursor de glutenina tipo x subunidad Bx7 de alto peso molecular
	237	9.3	3.2×10^{-6}	Putativa pre-gamma-gliadina B-I
	202	14.9	0.02	Arginina quinasa putativa
	117	20.5	0.022	Putativa Sal k 5, parcial
F2M1E	552	16.3	0	Similar a la glutenina de alto peso molecular
	324	17.3	0	Globulina 11S putativa
	275	0.7	0	Glutenina de bajo peso molecular tipo D
	277	6.9	0	Putativa glutenina de bajo peso molecular
	212	0.9	1×10^{-7}	Glutenina de bajo peso molecular tipo D
F4M1D	199	5	2×10^{-5}	Similar a la gliadina
	199	5.5	2.8×10^{-5}	Similar a la proteína alfa / beta gliadina
	199	5	3.2×10^{-5}	Precursor de la alfa / beta-gliadina
	750	14.1	0.8	Glutenina de alto peso molecular subunidad 1Ax1
	337	13.4	7.80×10^{-7}	Precursor de la globulina 11S
	552	16.3	1.10×10^{-18}	Similar a la glutenina de alto peso molecular
F4M1E	324	17.3	4.50×10^{-8}	Globulina 11S putativa
	781	14.7	0	Glutenina de alto peso molecular subunidad 5
	727	12.9	0	Glutenina
F5M1C	202	14.9	0.0057	Arginina quinasa putativa
	97	23.7	0.085	Alérgeno similar a peroxisomal
	52	36.5	0.68	Alérgeno de polen Phl p Vb
F5M1D	377	14.9	5.20×10^{-6}	Precursor de la globulina 11S
F5M1E	552	16.3	0	Similar a la glutenina de alto peso molecular
	324	17.3	0	Globulina 11S putativa
	254	24.8	3.4×10^{-6}	Proteína alergénica putativa principal del polen
	739	13.5	0	Glutenina
F5M2A	552	16.3	0	Similar a glutenina de alto peso molecular

781	14.7	0	Glutenina de alto peso molecular subunidad 5
727	12.9	0	Glutenina

6.3.1 Características Genómicas del Bacteriófago F1M1C

El genoma del bacteriófago F1M1C consiste en ADN de doble cadena compuesto por 38,764 pb con un contenido de GC del 50.70%, como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 46 ORFs, 45 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 1 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 8**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F1M1C reveló que carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos, alérgenos y factores de virulencia; además, este bacteriófago sigue el ciclo lítico de replicación e infecta a bacterias Gram negativas, por lo que tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F1M1C presenta una alta similitud (96.27%) con la secuencia del bacteriófago *Klebsiella* phage patroon (NCBI: MK608335.1), un fago con actividad lítica sobre *Klebsiella pneumoniae*, que pertenece a la familia *Podoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F1M1C posea una estructura icosaédrica y un tallo corto típico de la familia *Podoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 29 ORFs (63.05%) son putativamente funcionales; mientras que los 17 ORFs (36.95%) restantes fueron catalogados como proteínas hipotéticas, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 14**).

Cuadro 6. Características de los genes del bacteriófago F1M1C y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F1M1C							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	2	1297	+	Cuello/Proteína de unión cabeza a cola	99%	0	100
2	1399	2331	+	Proteína de ensamblaje de la cápside	99%	0	98.39
3	2488	3531	+	Proteína principal de la cápside	94%	0	99.09
4	3570	3803	+	Proteína principal de la cola	98%	4.00E-43	100
5	3916	4506	+	Proteína tubular A de la cola	99%	2.00E-142	99.49
6	4522	6927	+	Proteína hipotética	99%	0	99
7	7000	7410	+	Proteína A interior del virión	99%	8.00E-97	100
8	7413	8006	+	Proteína B interior del virión	99%	2.00E-138	98.98
9	8009	10252	+	Proteína C interior del virión	99%	0	99.60
10	10271	14233	+	Proteína D interior de la cápside	99%	0	99.24
11	14279	15949	+	Proteína de las fibras de la cola	98%	0	89.86
12	15990	16193	+	Holina clase II	98%	3.00E-40	100
13	16197	16463	+	Proteína A de empaquetamiento del ADN	98%	2.00E-56	100
14	16541	17005	+	Endopeptidasa putativa	99%	4.00E-101	100
15	16980	18473	+	Terminasa subunidad grande	99%	0	99.83
16	20354	20812	+	s-adenosil-l-metionina hidrolasa	99%	6.00E-110	99.34
17	21227	21412	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-29	86.89
18	21409	21606	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-39	98.46
19	21778	22887	+	Proteína quinasa	99%	0	97.83
20	22958	25612	+	ARN polimerasa	99%	0	99.55
21	25699	25971	+	Proteína del gen 1.05	98%	1.00E-59	98.89
22	26064	26204	+	Proteína hipotética	97%	7.00E-24	100
23	26204	26479	+	Proteína del gen 1.2	98%	1.00E-60	96.7
24	26559	27620	+	ADN ligasa	99%	0	98.87
25	27790	28047	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-54	96.47
26	28047	28538	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-118	98.77
27	28525	28662	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-11	95.56
28	28659	28895	+	Inhibidor de la ARN polimerasa del hospedero	98%	8.00E-51	97.44
29	28947	29645	+	Proteína de unión a ADN monocatenario	90%	4.00E-141	99.53
30	29645	30106	+	Endonucleasa	99%	2.00E-97	99.35
31	30099	30554	+	N-acetilmuramoi-L-alanina amidasa	99%	1.00E-109	100
32	30767	30922	+	Primasa/Helicasa	98%	4.00E-28	100
33	30919	32433	+	Proteína primasa/helicasa	99%	0	100

34	32533	32745	+	Proteína 4.3	98%	6.00E-30	98.57
35	32756	33040	+	Proteína 4.5	98%	3.00E-63	100
36	33108	35222	+	ADN polimerasa	99%	0	99.43
37	35292	35540	-	Proteína 5.3	100%	2.00E-54	100
38	35542	35847	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-67	100
39	35844	36053	+	Proteína 5.7	98%	2.00E-42	100
40	36050	36232	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-35	100
41	36229	37143	+	Exonucleasa	99%	0	99.67
42	37122	37235	+	Proteína hipotética	97%	5.00E-16	97.30
43	37379	37573	+	Proteína del gen 6.5	98%	4.00E-38	100
44	37578	37829	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-23	100
45	37856	38176	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-16	99.06
46	38187	38762	+	Cuello/Proteína de unión cabeza a cola	100%	9.00E-137	100

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.

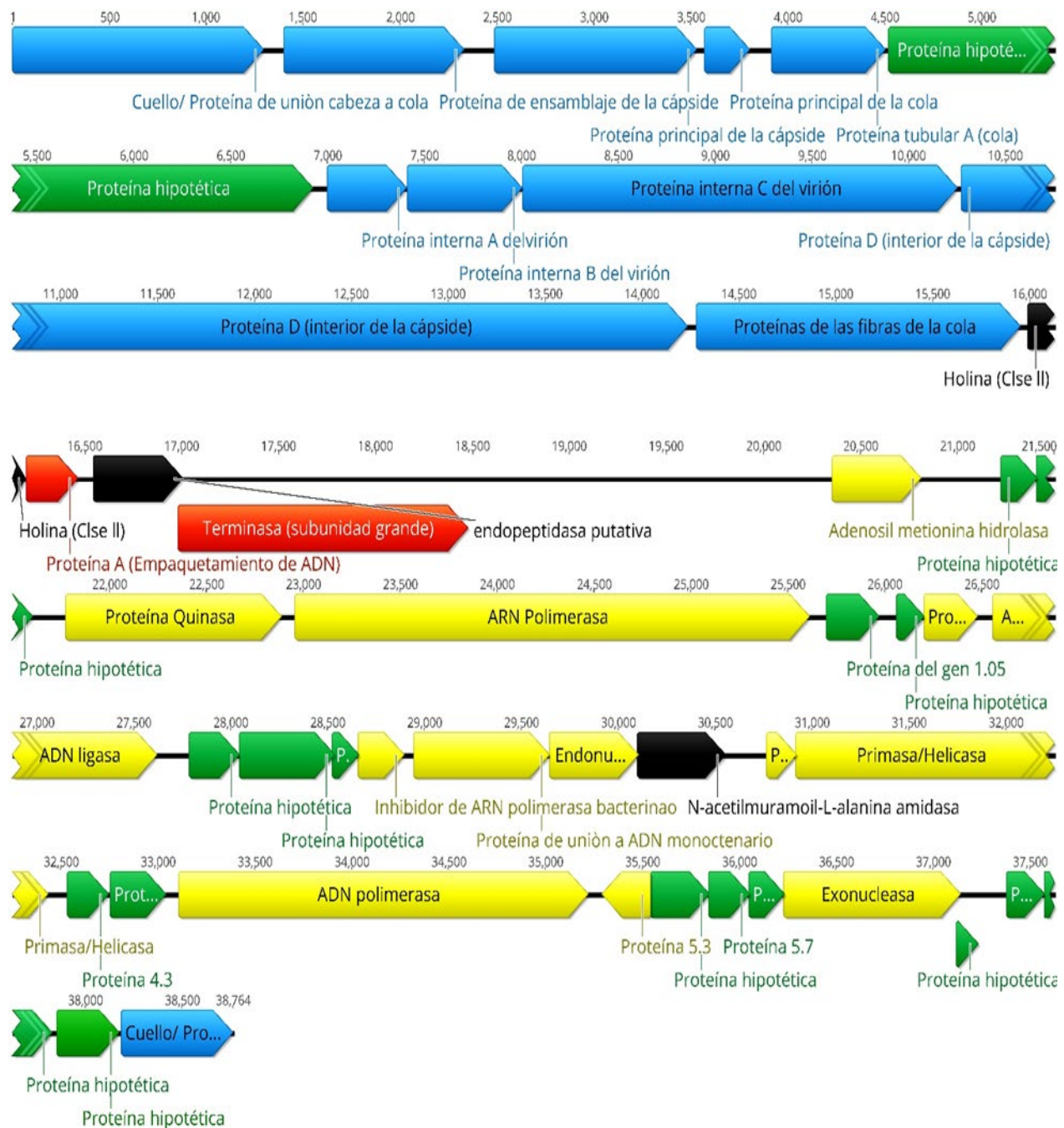


Figura 14. Diagrama del genoma del bacteriófago F1M1C. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras) y proteínas hipotéticas (flechas verdes).

6.3.2 Características Genómicas del Bacteriófago F2M1C

El genoma del bacteriófago F2M1C consiste en ADN de doble cadena compuesto por 39, 615 pb con un contenido de GC del 50.70%, como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 47 ORFs, 46 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 1 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 9**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F2M1C reveló que carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; por otro lado, este bacteriófago sigue el ciclo lítico de replicación e infecta a bacterias Gram negativas, por lo que tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F2M1C presenta una alta similitud (95.93%) con la secuencia del bacteriófago *Yersinia* phage phiYe-F10 (NCBI: KT008108.1), un fago con actividad lítica sobre *Yersinia enterocolitica*, que pertenece a la familia *Podoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F2M1C posea una estructura icosaédrica y un tallo corto típico de la familia *Podoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 33 ORFs (70.2%) son putativamente funcionales; mientras que los 14 ORFs (29.8%) restantes fueron catalogados como proteínas hipotéticas, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 15**).

Cuadro 7. Características de los genes del bacteriófago F2M1C y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F2M1C							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	3	1427	+	Cuello/proteína de unión cabeza a cola	99%	0	99.58
2	1468	2460	+	Proteína de ensamblaje de la cápside	93%	0	98.71
3	2617	3660	+	Proteína 10A principal de la cápside	94%	0	99.39
4	3699	3932	+	Proteína principal de la cola	98%	4.00E-43	100
5	4045	4635	+	Proteína A tubular de la cola	99%	2.00E-142	99.49
6	4651	7056	+	Proteína B tubular de la cola	99%	0	98.75
7	7130	7540	+	Proteína A del interior del virión	99%	6.00E-97	100
8	7543	8136	+	Proteína B del interior del virión	99%	1.00E-138	99.49
9	8139	10382	+	Proteína C del interior del virión	99%	0	98.93
10	10401	14363	+	Proteína D interior de la cápside	99%	0	98.64
11	14411	16042	+	Proteína de las fibras de la cola	98%	8.00E-144	52.82
12	16029	16439	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-26	52.34
13	16480	16683	+	Holina de clase II	98%	3.00E-40	100
14	16687	16953	+	Proteína A de empaquetamiento de ADN	98%	2.00E-56	100
15	17031	17495	+	Endopeptidasa putativa	99%	4.00E-101	100
16	17470	19233	+	Terminasa subunidad grande	99%	0	99.83
17	20883	21341	+	s-adenosil-l-metionina hidrolasa	99%	6.00E-110	99.34
18	21756	21941	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-29	86.89
19	21938	22135	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-39	100
20	22307	23416	+	Proteína quinasa	99%	0	95.39
21	23487	26141	+	ARN polimerasa	99%	0	99.43
22	26228	26500	+	Proteína del gen 1.05	98%	1.00E-59	98.89
23	26592	26732	+	Proteína hipotética	97%	7.00E-24	100
24	26732	27007	+	Proteína del gen 1.2	98%	1.00E-60	96.7
25	27087	28148	+	ADN ligasa	99%	0	98.3
26	28318	28575	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-54	100
27	28575	29054	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-112	95.6
28	29041	29178	+	Proteína hipotética	84%	3.00E-11	79.49
29	29175	29411	+	Inhibidor de la ARN polimerasa del huésped	98%	9.00E-52	100

30	29464	30162	+	Proteína de unión a ADN monocatenario	90%	4.00E-141	99.53
31	30159	30614	+	HNH Endonucleasa	99%	3.00E-94	98.68
32	30578	31027	+	Endonucleasa I	99%	1.00E-103	100
33	31028	31483	+	Endolisina	99%	1.00E-109	100
34	31697	31852	+	Primasa/helicasa	98%	4.00E-28	100
35	31849	33363	+	Proteína primasa/helicasa	99%	0	99.21
36	33459	33671	+	Proteína 4.3	98%	5.00E-30	100
37	33684	33968	+	Proteína 4.5	98%	9.00E-63	98.94
38	34036	36150	+	ADN polimerasa	99%	0	99.72
39	36220	36468	-	HNH Endonucleasa	100%	2.00E-54	100
40	36470	36772	+	Proteína de unión HNS	99%	6.00E-67	100
41	36772	36981	+	Proteína 5.7	98%	2.00E-42	100
42	36978	37160	+	Inhibidor de recBCD nucleasa del hospedero	98%	2.00E-35	100
43	37157	38071	+	Exonucleasa	99%	0	99.01
44	38308	38502	+	Proteína del gen 6.5	98%	4.00E-38	100
45	38507	38758	+	Proteína 6.7	98%	8.00E-24	97.59
46	38786	39106	+	Proteína de ensamblaje de la cola	34%	1.00E-04	100
47	39117	39614	+	Proteína de unión cabeza a cola	100%	2.00E-115	99.4

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.



Figura 15. Diagrama del genoma del bacteriófago F2M1C. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras) y proteínas hipotéticas (flechas verdes)

6.3.3 Características Genómicas del Bacteriófago F5M1C

El genoma del bacteriófago F5M1C consiste en ADN de doble cadena compuesto por 69,388 pb con un contenido de GC del 50.20% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 102 ORFs, 93 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 9 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 10**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F5M1C reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por otro lado, en la búsqueda de factores de virulencia, se encontró que el bacteriófago F5M1C contiene el gen *IroB* el cual codifica para la proteína glucosiltransferasa. La glucosiltransferasa participa en la glucosilación de la enterobactina, un sideróforo que ayuda a la captación de hierro (necesario para la reproducción del patógeno) y a la evasión del sistema inmune innato del hospedero, por lo tanto, el bacteriófago F5M1C no puede ser utilizado como agente de control biológico debido a que existe el riesgo de que su bacteria hospedera se vuelva más virulenta al adquirir dicho gen (Foshag et al., 2014). El genoma del bacteriófago F5M1C presenta una alta similitud (95.93%) con la secuencia del bacteriófago *Serratia* phage 2050H2 (NCBI: MF285620.1), un fago con actividad lítica sobre *Serratia marcescens*, que pertenece a la familia *Podoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F5M1C posea una estructura icosaédrica y un tallo corto típico de la familia *Podoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 72 ORFs (70.6%) son putativamente funcionales; además 22 ORFs (27.5%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 2 ORFs (1.9%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo

(flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (figura 16).

Cuadro 8. Características de los genes del bacteriófago F5M1C y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F5M1C							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	2	88	+	Proteína de ensamblaje de la cápside	96%	9.00E-10	100
2	245	1282	+	Proteína principal de la cápside	93%	0	99.08
3	1300	1389	+	Proteína secundaria de la cápside	60%	2.50E-01	88.89
4	1470	2060	+	Proteína tubular A de la cola	99%	2.00E-142	99.49
5	2076	4481	+	Proteína de las fibras de la cola	99%	0	98.25
6	4554	4964	+	Proteína A interior de la cápside	99%	6.00E-94	97.79
7	4967	5560	+	Proteína B del interior del virión	99%	1.00E-126	98.98
8	5563	7806	+	Proteína C del interior del virión	99%	0	96.52
9	7829	11797	+	Proteína D del interior del virión	99%	0	97.20
10	11869	13578	+	Proteína de las fibras de la cola	87%	6.00E-152	55.30
11	13590	14000	+	Proteína de unión a ADN monocatenario	99%	9.00E-12	34.48
12	14041	14244	+	Holina de clase II	98%	3.00E-40	100
13	14248	14514	+	Proteína de empaquetamiento de ADN	98%	2.00E-56	100
14	14658	15056	+	Proteína de lisis Rz	99%	7.00E-83	98.48
15	15031	16794	+	Proteína B de empaquetamiento	99%	0	99.66
16	17037	17186	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-25	100
17	17874	18056	+	Proteína 4.5	98%	2.00E-36	100
18	18124	21741	+	ADN polimerasa	50%	0	99.51
19	21743	23239	+	Proteína C del interior del virión	99%	0	99.2
20	23258	24949	+	Hidrolasa del peptidoglicano	98%	0	98.56
21	24946	26544	+	Proteína D del interior de la cápside	99%	0	98.88
22	26602	27045	+	Exonucleasa	99%	5.00E-102	99.32
23	27027	27140	+	Proteína 6.3	97%	6.00E-16	100
24	27284	27478	+	Proteína del gen 6.5	98%	4.00E-38	100
25	27483	27734	+	Proteína del gen 6.7	98%	1.00E-24	95.18
26	27761	28081	+	Proteína de ensamblaje de la cola	34%	0.002	100
27	28092	29699	+	Proteína de unión cabeza a cola	99%	0	99.25
28	29801	30733	+	Proteína de ensamblaje de la cápside	99%	0	97.42
29	30812	32260	+	Helicasa dependiente de ATP	100%	0	90.43
30	32211	33569	+	Proteína de las fibras de la cola	62%	8.00E-76	49.31
31	33921	34979	+	Exodeoxiribonucleasa VIII	99%	0	80.11

32	35001	37049	+	Proteína de las fibras de la cola	100%	0	81.05
33	37034	37501	-	Proteína de unión a ADN monocatenario	100%	2.00E-87	99.3
34	37554	37790	-	Inhibidor de la ARN polimerasa del hospedero	98%	9.00E-52	100
35	37787	37924	-	Proteína hipotética	84%	3.00E-11	79.49
36	37911	38390	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-112	95.6
37	38390	38479	-	Proteína hipotética	96%	4.00E-12	100
38	38522	38629	+	Proteína 3.7	97%	4.00E-16	100
39	38884	39336	+	Helicasa	99%	7.00E-76	100
40	39314	40114	+	Proteína primasa/helicasa	100%	4.00E-173	99.17
41	40093	41676	+	ARN polimerasa	100%	0	100
42	41846	42103	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-54	100
43	42144	42896	+	Proteína de ensamblaje la punta de la cola	95%	2.00E-152	80.88
44	42893	43288	+	Proteína kinasa	99%	7.00E-61	92.25
45	43359	44141	+	ARN polimerasa	100%	4.00E-162	98.83
46	44143	44892	+	Putativa fosfoesterasa	99%	1.00E-166	94.09
47	44892	45059	+	Proteína hipotética	94%	3.00E-14	58.49
48	45119	45856	+	ARN polimerasa	100%	3.00E-171	100
49	45853	46566	+	Proteína de ensamblaje de la cola	97%	3.00E-155	84.75
50	46566	47168	+	Proteína de ensamblaje de la cola	97%	5.00E-111	86.22
51	47309	47395	+	No Significancia			
52	47429	47569	+	Proteína hipotética	97%	7.00E-24	100
53	47569	47844	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-60	97.8
54	47940	48626	+	ADN ligasa	99%	1.00E-160	96.93
55	48623	49345	+	Exonucleasa	100%	2.00E-173	100
56	49381	50043	+	Helicasa dependiente de ATP	99%	8.00E-155	89.74
57	50046	50972	+	ARN polimerasa dirigido por ADN	73%	3.00E-148	100
58	51092	51262	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-30	96.43
59	51277	51942	+	Proteína kinasa	100%	8.00E-148	95.22
60	51978	52463	+	Putativa proteína de recombinación	98%	1.00E-88	82.01
61	52506	52826	+	Proteína de unión a ADN monocatenario	100%	5.00E-52	76.7
62	52853	52942	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-21	100
63	52942	53433	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-113	96.32
64	53420	53566	+	Proteína hipotética	97%	6.00E-19	91.67
65	53553	54068	+	Proteína de unión a ADN monocatenario	83%	8.00E-69	100
66	54065	54520	+	HNH Endonucleasa	99%	3.00E-94	98.68
67	54484	54933	+	Endonucleasa I	99%	1.00E-103	100
68	54934	55230	+	Endolisina	100%	2.00E-55	100
69	55238	55678	+	Proteína primasa/helicasa	99%	2.00E-96	99.38
70	55774	55986	+	Proteína 4.3	98%	5.00E-30	100

71	55999	56235	+	Proteína 4.5	100%	3.00E-48	100
72	56235	56348	+	Holina	97%	3.00E-15	80
73	56351	56833	+	Lisozima	100%	2.00E-72	79.75
74	57304	57762	+	s-adenosil-l-metionina hidrolasa	99%	2.00E-109	98.03
75	58204	58362	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-28	98.08
76	58359	58556	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-39	100
77	58543	58698	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-26	96.08
78	58820	59290	+	Endonucleasa homing	99%	2.00E-112	98.72
79	59448	59891	+	Putativo regulador transcripcional	96%	1.00E-75	83.67
80	60127	60345	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-44	100
81	61505	61840	+	Proteína de control longitudinal de la cola	95%	5.00E-33	68.27
82	61833	62186	+	Proteína secundaria de la cola	98%	3.00E-47	66.38
83	62304	62459	+	Proteína hipotética	96%	4.00E-20	76
84	62446	62655	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-30	73.24
85	62655	62843	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-05	43.55
86	62843	63028	+	Proteína hipotética	72%	0.25	35.56
87	63018	63368	+	No Significancia			
88	63505	63954	+	ADN polimerasa	99%	2.00E-80	99.28
89	64024	64272	-	HNH Endonucleasa	100%	2.00E-54	100
90	64274	64576	+	Proteína de unión HNS	99%	6.00E-67	100
91	64576	64785	+	Putativa proteína de fusión 5.5-5.7	98%	2.00E-42	100
92	64782	64964	+	Inhibidor de la nucleasa recBCD del hospedero	98%	2.00E-35	100
93	64961	65368	+	Exonucleasa	100%	4.00E-87	99.23
94	65478	65618	+	ADN primasa	98%	1.00E-48	86.36
95	65720	66103	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	100%	6.00E-52	67.21
96	66847	67032	-	MULTISPECIES: Proteína de unión al ARN de la familia Rop	98%	4.00E-23	100
97	67398	67625	-	MULTISPECIES: YgdI/YgdR lipoproteína familiar	98%	3.00E-35	98.67
98	67733	68032	+	Proteína de unión HNS	97%	2.00E-64	96.97
99	68032	68148	+	Helicasa, C-terminal	58%	0.12	56.52
100	68148	68357	+	Proteína de unión HNS	98%	2.00E-42	98.55
101	68354	68674	+	S-adenosil-L-metionina hidrolasa	98%	2.00E-33	98.21
102	68735	69031	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-58	94.68

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.

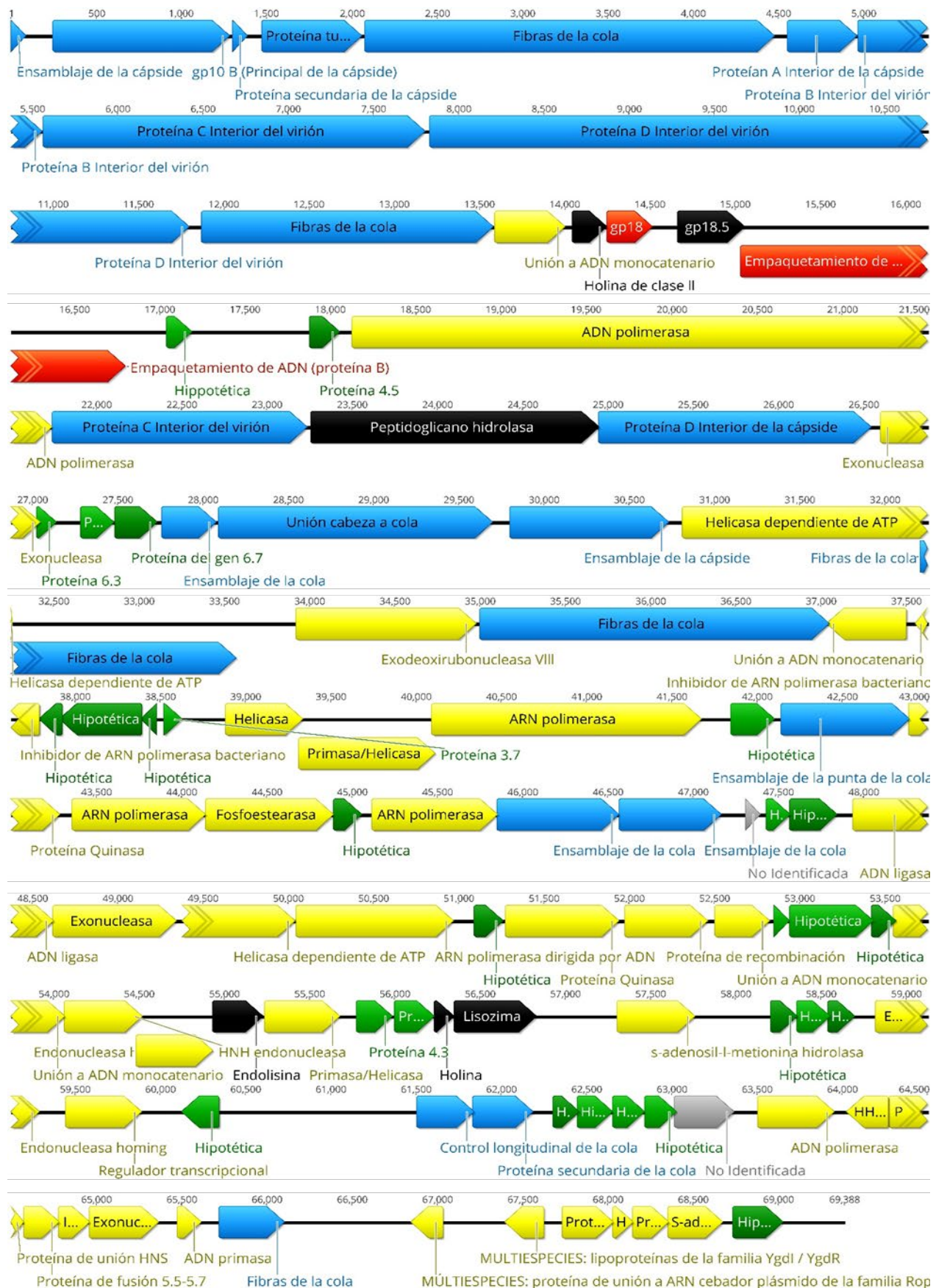


Figura 16. Diagrama del genoma del bacteriófago F5M1C. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.4 Características Genómicas del Bacteriófago F1M1D

El genoma del bacteriófago F1M1D consiste en ADN de doble cadena compuesto por 105,727 pb con un contenido de GC del 50.70% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 150 ORFs, 85 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 65 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 11**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F1M1D reveló que carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por lo tanto, el bacteriófago tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F1M1D presenta una alta similitud (95.69%) con la secuencia del bacteriófago *Klebsiella* phage GH-K3 (NCBI: MH844531.1), un fago con actividad lítica sobre *Klebsiella pneumoniae*, que pertenece a la familia *Siphoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F1M1D posea una estructura icosaédrica y una cola larga no contráctil típica de la familia *Siphoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 58 ORFs (38.7%) son putativamente funcionales; además 86 ORFs (57.4%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 2 ORFs (3.9%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra

organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (figura 17).

Cuadro 9. Características de los genes del bacteriófago F1M1D y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F1M1D							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	1488	1658	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-21	65.15
2	1660	3228	+	Proteína portal	98%	0	74.85
3	3228	4079	+	Proteína hipotética	77%	3.00E-69	59.01
4	4155	5246	+	Cápside y andamiaje	98%	0.00E+00	75.62
5	5398	6123	+	Proteína de las fibras de la cola	97%	2.00E-113	66.53
6	6123	8507	+	Proteína de las fibras de la cola	99%	0	64.38
7	8507	9175	+	Proteína interna del virión	73%	2.00E-45	73.17
8	9176	12112	+	Base	99%	0.00E+00	65.2
9	12155	15994	+	Proteína hipotética	98%	0	76.75
10	15994	16980	+	Proteína de la cola/proteína adaptadora	97%	9.00E-112	54.88
11	16989	17177	+	Holina	79%	7.00E-18	74
12	17167	17466	+	Terminasa subunidad pequeña	94%	3.00E-38	69.15
13	17466	19364	+	Terminasa subunidad grande	99%	0.00E+00	87.18
14	19513	19779	+	acetil-CoA acetiltransferasa	97%	5.00E-13	41.3
15	19793	20059	+	Proteína hipotética	93%	5.00E-13	50
16	20070	20606	+	Proteína de la cola	47%	1.00E-14	61.18
17	20619	20966	+	Peptidasa_M15_3	97%	5.00E-64	81.58
18	20959	21075	+	Proteína hipotética	76%	7.00E-04	53.33
19	21072	21218	+	MULTIESPECIES: transportador	48%	8.5	66.67
20	21211	21429	+	Proteína hipotética	93%	3.00E-10	39.71
21	21416	21502	+	Proteína hipotética	86%	1.00E-05	84
22	21627	23417	+	Proteína putativa de las fibras de la cola	93%	3.00E-75	34.98
23	23504	25450	+	Proteína hipotética	99%	0.00E+00	92.9
24	26617	26823	+	No Significancia			
25	26926	27078	+	Proteína hipotética	98%	2.30E-02	39.22
26	27075	27275	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-27	89.39
27	27583	27918	+	Proteína hipotética	91%	3.00E-63	90.29
28	28123	29025	+	Proteína hipotética	93%	5.00E-79	50.18

29	29087	29431	+	Proteína hipotética	39%	2.00E-04	51.11
30	29433	32069	+	ARN polimerasa	99%	0.00E+00	71.7
31	32318	32497	+	Proteína hipotética	51%	6.30E+00	54.55
32	32494	32628	+	Zona pellucida sperm-union proteína 4	51%	7.00E+00	47.83
33	32651	34618	+	ADN primasa	97%	0	79.56
34	34682	35410	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-42	44.53
35	35407	35634	+	No Significancia			
36	35627	35839	+	Proteína hipotética	97%	4.00E-15	52.17
37	35905	36000	+	No Significancia			
38	35990	38530	+	gp14 ADN polimerasa A	99%	0.00E+00	82.41
39	38541	38762	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-17	47.95
40	38834	39367	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-69	58.19
41	39419	39796	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-16	38.21
42	39946	40752	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-99	60.66
43	40752	40967	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-02	33.33
44	41266	41637	+	Proteína hipotética	78%	1.00E-48	79.38
45	41716	42162	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-56	64.71
46	42437	43471	+	Similar a exonucleasa	99%	2.00E-176	67.93
47	43456	43857	+	Endonucleasa	97%	9.00E-67	73.28
48	43858	44865	+	Proteína fosfatasa 2a	99%	0	79.4
49	44941	45339	+	Proteína hipotética	70%	2.00E-31	57.45
50	45336	45530	+	No Significancia			
51	45527	46486	+	ADN ligasa	99%	5.00E-162	71.7
52	46479	46667	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-25	84.48
53	46645	46827	+	Proteína hipotética	81%	2.00E-12	58
54	46824	47285	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-68	66.01
55	47415	49346	-	Proteína de las fibras de la cola	95%	0	98.21
56	49434	50036	-	Proteína de ensamblaje de la cola	99%	9.00E-110	99.5
57	50011	50748	-	Proteína putativa de ensamblaje de la cola	99%	0	100
58	50750	51502	-	Proteína secundaria de la cola	99%	0	99.2
59	51572	51916	-	Proteína secundaria de la cola	99%	2.00E-76	98.25
60	51919	54885	-	Proteína de control longitudinal de la cola	99%	0	98.79
61	54922	55065	-	Proteína hipotética	97%	7.00E-25	100
62	55236	55562	-	Ensamblaje de la cola	99%	9.00E-76	100
63	55639	56295	-	Proteína principal de la cola	99%	2.00E-158	97.25
64	56389	56820	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-100	98.6
65	56810	57247	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-103	100
66	57240	57617	-	Proteína hipotética	99%	4.00E-82	99.2
67	57614	58147	-	Proteína hipotética	99%	7.00E-108	97.18

68	58201	58497	-	Proteína hipotética	78%	1.00E-35	94.87
69	58590	59549	-	Proteína MCP	99%	0	99.37
70	59663	60172	-	Proteína hipotética	92%	7.00E-108	98.1
71	60224	61357	-	Proteína de la cápside	99%	0	99.47
72	61354	62121	-	Proteína de morfogénesis de la cabeza	99%	0	98.82
73	62111	63421	-	Proteína portal	99%	0	99.31
74	63467	65068	-	Terminasa subunidad grande	99%	0	99.81
75	65078	65602	-	Putativa terminasa subunidad pequeña	99%	7.00E-125	99.43
76	65682	65945	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-55	94.25
77	65945	66130	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-36	93.44
78	66262	66495	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-48	96.1
79	66483	66719	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-49	97.44
80	66769	67365	-	Proteína putativa EaA	89%	1.00E-115	97.19
81	67362	67574	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-41	97.14
82	67686	67877	-	Proteína hipotética	71%	1.00E-25	97.83
83	67943	68266	-	Proteína hipotética	99%	4.00E-58	96.26
84	68341	68829	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-110	95.06
85	68829	69047	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-43	98.61
86	69127	69297	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-31	100
87	69294	69539	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-54	97.53
88	69539	69841	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-58	86
89	69851	70222	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-83	97.56
90	70296	70493	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-38	100
91	70490	70744	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-49	88.1
92	70757	70921	-	Proteína hipotética	83%	6.00E-11	72.34
93	70934	71146	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-41	94.29
94	71215	71439	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-48	98.65
95	71499	71678	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-33	100
96	71738	71959	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-46	95.89
97	71949	72101	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-27	96
98	72173	72751	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-127	93.68
99	73415	73696	+	Proteína hipotética	84%	2.00E-51	98.73
100	73769	73963	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-36	98.44
101	73960	74199	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	100
102	74199	74582	+	Proteína hipotética	96%	8.00E-86	99.19
103	74582	75274	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-82	55.36
104	75347	75574	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-45	94.67
105	75571	75897	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-71	97.22
106	76336	76539	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-38	97.01
107	76536	76718	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.67

108	76719	77156	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-99	98.62
109	77281	78849	+	Proteína hipotética	99%	0	99.23
110	78853	79314	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-110	98.69
111	79384	79809	-	u-espanina	99%	6.00E-84	100
112	79806	80288	-	Endolisina	99%	3.00E-106	100
113	80290	80505	-	Holina	98%	2.00E-40	98.59
114	80632	81213	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-130	98.45
115	81210	81698	-	polinucleótido kinasa	99%	1.00E-113	98.77
116	81736	82866	-	Proteína hipotética	99%	0	99.73
117	82962	83213	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-53	100
118	83210	83446	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	97.44
119	83511	83747	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-48	97.44
120	83751	84482	-	ADN N-6-adenina-metiltransferasa	99%	2.00E-178	98.35
121	84485	84763	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-59	97.83
122	84837	85244	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-79	98.52
123	85241	87277	-	Helicasa dependiente de ATP	99%	0	99.11
124	87369	87770	+	Regulador transcripcional putativo	99%	8.00E-93	100
125	87846	88805	+	Putativa ADN primasa	99%	0	98.12
126	89301	90347	+	Exodeoxiribonucleasa VIII	99%	0	97.99
127	90407	91063	+	Proteína de recombinación	99%	1.00E-136	100
128	91100	91561	+	Putativa proteína de unión a ADN monocatenario	99%	3.00E-83	99.35
129	91655	95080	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	99%	0	95.44
130	95220	95378	-	No Significancia			
131	95560	97722	-	Putativa proteína de las fibras de la cola	99%	0	98.02
132	97708	98913	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	69%	2.00E-75	49.65
133	98969	100171	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	100%	0	82.59
134	100179	101699	+	Proteína de ensamblaje de la cola	98%	6.00E-120	86.81
135	101699	102379	+	Proteína de ensamblaje de la cola	98%	4.00E-111	86.22
136	102336	102902	+	Proteína hipotética	97%	7.00E-71	56.68
137	103003	103419	+	ADN primasa	98%	5.00E-47	86.05
138	103521	103949	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	92%	2.00E-52	66.94
139	103965	104150	-	Proteína hipotética	72%	0.25	35.56
140	104150	104338	-	Proteína hipotética	96%	3.00E-05	43.55
141	104338	104547	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-30	73.24
142	104534	104689	-	Proteína hipotética	96%	4.00E-20	76
143	104774	105025	-	gp02	82%	0.93	31.88

144	105025	105324	-	Proteína hipotética	96%	5.00E-21	49.49
145	105336	105674	+	Helicasa	99%	1.00E-53	77.98
146	105997	106191	+	Proteína hipotética	78%	8.00E-16	68.63
147	106199	106549	+	No Significancia			
148	106686	106850	+	Proteína hipotética	96%	1.00E-12	63.64
149	106853	107095	+	Piruvato, fosfato dikinasa	46%	0.92	42.11
150	107095	107184	+	Putativa polinucleótido kinasa/fosfatasa	93%	0.015	60.71

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.

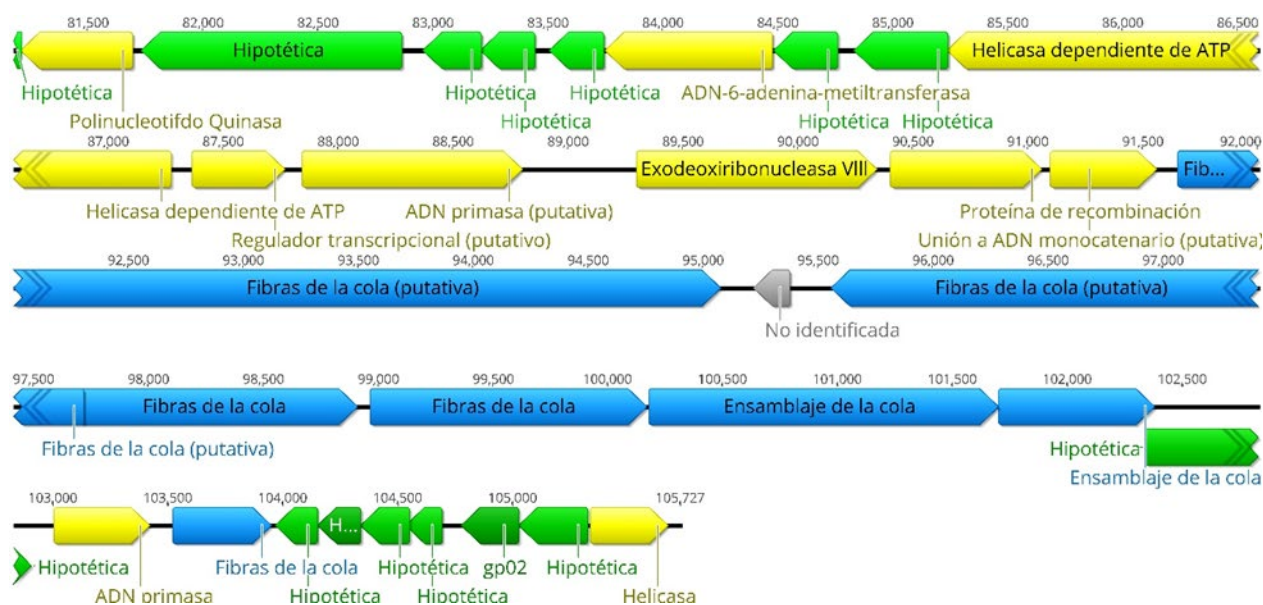


Figura 17. Diagrama del genoma del bacteriófago F1M1D. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.5 Características Genómicas del Bacteriófago F2M1D

El genoma del bacteriófago F2M1D consiste en ADN de doble cadena compuesto por 79,915 pb con un contenido de GC del 50.10% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 128 ORFs, 105 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 23 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 12**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F2M1D reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por lo tanto, el bacteriófago tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del

bacteriófago F2M1D presenta una alta similitud (95.19%) con la secuencia del bacteriófago *Klebsiella* phage TSK1 (NCBI: MH688453.1), un fago con actividad lítica sobre *Klebsiella pneumoniae*, que pertenece a la familia *Siphoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F2M1D posea una estructura icosaédrica y una cola larga no contráctil típica de la familia *Siphoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 50 ORFs (39.1%) son putativamente funcionales; además 73 ORFs (57%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 5 ORFs (3.9%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (figura 18).

Cuadro 10. Características de los genes del bacteriófago F2M1D y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F2M1D							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	3	116	+	No Significancia			
2	170	1129	-	ADN primasa/helicasa	99%	0	97.49
3	1205	1606	-	Regulador transcripcional putativo	99%	8.00E-93	100
4	1698	3743	+	ADN helicasa	99%	0	94.86
5	3743	4150	+	Endonucleasa putativa	99%	2.00E-79	97.78
6	4224	4502	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-60	98.91
7	4505	5236	+	ADN adenina metiltransferasa	99%	0	100
8	5240	5476	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	98.72
9	5541	5777	+	Proteína principal de la cola putativa	98%	2.00E-49	97.44
10	5777	6025	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-50	96.34
11	6121	7251	+	Proteína hipotética	99%	0	100
12	7289	7777	+	Polinucleótido kinasa	99%	1.00E-113	99.38
13	7774	8355	+	Nucleósido trifosfato hidrolasa	99%	2.00E-130	98.96

14	8482	8697	+	Holina	98%	2.00E-41	100
15	8699	9181	+	Endolisina	99%	3.00E-106	100
16	9178	9603	+	U-Espanina	99%	6.00E-84	100
17	9673	10134	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-110	98.69
18	10138	11706	-	Helicasa	99%	0	99.43
19	11832	12269	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-101	100
20	12270	12452	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-35	98.33
21	12449	12652	-	Proteína de membrana putativa	98%	4.00E-38	97.01
22	12725	13417	-	Citosina ADN metilasa	99%	5.00E-168	98.7
23	13420	13665	-	Proteína hipotética	95%	3.00E-38	79.49
24	13681	13908	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-44	92
25	13981	14358	-	Proteína hipotética	99%	7.00E-85	98.4
26	14358	14597	-	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	100
27	14594	14788	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-35	95.31
28	14861	15124	-	Proteína hipotética	98%	8.00E-54	94.25
29	15553	15753	-	Proteína de membrana putativa	25%	1.6	94.12
30	15786	16370	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-129	92.78
31	16442	16594	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-28	98
32	16584	16787	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-43	100
33	16866	16973	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-18	100
34	17043	17267	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	90.54
35	17340	17834	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-94	90.85
36	17904	18116	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-44	100
37	18127	18447	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-70	98.11
38	18534	18791	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-53	96.47
39	18788	18985	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-37	96.92
40	19059	19385	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-73	96.3
41	19382	19684	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-64	93
42	19684	19929	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-53	98.77
43	19926	20111	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-36	100
44	20191	20409	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-43	98.61
45	20409	20897	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-115	98.15
46	20972	21295	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-57	95.33
47	21361	21552	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-32	91.89
48	21664	21876	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-41	97.14
49	21873	22448	+	Proteína EaA putativa	99%	6.00E-129	97.91
50	22518	22754	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-49	97.44
51	22742	22975	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-48	96.1
52	23107	23292	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-36	95.08
53	23292	23555	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-55	94.25

54	23635	24159	+	Putativa terminasa subunidad pequeña	99%	2.00E-126	100
55	24169	25770	+	Terminasa subunidad grande	99%	0	99.62
56	25816	27126	+	Proteína portal	99%	0	99.31
57	27116	27883	+	Proteína de morfogénesis de la cabeza	99%	0	98.04
58	27883	29013	+	Proteína principal de la cápside	99%	0	99.73
59	29065	29568	+	Proteína hipotética	94%	2.00E-104	94.94
60	29681	30640	+	Proteína MCP	99%	0	99.69
61	30732	31028	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-51	95.92
62	31082	31615	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-108	97.18
63	31612	31989	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-81	98.4
64	31982	32419	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-103	100
65	32409	32840	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-90	92.81
66	32934	33590	+	Proteína principal de la cola	99%	2.00E-161	99.54
67	33667	33993	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-76	100
68	34140	34307	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-32	100
69	34344	37310	+	Proteína de control longitudinal de la cola	99%	0	98.68
70	37313	37657	+	Proteína secundaria de la cola	99%	2.00E-75	96.49
71	37727	38479	+	Proteína secundaria de la cola	99%	0	99.2
72	38481	39218	+	Proteína de ensamblaje de la cola	99%	0	98.78
73	39193	39795	+	Proteína de ensamblaje de la cola	99%	4.00E-123	99.5
74	39883	46857	+	Proteína de las fibras de la cola	99%	0	96
75	46888	47127	-	Proteína hipotética	56%	4.00E-07	60
76	47465	48511	+	Exodeoxiribonucleasa VIII putativa	99%	0	98.85
77	48571	49227	+	Proteína de recombinación putativa	99%	3.00E-149	99.54
78	49264	49734	+	Proteína de unión a ADN monocatenario putativa	99%	1.00E-80	86.54
79	49828	52365	+	Proteína putativa de las fibras de la cola	73%	7.00E-118	38.66
80	52701	52991	+	Proteína no caracterizada	96%	4.00E-36	80
81	52988	53224	+	gp72	96%	2.00E-25	57.89
82	53293	54711	+	Proteína hipotética	100%	0	80.52
83	54731	55897	+	Helicasa dependiente de ATP	99%	0	92.87
84	55900	56241	+	Proteína que contiene el dominio VRR-NUC	100%	5.00E-54	90.8
85	56254	57375	+	Putativa fosfoesterasa	99%	0	92.49
86	57375	57542	+	Proteína hipotética	94%	3.00E-14	58.49
87	57690	58748	+	Exodeoxiribonucleasa VIII	99%	0	80.11
88	58935	59930	+	Terminasa subunidad grande	100%	0	90.56
89	59923	62046	+	Proteína portal putativa	97%	0	92.58
90	62022	62816	+	Proteína hipotética	94%	2.00E-71	42.9

91	62837	62986	+	Proteína principal de la cápside	99%	0	93.1
92	62983	63696	+	Proteína putativa secundaria de la cola	98%	3.00E-23	85.19
93	63696	64298	+	Proteína de ensamblaje de la cola	99%	4.00E-155	84.75
94	64439	65101	+	Proteína principal de la cola putativa	99%	1.00E-127	78.64
95	65185	65304	+	No Significancia			
96	65304	65921	+	Proteína hipotética	97%	8.00E-110	75.12
97	65914	66126	+	Proteína hipotética	43%	2.8	45.16
98	66123	66338	+	Proteína hipotética	80%	0.45	37.93
99	66409	66570	+	ADN primasa	57%	0.001	67.74
100	66587	67126	+	ADN primasa	99%	2.00E-125	84.73
101	67228	67674	+	Proteína de las fibras de la cola putativa	87%	5.00E-52	66.94
102	67693	68259	+	Proteína hipotética	97%	7.00E-71	56.68
103	68360	68557	+	Proteína hipotética	80%	7.5	33.96
104	68640	68918	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-56	89.13
105	68912	69103	+	Proteína hipotética	96%	5.00E-22	67.74
106	69212	69733	+	Proteína cinta métrica	97%	8.00E-67	68.82
107	69726	70079	+	Proteína secundaria de la cola	98%	3.00E-47	66.38
108	70324	70461	+	No Significancia			
109	70454	70969	+	Proteína hipotética	85%	3.00E-35	42.95
110	70966	71496	+	Putativa terminasa subunidad pequeña	93%	6.00E-74	64.46
111	71499	71633	+	Terminasa subunidad grande	100%	2.00E-09	93.33
112	71630	72133	+	Proteína de andamiaje	92%	5.00E-45	54.93
113	72216	72452	+	Proteína principal de la cápside	100%	4.00E-34	89.06
114	72475	72951	-	Proteína hipotética	96%	4.00E-74	71.52
115	73011	73463	+	No Significancia			
116	73584	73913	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-39	75
117	73906	74346	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-89	86.3
118	74336	74671	+	Proteína de la cola	100%	6.00E-43	77.08
119	74680	74844	-	Proteína hipotética	96%	1.00E-12	63.64
120	74981	75331	-	No Significancia			
121	75321	75506	-	Proteína hipotética	72%	0.25	35.56
122	75506	75694	-	Proteína hipotética	96%	3.00E-05	43.55
123	75694	75864	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-24	73.21
124	75890	76045	-	Proteína hipotética	96%	4.00E-20	76
125	76130	76381	-	gp02	82%	0.93	31.88
126	76372	76854	+	Proteína de recombinación putativa	99%	1.00E-51	88.33
127	76897	77292	+	Proteína de unión a ADN monocatenario putativa	83%	2.00E-53	77.14
128	77472	77744	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-48	83.33

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.

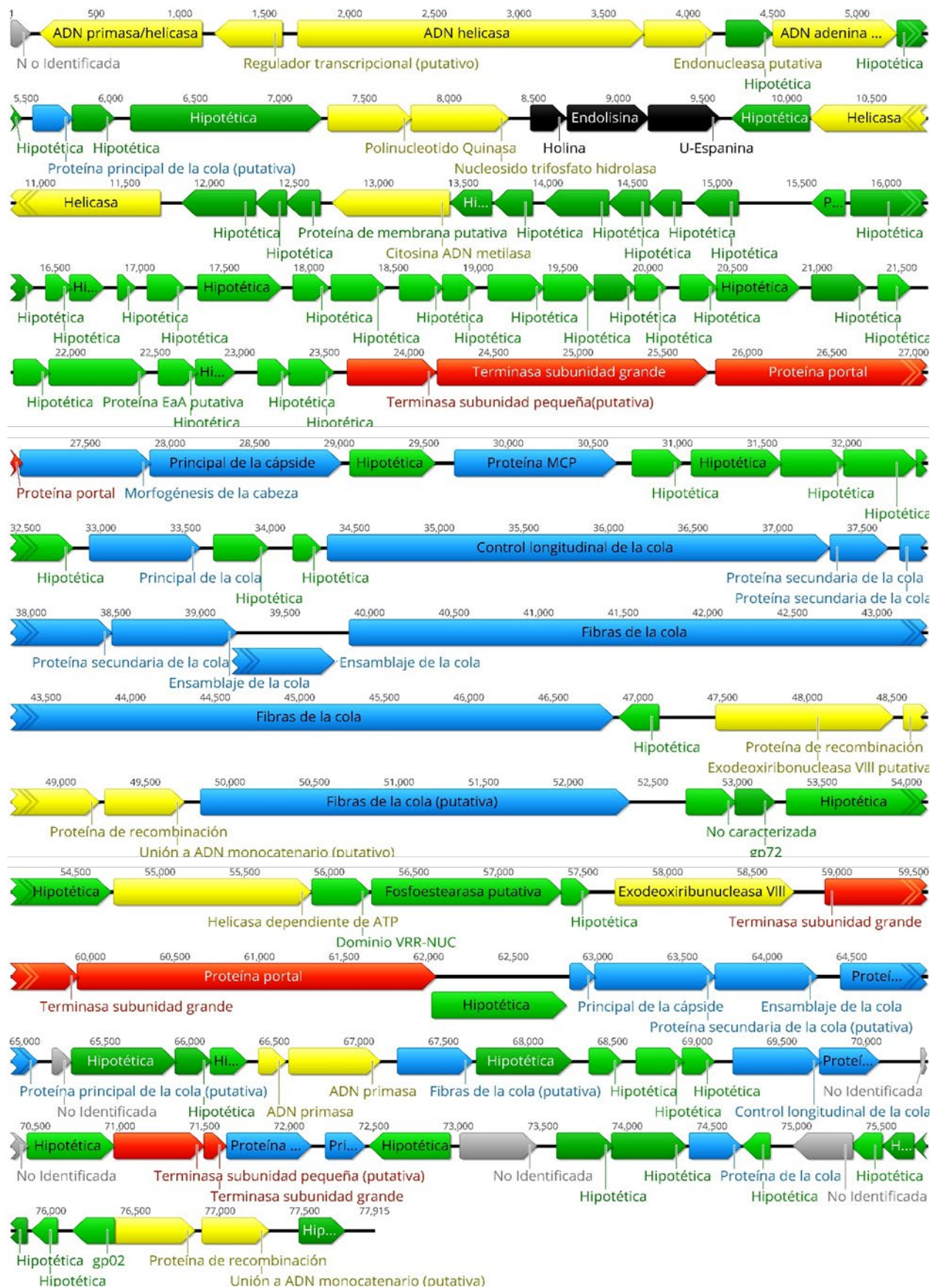


Figura 18. Diagrama del genoma del bacteriófago F2M1D. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.6 Características Genómicas del Bacteriófago F4M1D

El genoma del bacteriófago F4M1D consiste en ADN de doble cadena compuesto por 88,714 pb con un contenido de GC del 51.10% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 140 ORFs, 120 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 20 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 13**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F4M1D reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por lo tanto, el bacteriófago tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F4M1D presenta una alta similitud (95.02%) con la secuencia del bacteriófago *Klebsiella* phage vB KpnS KpV522 (NCBI: KX237515.1), un fago con actividad lítica sobre *Klebsiella pneumoniae*, que pertenece a la familia *Siphoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F4M1D posea una estructura icosaédrica y una cola larga no contráctil típica de la familia *Siphoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 60 ORFs (42.85%) son putativamente funcionales; además 76 ORFs (54.3%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 4 ORFs (2.85%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra

organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (figura 19).

Cuadro 11. Características de los genes del bacteriófago F4M1D y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F4M1D							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	1	144	+	Proteína hipotética	93%	8.00E-17	84.44
2	155	304	+	Proteína hipotética	96%	4.00E-12	58.33
3	301	762	+	Putativa N-acetiltransferasa	99%	5.00E-68	66.01
4	771	977	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-23	66.18
5	979	2547	+	Cuello	98%	0	74.07
6	2547	3398	+	Proteína de andamiaje	78%	1.00E-68	58.22
7	3474	4565	+	Cápside y andamiaje	98%	0	75.62
8	4717	5442	+	Proteína de las fibras de la cola	97%	2.00E-113	66.53
9	5442	7826	+	Proteína de las fibras de la cola	99%	0	64.38
10	7826	8494	+	Proteína interna del virión	73%	2.00E-45	73.17
11	8495	11431	+	Base	99%	0	65.2
12	11501	15313	+	Proteína interna del virión	98%	0	76.44
13	15313	16299	+	Proteína de la cola/adaptador	97%	9.00E-112	54.88
14	16308	16496	+	Holina	79%	7.00E-18	74
15	16486	16785	+	Terminasa subunidad pequeña	94%	3.00E-38	69.15
16	16785	18683	+	Terminasa subunidad grande	99%	0	87.18
17	18832	19098	+	acetil-CoA acetiltransferasa	97%	5.00E-13	41.3
18	19112	19378	+	Proteína hipotética	93%	5.00E-13	50
19	19389	19925	+	Proteína de la cola	47%	1.00E-14	61.18
20	19938	20285	+	Peptidasa	97%	5.00E-64	81.58
21	20278	20394	+	Proteína hipotética	76%	7.00E-04	53.33
22	20391	20537	+	MULTIESPECIES: transportador	48%	8.5	66.67
23	20530	20748	+	Proteína hipotética	93%	3.00E-10	39.71
24	20735	20821	+	Proteína hipotética	86%	1.00E-05	84
25	20946	22736	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	93%	3.00E-76	35.16
26	22823	24769	+	Proteína hipotética	99%	0	92.9
27	25936	26142	+	No Significancia			
28	26245	26397	+	Proteína hipotética	98%	0.023	39.22
29	26394	26594	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-27	89.39

30	26902	27237	+	Proteína hipotética	91%	3.00E-63	90.29
31	27442	28344	+	Proteína hipotética	93%	5.00E-79	50.18
32	28406	28750	+	Proteína hipotética	39%	2.00E-04	51.11
33	28752	31388	+	ARN polimerasa	99%	0	71.7
34	31637	31816	+	Proteína hipotética	51%	6.3	54.55
35	31813	31947	+	Zona pellucida sperm-union	51%	7	47.83
36	31970	33937	+	ADN primasa	97%	0	79.56
37	34001	34729	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-42	44.53
38	34726	34953	+	No Significancia			
39	34946	35158	+	Proteína hipotética	97%	4.00E-15	52.17
40	35224	35319	+	No Significancia			
41	35309	37849	+	Putativa ADN polimerasa	99%	0	82.29
42	37860	38081	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-17	47.95
43	38153	38686	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-67	57.63
44	38738	39115	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-16	38.21
45	39265	40071	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-99	60.66
46	40071	40286	+	Proteína hipotética	98%	0.02	33.33
47	40585	40956	+	Proteína hipotética	78%	1.00E-48	79.38
48	41035	41481	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-56	64.71
49	41756	42790	+	Exonucleasa	99%	6.00E-176	67.64
50	42775	43176	+	Endonucleasa	97%	9.00E-67	73.28
51	43177	44184	+	Proteína fosfatasa 2	99%	0	79.4
52	44260	44658	+	Proteína hipotética	70%	2.00E-31	57.45
53	44655	44849	+	No Significancia			
54	44846	45805	+	ADN ligasa	99%	5.00E-162	71.7
55	45798	45986	+	Proteína hipotética	94%	5.00E-23	85.19
56	46170	48326	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	99%	0	95.96
57	48499	49767	+	Proteína de las fibras de la cola	100%	0	98.17
58	49848	50642	+	Proteína que controla la longitud de la cola	100%	0	99.7
59	50704	51588	+	ADN primasa/helicasa	94%	0	97.12
60	51596	52513	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	99%	7.00E-51	38.78
61	52757	55432	+	ADN helicasa	100%	0	58.95%
62	55399	56079	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-161	100
63	56087	56854	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	100%	5.00E-159	97.06
64	56805	57512	+	Terminasa subunidad grande	100%	3.00E-173	100
65	57505	58317	+	Proteína de las fibras de la cola	100%	1.00E-153	98.28
66	58314	58901	+	Proteína principal de la cola	99%	1.00E-159	97.71
67	59120	59845	+	Putativa Exodeoxiribonucleasa VIII	100%	2.00E-156	100
68	59869	60123	+	Proteína que controla la longitud de la cola 1	99%	2.00E-74	99.17

69	60126	60470	+	Proteína secundaria de la cola	99%	2.00E-76	98.25
70	60540	61109	+	ADN helicasa	100%	4.00E-137	99.47
71	61135	61755	+	ADN helicasa	100%	1.00E-143	99.01
72	61780	62382	+	Proteína de ensamblaje de la cola	99%	4.00E-123	99.5
73	62570	63103	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-108	97.18
74	63100	63276	+	Proteína hipotética	100%	1.00E-27	98.11
75	63276	63959	+	Terminasa subunidad grande	100%	7.00E-137	99.49
76	63947	64501	+	Proteína portal	100%	8.00E-136	100
77	64546	65199	+	Proteína de las fibras de la cola	92%	9.00E-82	95.95
78	65343	65837	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-26	86.79
79	65907	66119	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-44	100
80	66130	66450	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-70	98.11
81	66537	66794	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-53	96.47
82	66791	66988	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-37	96.92
83	67159	67668	+	Proteína hipotética	92%	7.00E-108	98.1
84	67782	68384	+	Proteína de recombinación	99%	5.00E-104	100
85	68421	68747	+	Putativa proteína de unión a ADN monocatenario	100%	1.00E-69	99.01
86	68788	69276	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-110	95.06
87	69351	69707	+	Proteína hipotética	100%	2.00E-53	96.04
88	69686	70711	+	Exodeoxiribonucleasa VIII	99%	6.00E-123	98.28
89	70771	71070	+	Recombinasa	100%	8.00E-39	100
90	71030	71266	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-60	100
91	71259	71696	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-103	100
92	71686	71880	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-33	98.33
93	71877	72365	+	Polinucleótido kinasa	99%	1.00E-113	98.77
94	72362	72766	+	nucleósido trifosfato hidrolasa	80%	5.00E-71	96.3
95	72763	72930	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-52	100
96	72934	73395	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-110	98.69
97	73534	73812	+	Proteína hipotética	78%	2.00E-50	98.75
98	73815	74258	+	ADN N-6-adenina-metiltransferasa	100%	2.00E-102	97.26
99	74311	74493	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.67
100	74494	74931	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-99	98.62
101	75425	75820	+	Proteína hipotética	100%	2.00E-77	94.96
102	76122	76400	-	Terminasa subunidad grande	99%	1.00E-83	100
103	76369	76800	-	Putativa ADN helicasa	69%	1.00E-58	99
104	76892	77293	+	Putativo regulador transcripcional	99%	8.00E-93	100
105	77351	77560	-	Putativa citosina ADN metilasa	100%	1.00E-26	98
106	77563	77808	-	Proteína hipotética	95%	3.00E-38	79.49
107	77852	78151	-	Terminasa subunidad pequeña	100%	2.00E-39	100
108	78231	78494	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-55	94.25
109	78494	78679	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-36	93.44
110	78811	79044	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-48	96.1

111	79032	79268	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-49	97.44
112	79302	79535	+	Proteína hipotética	94%	1.00E-26	94.64
113	79607	79759	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-27	96
114	79749	79970	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-46	95.89
115	80024	80209	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-33	100
116	80269	80493	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-48	98.65
117	80562	80774	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-41	94.29
118	80882	81208	+	ADN N-6-adenina-metiltransferasa	99%	2.00E-86	100
119	81212	81448	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	98.72
120	81563	81889	+	Conjunto de cola de fago chaperona	99%	2.00E-85	100
121	82099	82425	+	Proteína hipotética	91%	5.00E-73	96.3
122	82422	82724	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-64	93
123	82724	82969	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-53	98.77
124	82966	83136	+	Proteína hipotética	100%	6.00E-23	100
125	83193	83441	+	Proteína portal	99%	1.00E-69	98.23
126	83431	83718	+	Proteína de morfogénesis de la cápside	100%	3.00E-54	100
127	83791	84018	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-45	94.67
128	84015	84341	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-71	97.22
129	84405	84866	-	Putativa proteína EaA	100%	4.00E-63	97.89
130	84863	85075	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-41	97.14
131	85187	85558	-	Putativa proteína de membrana	71%	1.00E-25	97.83
132	85555	85800	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-54	97.53
133	85800	86102	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-58	86
134	86112	86639	-	Proteína hipotética	100%	8.00E-59	98.89
135	86639	86878	-	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	100
136	86875	87069	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-36	98.44
137	87558	87839	+	Proteína hipotética	84%	2.00E-51	98.73
138	88113	88310	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-38	100
139	88307	88561	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-49	88.1
140	88574	88714	-	Proteína hipotética	97%	7.00E-11	72.34

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.



Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 65 ORFs (43.6%) son putativamente funcionales; además 80 ORFs (53.7%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 4 ORFs (2.7%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 20**).

Cuadro 12. Características de los genes del bacteriófago F5M1D y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F5M1D							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	1	339	+	Putativa proteína de la cápside	96%	1.00E-48	72.48
2	491	1216	+	Proteína tubular A de la cola	89%	6.00E-113	67.23
3	1216	3600	+	Proteína de las fibras de la cola	99%	0	64.63
4	3624	4268	+	Proteína del interior del virión	73%	2.00E-45	72.56
5	4269	7205	+	Base	99%	0	65.41
6	7248	11087	+	Proteína del interior del virión	99%	0	76.1
7	11087	12073	+	Proteína de la cola/proteína adaptadora	96%	2.00E-113	55.52
8	12082	12270	+	Holína	79%	7.00E-18	74
9	12260	12559	+	Terminasa subunidad pequeña	94%	2.00E-37	68.09
10	12559	14457	+	Terminasa subunidad grande	99%	0	87.5
11	14608	14874	+	acetil-CoA acetiltransferasa	97%	4.00E-13	43.48
12	14888	15154	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-13	47.31
13	15165	15701	+	Proteína que contiene el dominio de la inmunoglobulina	48%	3.00E-28	66.29
14	15714	16061	+	Peptidasa	97%	3.00E-62	78.95
15	16054	16176	+	Proteína hipotética	78%	4.00E-04	56.25
16	16173	16319	+	No Significancia			
17	16312	16509	+	Proteína hipotética	63%	6.00E-07	52.27
18	16514	16603	+	Proteína hipotética	96%	5.00E-05	72.41
19	16730	18865	+	Putativa proteína estructural	97%	2.00E-139	38.43
20	18952	19914	+	Proteína hipotética	100%	0	88.27

21	19935	20897	+	Proteína hipotética	99%	0	96.18
22	22024	22233	+	Proteína hipotética	94%	2.00E-20	61.19
23	22338	22553	+	Proteína hipotética	88%	5.00E-19	78.12
24	22550	22705	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-22	90.2
25	22861	23199	+	Proteína hipotética	91%	2.00E-63	90.29
26	23398	24300	+	Proteína hipotética	93%	4.00E-78	50.7
27	24372	27005	+	ARN polimerasa	99%	0	71.64
28	27254	27430	+	Proteína hipotética	52%	2.2	57.58
29	27432	27656	+	No Significancia			
30	27656	29659	+	ADN primasa	99%	0	78.46
31	29723	30451	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-43	44.94
32	30448	30675	+	3-oxoacilo-ACP reductasa FabG	42%	2.2	50
33	30668	30880	+	Proteína hipotética	97%	3.00E-15	53.62
34	30946	31041	+	No Significancia			
35	31031	33571	+	ADN polimerasa	99%	0	82.41
36	33582	33803	+	Proteína hipotética	95%	5.00E-16	47.89
37	33875	34099	+	No Significancia			
38	34144	34521	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-16	38.21
39	34671	35477	+	Proteína hipotética	81%	1.00E-93	65.16
40	35477	35692	+	Proteína hipotética	98%	0.02	33.33
41	35987	36358	+	Proteína hipotética	78%	3.00E-48	79.38
42	36432	36872	+	Proteína hipotética	95%	3.00E-54	60.49
43	37147	38181	+	Similar a exonucleasa	98%	3.00E-176	67.64
44	38166	38567	+	Endonucleasa	97%	9.00E-67	73.28
45	38568	39575	+	Proteína fosfatasa 2a	99%	0	79.4
46	39651	40046	+	Proteína hipotética	71%	3.00E-31	57.45
47	40043	40171	+	Proteína hipotética	72%	4.1	41.94
48	40168	40362	+	Proteína de unión al pirofosfato de tiamina	58%	0.39	52.63
49	40359	41312	+	ADN ligasa	99%	8.00E-156	69.94
50	41305	41493	+	Proteína hipotética	94%	5.00E-23	85.19
51	41504	41653	+	Proteína hipotética	96%	4.00E-12	58.33
52	41650	42111	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-69	66.67
53	42120	42326	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-23	66.18
54	42328	43896	+	Cuello	98%	0	73.88
55	43896	44747	+	Proteína de andamiaje	78%	4.00E-68	58.22
56	44823	47783	+	Putativa proteína de la cápside	99%	1.00E-144	80.4
57	48079	49563	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	84%	8.00E-119	38.66
58	49613	51142	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	99%	0	96.78
59	51148	52167	+	Proteína de control longitudinal de la cola	99%	0	99.11

60	52245	53192	+	Proteína de control longitudinal de la cola	100%	0	99.12
61	53179	55221	+	Terminasa subunidad grande	100%	0	99.69
62	55251	55529	+	Terminasa subunidad grande	99%	1.00E-83	100
63	55575	56654	+	Proteína portal	100%	0	99.68
64	56648	57460	+	Proteína de las fibras de la cola	100%	0	98.37
65	57457	58305	+	Proteína hipotética	99%	0	100
66	58397	59254	+	ADN primasa/helicasa	99%	0	97.54
67	59283	60128	+	Putativa fosfoesterasa	99%	0	100
68	60292	60984	+	Exodeoxiribonucleasa VII	99%	0	98.55
69	61044	61760	+	Putativa proteína de recombinación	100%	2.00E-145	99.53
70	61804	62658	+	Proteína de la cápside	100%	0	99.62
71	62594	63391	+	Putativa proteína cinta métrica	100%	3.00E-156	98.88
72	63354	63716	+	Proteína portal	99%	1.00E-69	98.23
73	63706	64473	+	Proteína de morfogénesis de la cabeza	99%	0	98.04
74	64541	65293	+	Proteína secundaria de la cola	95%	0	99.2
75	65295	65639	+	Proteína de ensamblaje de la cola	100%	9.00E-57	100
76	65675	67171	+	ADN helicasa	100%	1.00E-146	86.56
77	67192	67980	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	100%	4.00E-161	94.42
78	67946	68602	+	Proteína principal de la cola	99%	2.00E-161	99.54
79	68912	69484	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-127	94.15
80	69477	69965	+	Polinucleótido kinasa	99%	1.00E-113	99.38
81	69962	70543	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-131	99.48
82	70698	70934	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-49	97.44
83	70922	71155	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-48	96.1
84	71284	71472	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-36	95.08
85	71472	71735	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-55	94.25
86	71815	72339	+	Putativa terminasa subunidad pequeña	99%	2.00E-126	100
87	72326	72640	+	Proteína de ensamblaje de la punta de la cola	98%	1.00E-64	98.96
88	72615	73217	+	Proteína de ensamblaje de la cola	99%	4.00E-123	99.5
89	73305	73637	+	Proteína de las fibras de la cola	100%	2.00E-42	100
90	73621	74154	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-108	97.18
91	74151	74342	+	Proteína hipotética	100%	1.00E-27	98.11
92	74492	74995	-	Proteína hipotética	94%	2.00E-104	94.94
93	75047	75271	-	Proteína de la cápside	98%	1.00E-39	100
94	75268	75705	-	Citosina ADN metilasa	99%	2.00E-89	98.48
95	75708	75953	-	Proteína hipotética	95%	3.00E-38	79.49
96	75969	76196	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-44	92
97	76266	76673	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-59	97.8
98	76663	76866	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-43	100

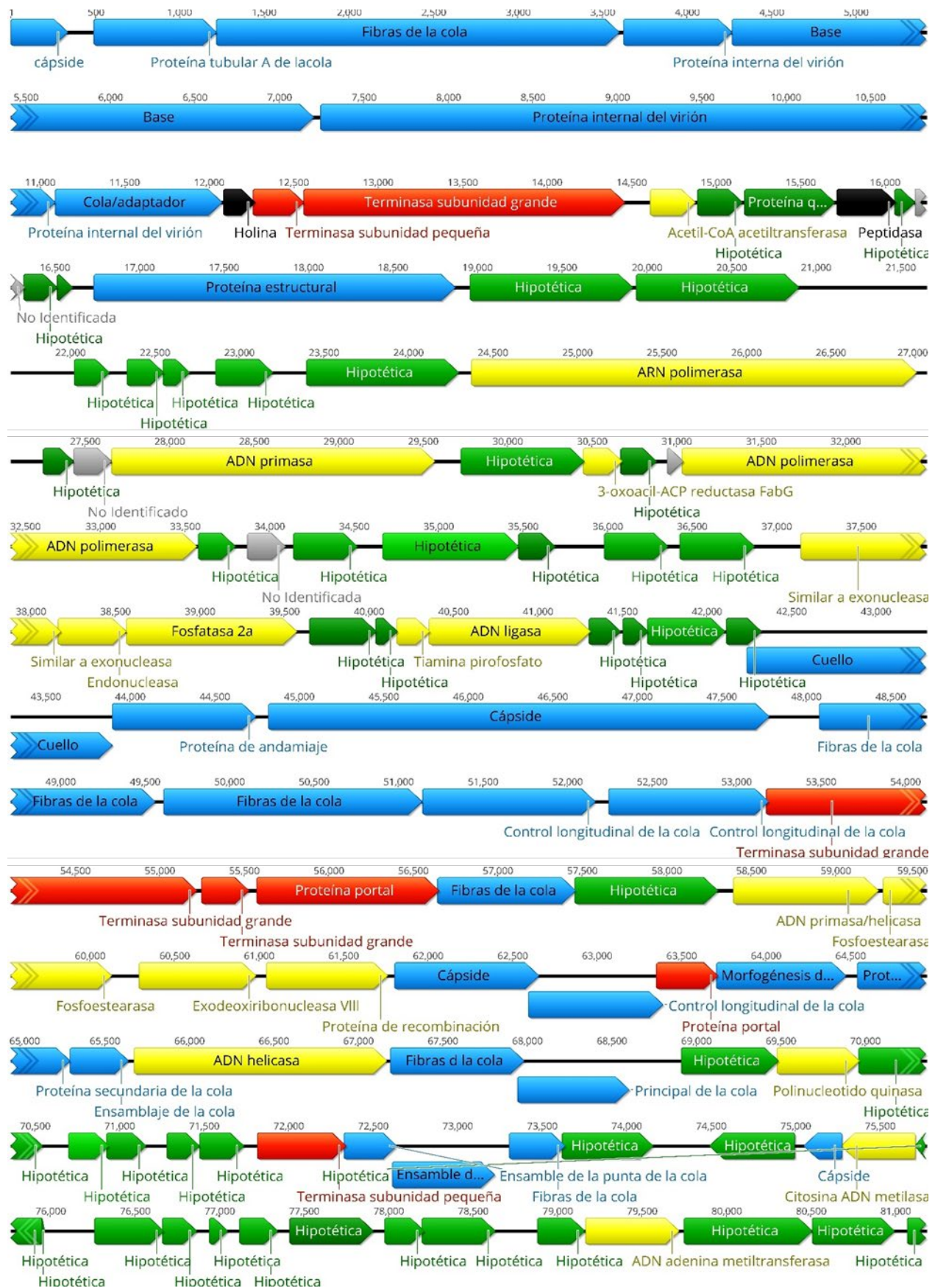
99	76945	77052	+	Proteína hipotética	97%	5.00E-17	100
100	77122	77346	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	90
101	77419	77913	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-94	90.86
102	77983	78213	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-32	100
103	78203	78634	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-90	92.81
104	78887	79165	+	Proteína hipotética	84%	4.00E-51	98.75
105	79168	79722	+	ADN adenina metiltransferasa	100%	2.00E-129	100
106	79753	80511	+	Proteína hipotética	100%	1.00E-118	98.84
107	80511	80999	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-115	98.15
108	81074	81391	+	Proteína hipotética	79%	4.00E-53	96.04
109	81462	81575	+	Holina	98%	3.00E-36	100
110	81577	82245	+	Endolisina	100%	2.00E-106	100
111	82242	82793	+	Proteína hipotética	100%	5.00E-97	98
112	82829	83065	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-80	99.19
113	83058	83495	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-103	100
114	83503	83988	-	Putativa proteína de unión a ADN monocatenario	77%	3.00E-76	99.09
115	84025	84183	-	Proteína de recombinación	98%	1.00E-24	100
116	84208	84384	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-26	100
117	84388	84849	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-110	98.69
118	84919	85299	-	u-espanina	88%	9.00E-74	100
119	85446	85790	-	Proteína secundaria de la cola	99%	2.00E-75	96.49
120	85793	85954	-	Proteína de control longitudinal de la cola	98%	5.00E-27	100
121	86057	86362	+	Helicasa	99%	1.00E-73	100
122	86362	86769	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-80	99.26
123	86876	87088	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-44	100
124	87099	87419	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-70	98.11
125	87506	87763	+	Proteína hipotética	92%	1.00E-53	96.47
126	87760	87870	+	Proteína hipotética	100%	2.00E-10	100
127	87968	88405	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-101	100
128	88531	88662	+	Helicasa	97%	6.00E-21	100
129	88739	89065	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-95	100
130	89236	89379	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-32	100
131	89399	89839	-	ADN helicasa	93%	9.00E-73	100
132	89931	90332	+	Putativo regulador transcripcional	99%	5.00E-90	100
133	90416	90694	-	Proteína hipotética	100%	3.00E-50	98.77
134	90694	90933	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-33	100
135	90930	91124	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-35	95.31
136	91197	91460	-	Proteína hipotética	98%	8.00E-54	94.25
137	91775	91984	-	Proteína hipotética	100%	6.00E-16	97.3
138	92064	92249	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-36	100
139	92246	92491	-	Proteína hipotética	98%	8.00E-53	98.77

140	92491	92793	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-64	93
141	92790	93116	-	Proteína hipotética	99%	4.00E-73	96.3
142	93190	93387	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-37	96.92
143	93384	93638	-	Proteína hipotética	96%	2.00E-49	88.1
144	93748	94125	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-74	97.3
145	94135	94437	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-58	86
146	94437	94682	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-54	97.53
147	94721	94909	-	Proteína hipotética	100%	1.00E-22	100
148	94909	95145	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-51	100
149	95210	95446	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	98.72

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.



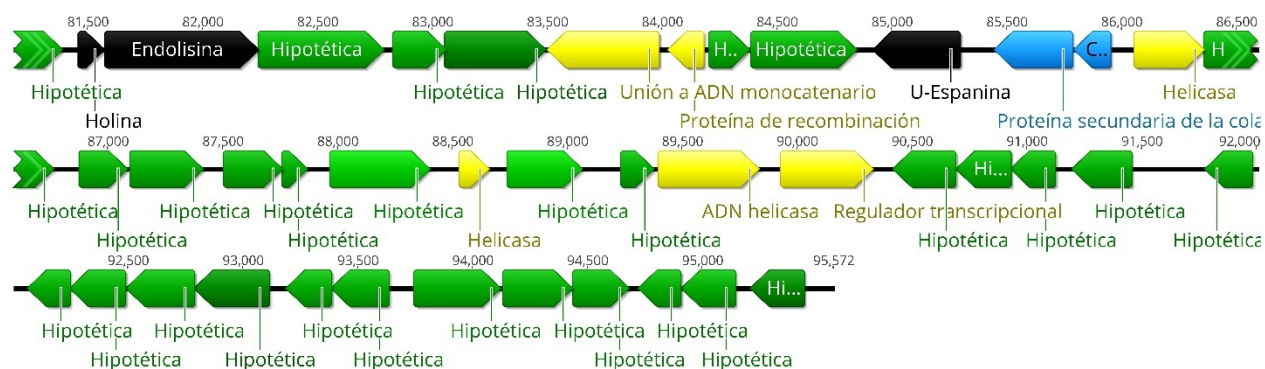


Figura 20. Diagrama del genoma del bacteriófago F5M1D. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.8 Características Genómicas del Bacteriófago F1M1E

El genoma del bacteriófago F1M1E consiste en ADN de doble cadena compuesto por 138,561 pb con un contenido de GC del 50.60% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 264 ORFs, 242 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 22 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 15**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F1M1E reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo **lisogénico** de replicación infectando a bacterias Gram negativas, lo cual fue confirmado con la presencia de una integrasa en el genoma del fago (ORF21). Por lo tanto, el bacteriófago **no cumple** con las características básicas para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F1M1E presenta una alta similitud (91.33%) con la secuencia del bacteriófago *Cronobacter* phage CR8 (NCBI: KC954774.1), un fago con actividad lítica sobre *Cronobacter* sp, que pertenece a la familia *Myoviridae*. Por lo tanto, existe una alta

probabilidad que el fago F1M1E posea una estructura icosaédrica y una cola larga contráctil típica de la familia *Myoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 48 ORFs (18.2%) son putativamente funcionales; además 208 ORFs (78.8%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 8 ORFs (3%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 21**).

Cuadro 13. Características de los genes del bacteriófago F1M1E y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F1M1E							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	4999	5997	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-31	95.08
2	6118	6732	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	97.55
3	6793	10146	+	Proteína putativa que contiene repeticiones de triple hélice de colágeno	94%	0	79.41
4	10187	10837	+	Proteína estructural	99%	4.00E-147	92.13
5	10839	11171	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-28	86.36
6	11269	11796	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	98.29
7	11859	12320	+	ARN polimerasa putativa	99%	1.00E-106	97.39
8	12355	12777	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-98	97.86
9	12777	13484	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-153	98.72
10	13545	14966	+	Proteína putativa estructural 1	99%	0	94.71
11	14970	15452	+	Proteína estructural	90%	1.00E-99	99.32
12	15524	15991	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-97	87.97
13	16078	16263	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-31	95.08
14	16331	16939	+	Proteína medidora (tape measure)	99%	6.00E-99	92.04
15	16944	17267	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-65	96.26

16	17264	17722	+	Proteína hipotética	92%	4.00E-83	95.04
17	17746	18009	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-55	96.55
18	18022	21282	+	Proteína putativa de las fibras de la cola 2	99%	0	80.48
19	21321	22562	+	Proteína estructural	99%	0	92.98
20	22656	23153	+	Proteína hipotética	92%	6.00E-106	96.08
21	23257	23535	+	Integrasa	98%	6.00E-58	91.3
22	23532	23906	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-82	94.35
23	23899	24102	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-22	78.46
24	24099	24566	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	91.61
25	24566	24658	+	No Significancia			
26	24651	24830	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-35	100
27	24893	27529	+	ADN polimerasa I putativa	99%	0	98.52
28	27630	27851	+	Proteína hipotética	85%	9.00E-13	53.97
29	27861	28028	+	Proteína hipotética	96%	0.054	36.36
30	28021	28317	+	Proteína hipotética	88%	1.00E-23	52.27
31	28304	28471	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-31	100
32	28461	28652	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-36	93.65
33	28642	28926	+	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	77.42
34	28943	29629	+	No Significancia			
35	29639	31642	+	Proteína hipotética	99%	0	96.7
36	31991	32491	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-63	65.27
37	32488	32688	+	Proteína hipotética	92%	1.00E-31	82.26
38	32688	32897	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-41	95.65
39	32905	33117	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-45	94.29
40	33117	33482	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-80	95.04
41	33482	33820	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-74	95.54
42	33817	34017	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-23	81.82
43	34014	34571	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-136	100
44	34555	35055	+	HNH Endonucleasa putativa	99%	4.00E-122	98.8
45	35068	36180	+	Exodeoxiribonucleasa putativa	99%	0	98.92
46	36180	36515	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-60	91
47	36496	37119	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-151	98.55
48	37169	37711	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-130	98.33
49	37713	38225	+	Endonucleasa VII de empaquetamiento y recombinación - putativa	99%	4.00E-122	99.41
50	38218	38451	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-50	100
51	38466	39548	+	ADN polimerasa II putativa	99%	0	98.06
52	39599	39904	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-61	87.13
53	39904	40563	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-161	99.54
54	40550	41161	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-140	100
55	41161	41343	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-32	86.67
56	41359	42372	+	Timidilato sintasa putativa	99%	0	90.8

57	42454	42948	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-50	100
58	42951	43181	+	Ribonucleósido-difosfato reductasa	97%	0	96.05
59	43200	45458	+	Putativa ribonucleótido-difosfato reductasa subunidad beta	99%	0	99.73
60	45735	46832	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-45	98.63
61	46842	47063	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-45	98.63
62	47063	47287	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	97.3
63	47287	47574	+	Glutaredoxina	98%	3.00E-64	100
64	47585	47998	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-93	100
65	48007	48390	+	Endolisina	99%	3.00E-78	100
66	48406	49152	+	Proteína de la familia PhoH	99%	0	97.98
67	49155	49748	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-128	98.48
68	49732	50046	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	98.08
69	50057	50533	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-96	97.47
70	50533	51546	+	Putativa ClpP subunidad de proteasa dependiente de ATP	99%	0	82.2
71	51546	52058	+	Putativa ADN metiltransferasa	99%	1.00E-118	96.47
72	52259	52444	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-34	98.36
73	52444	53805	+	Helicasa putativa	99%	0	96.91
74	53802	54020	+	Proteína hipotética	100%	8.00E-41	93.15
75	54013	54426	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	95.62
76	54419	54583	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-12	90.74
77	54561	54860	+	Proteína hipotética	88%	2.00E-45	95.45
78	54857	55072	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	100
79	55069	55248	+	No Significancia			
80	55245	55436	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-38	98.41
81	55472	55747	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-59	100
82	55747	55911	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-29	94.44
83	55908	57980	+	ADN primasa/helicasa putativa	99%	0	97.68
84	58017	58535	+	Proteína hipotética	90%	2.00E-112	100
85	58625	58921	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-62	94.9
86	58918	59058	+	Proteína de membrana putativa	91%	1.00E-09	60.47
87	59055	59237	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	98.33
88	59230	59436	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-42	98.53
89	59433	59627	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-40	100
90	59620	59892	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	85.56
91	59889	60245	+	Fosfotransferasa	44%	1.2	42.11
92	60238	60414	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-21	64.91
93	60411	60593	+	Proteína hipotética	96%	8.00E-32	91.53
94	60586	60819	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-22	54.55
95	60816	61070	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-39	75.9
96	61072	61743	+	ADN metilasa I putativa	99%	2.00E-163	97.31
97	61754	63751	+	Proteína de cinta métrica putativa	95%	0	87.91

98	63818	63952	+	Proteína estructural	97%	0.29	97.73
99	64093	64461	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-49	61.16
100	64527	65417	+	Putativa ribosa-fosfato pirofosfoquinasa	99%	0	92.91
101	65469	67259	+	Putativa nictotinato fosforibosiltransferasa	99%	0	98.99
102	67305	67529	+	Proteína hipotética	80%	2.00E-22	80
103	67583	67771	+	Proteína hipotética	98%	0.003	39.71
104	67768	68298	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-101	86.36
105	68301	68915	+	Proteína hipotética	82%	2.00E-103	98.22
106	68981	70219	+	ATPasa putativa	99%	0	97.82
107	70286	71842	+	Proteína hipotética	99%	0	98.26
108	71875	72186	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-62	92.23
109	72186	72500	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	98.08
110	72606	74093	+	Putativa terminasa subunidad grande	99%	0	99.6
111	74112	75635	+	Proteína estructural	96%	0	97.15
112	75774	76280	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-100	91.67
113	76277	77383	+	Proteína estructural	99%	0	87.26
114	77401	77859	+	Putativa proteína de estabilización/decoración de la cabeza	99%	2.00E-88	86.84
115	77880	78008	+	Proteína de las fibras de la cola putativa 1	72%	3.00E-12	100
116	78011	79486	+	Proteína de las fibras de la cola putativa 2	99%	0	85.51
117	79489	80001	+	Proteína de ensamblaje de las fibras de la cola	99%	1.00E-69	60.82
118	80129	81613	+	Proteína de ensamblaje de la base putativa	99%	0	97.57
119	81623	82267	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-136	94.86
120	82278	82529	+	Proteína de las fibras de la cola putativa 1	69%	8.00E-31	100
121	82523	82804	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-61	100
122	82804	82905	+	No Significancia			
123	82902	83129	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-36	97.33
124	83319	83621	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-62	89.9
125	83614	83955	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-64	89.62
126	83948	84214	+	Proteína hipotética	79%	2.00E-30	71.83
127	84246	84383	+	No Significancia			
128	84397	84801	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-86	92.54
129	84888	86255	+	ADN ligasa putativa	99%	0	95.38
130	86252	86692	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-43	58.5
131	86747	87109	+	Putativo MazG nucleótido pirofosfohidrolasa	99%	5.00E-80	97.5
132	87109	87285	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	96.55
133	87294	87629	+	Proteína hipotética	87%	9.00E-46	71.43

134	87705	88064	+	Proteína hipotética	91%	1.00E-69	90.91
135	88061	88282	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-45	97.26
136	88279	89598	+	putativa tRNA nucleótidiltransferasa	99%	0	97.27
137	89561	89884	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-68	98.13
138	89881	90336	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-100	93.2
139	90338	90502	+	Proteína hipotética	87%	3.00E-11	68.75
140	90514	90861	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-68	93.04
141	90851	91252	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-91	97.74
142	91253	91543	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-52	98.96
143	91543	91872	+	Proteína NrdA.1	99%	7.00E-72	93.58
144	91872	92087	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-28	95.77
145	92084	92752	+	Proteína hipotética	78%	8.00E-65	73.66
146	92816	93238	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-78	83.57
147	93232	93384	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-21	84
148	93381	93671	+	Proteína hipotética	85%	3.00E-40	73.81
149	93668	94039	+	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	85.12
150	94039	94689	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-91	65.12
151	94742	95119	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-88	100
152	95132	95317	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-20	91.8
153	95403	96629	+	Proteína hipotética	96%	0	94.66
154	96565	97149	-	Proteína hipotética	88%	6.00E-112	89.6
155	97151	97411	-	Proteína hipotética	98%	4.00E-54	96.51
156	97424	97915	-	Proteína hipotética	99%	6.00E-59	57.83
157	97909	99027	-	Putativa nucleótidiltransferasa	99%	0	97.85
158	99115	99516	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-84	95.49
159	99516	99917	-	Proteína hipotética	99%	9.00E-91	99.25
160	99914	100165	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-16	98.8
161	100291	100554	+	Proteína de membrana	98%	2.00E-50	96.55
162	100612	101646	+	Proteína hipotética	95%	5.00E-81	42.65
163	101643	101879	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-50	98.72
164	101866	102072	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-40	98.53
165	102069	102800	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-177	99.17
166	102797	103141	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-76	99.12
167	103341	103478	+	Proteína hipotética	91%	9.00E-21	97.62
168	103465	103788	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-69	94.39
169	103788	103979	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-25	73.02
170	104023	104469	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-93	89.8
171	104466	104843	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-80	92
172	104833	105093	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-42	93.02
173	105102	105314	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-42	91.43
174	105316	105837	+	Putativa fosfatasa	99%	4.00E-112	89.02
175	105839	106219	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-87	99.21
176	106269	106799	+	SleB	99%	4.00E-107	96.02

177	106796	107002	+	Proteína de membrana putativa	92%	6.00E-29	82.81
178	107034	107750	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-160	91.14
179	107753	108139	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-76	89.43
180	108139	109119	+	Proteína hipotética	99%	0	93.03
181	109129	109821	+	Proteína de ensamblaje de la base putativa	99%	2.00E-141	80.57
182	109830	110363	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-115	97.74
183	110544	110741	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-39	98.46
184	110731	111270	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-121	93.3
185	111263	111472	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-40	91.3
186	111551	111781	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-46	98.68
187	111781	111975	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-34	90.32
188	111972	112334	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-74	86.67
189	112331	112672	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-68	90.99
190	112665	112892	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-48	98.67
191	112894	113169	+	Proteína hipotética	95%	6.00E-57	98.86
192	113166	113393	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-46	97.33
193	113390	113662	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-42	91.11
194	113721	114581	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-161	80.21
195	114874	115272	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-75	98.32
196	115375	115743	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-82	96.72
197	115743	115961	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	80.56
198	115963	116196	+	Proteína hipotética	94%	2.00E-19	49.33
199	116193	116438	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-45	88.75
200	116448	117122	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-164	97.77
201	117116	117337	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	100
202	117346	117531	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.72
203	117513	117722	-	Proteína hipotética	77%	4.00E-17	59.26
204	117719	117949	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-43	88.16
205	117949	118476	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	62.86
206	118469	118666	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-40	100
207	118799	119362	+	Putativa Fosfohidrolasa dependiente del metal	99%	2.00E-121	89.3
208	119352	119510	+	Proteína hipotética	88%	7.00E-15	72.34
209	119522	119782	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-52	95.35
210	119830	120255	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-79	82.98
211	120224	120739	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-114	91.23
212	120832	121344	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-116	91.76
213	121654	122208	+	Proteína hipotética	53%	1.00E-14	53.92
214	122286	122624	+	No Significancia			
215	122973	123440	+	Proteína hipotética	66%	2.00E-69	98.08
216	123844	124317	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-105	94.23
217	124295	124903	+	Proteína hipotética	68%	3.00E-83	84.89

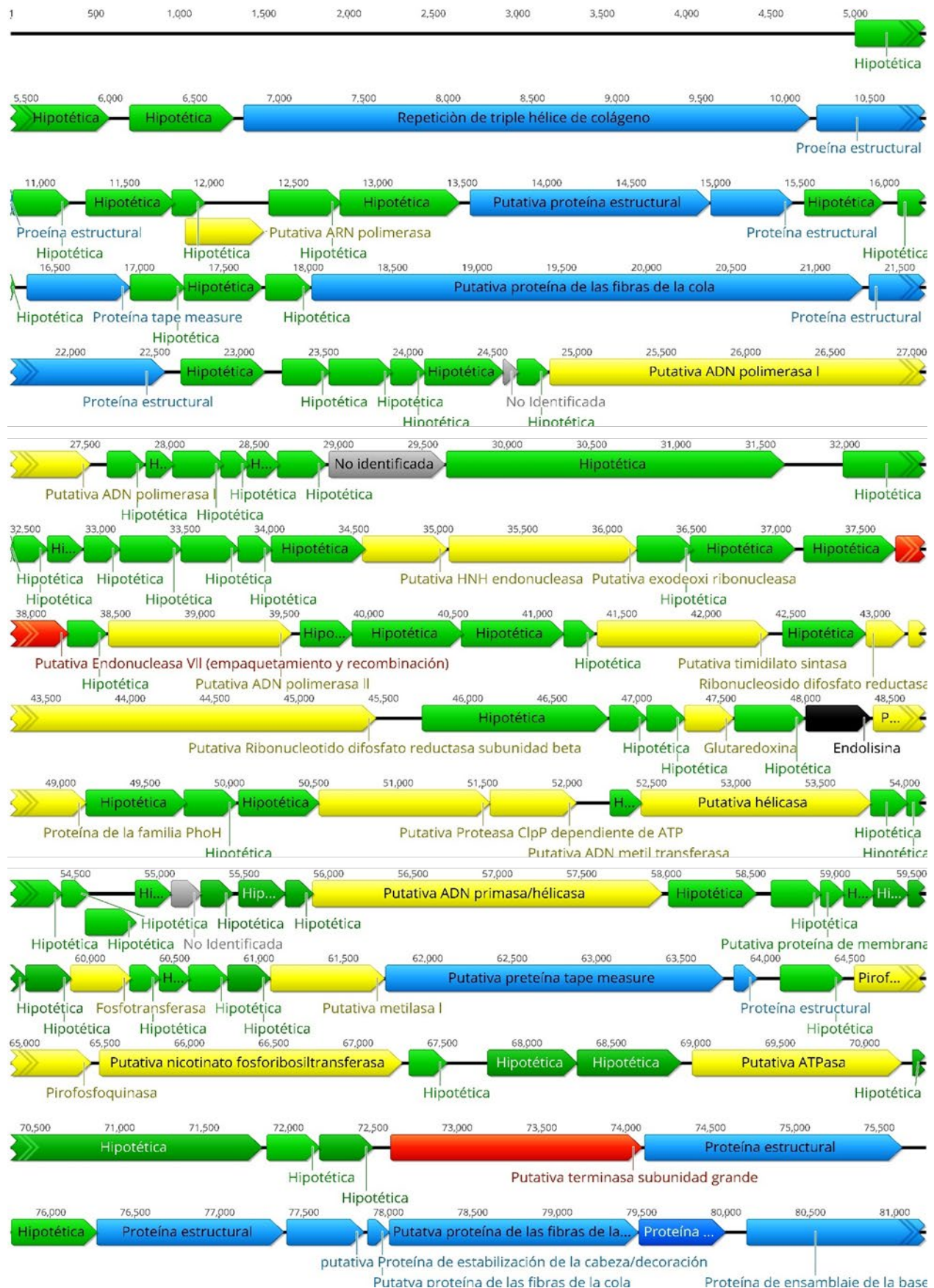
218	125098	125556	+	Producto del gen 179	55%	2.00E-16	48.24
219	125662	125883	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	100
220	125929	126273	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-76	95.61
221	126374	126613	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	97.47
222	126684	126914	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	96.05
223	126993	127373	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-77	94.44
224	127442	127651	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-42	100
225	127740	128129	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-68	89.92
226	128228	128449	+	Proteína hipotética	79%	1.00E-29	89.83
227	128452	128586	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-14	81.82
228	128663	128902	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	97.47
229	129008	129469	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-93	93.46
230	129548	129799	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	98.8
231	129842	130018	+	Proteína hipotética	45%	4.00E-09	92.59
232	131966	132340	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	99.19
233	133103	133186	-	Proteína hipotética	89%	4.00E-04	76
234	133188	133277	-	No Significancia			
235	133274	133501	-	Proteína hipotética	98%	4.00E-15	49.33
236	133498	133725	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-18	65.33
237	133722	133973	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-42	97.59
238	134126	134563	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-90	87.59
239	134726	135064	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-51	80.36
240	135061	135348	+	Proteína hipotética	41%	1.00E-19	92.5
241	135357	135734	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-78	90.16
242	135976	136218	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-51	98.75
243	136215	136307	+	Proteína hipotética	58%	0.15	88.89
244	136406	136528	+	Proteína hipotética	97%	6.00E-17	87.5
245	136528	136878	+	Proteína de membrana putativa	99%	9.00E-60	90.52
246	136853	137011	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-26	90.38
247	137008	137265	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-27	57.65
248	137308	137550	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-37	77.5
249	137547	137690	+	No Significancia			
250	138005	138304	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-61	92.93
251	138842	139156	-	Proteína hipotética	90%	5.00E-35	62.11
252	139144	139335	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-18	58.73
253	139453	139677	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-47	100
254	139688	139882	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-24	90.62
255	139879	140187	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-66	97.06
256	140398	140652	-	Proteína hipotética	97%	5.00E-56	97.59
257	140642	140914	-	Proteína hipotética	93%	2.00E-37	82.43
258	140904	141140	-	Proteína hipotética	99%	7.00E-66	99.05
259	141390	141707	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-66	99.05
260	141780	142127	+	Proteína hipotética	59%	3.00E-39	95.65

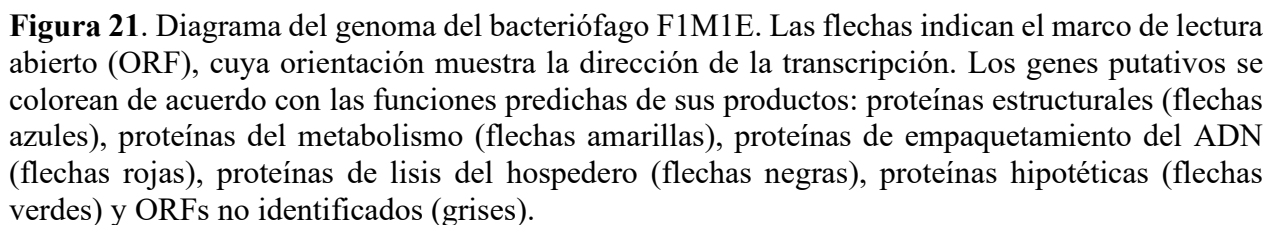
261	142413	142586	+	Proteína hipotética	86%	5.00E-08	54
262	142648	142854	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-41	97.06
263	142927	143181	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-54	95.24
264	143266	143481	+	Proteína hipotética	100%	2.00E-43	94.44

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.





6.3.9 Características Genómicas del Bacteriófago F2M1E

El genoma del bacteriófago F2M1E consiste en ADN de doble cadena compuesto por 148,352 pb con un contenido de GC del 50.60% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 289 ORFs, 254 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 35 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 16**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F2M1E reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por lo tanto, el bacteriófago tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F2M1E presenta una alta similitud (90.38%) con la secuencia del bacteriófago *Cronobacter* phage PBES 02 (NCBI: KT353109.1), un fago con actividad lítica sobre *Cronobacter* sp, que pertenece a la familia *Myoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F2M1E posea una estructura icosaédrica y una cola larga contráctil típica de la familia *Myoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 43 ORFs (14.9%) son putativamente funcionales; además 231 ORFs (79.9%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 15 ORFs (5.2%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 22**).

Cuadro 14. Características de los genes del bacteriófago F2M1E y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F2M1E							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	2	352	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-70	90.52
2	352	666	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	98.08
3	772	2259	+	Putativa terminasa subunidad grande	99%	0	99.6
4	2278	3801	+	Proteína hipotética	96%	0	97.76
5	3940	4446	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-118	92.67
6	4443	5549	+	Proteína estructural	99%	0	87.26
7	5567	6025	+	Putativa proteína de estabilización de la cabeza/decoración	99%	2.00E-88	86.84
8	6046	7044	+	Putativa proteína principal de la cabeza	99%	0	96.69
9	7165	7779	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	97.55
10	7840	11193	+	Putativa proteína que contiene repeticiones de triple hélice de colágeno	94%	0	79.41
11	11234	11884	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-151	94.91
12	11886	12218	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-28	86.36
13	12316	12843	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	98.29
14	12906	13367	+	Putativa ARN polimerasa	99%	1.00E-106	97.39
15	13402	13824	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-98	97.86
16	13824	14531	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-153	98.72
17	14592	16013	+	Putativa proteína estructural	99%	0	94.71
18	16017	16499	+	Proteína estructural	90%	1.00E-99	99.32
19	16571	17038	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-97	87.97
20	17125	17310	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-31	95.08
21	17378	19810	+	Putativa proteína cinta métrica	99%	0	89.16
22	19877	20731	+	Proteína estructural	99%	1.00E-171	90.81
23	20734	21120	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-76	89.43
24	21120	22100	+	Proteína hipotética	99%	0	93.03
25	22110	22802	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-142	80.97
26	22811	23344	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-115	97.74
27	23499	24983	+	Putativa proteína de ensamblaje de la base	99%	0	97.57
28	24993	25637	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-136	94.86
29	25648	27285	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	99%	0	86.93
30	27288	27800	+	Proteína de ensamblaje de las fibras de la cola	99%	1.00E-69	60.82
31	27842	28180	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-69	96.43

32	28177	28635	+	Putativa proteína de membrana	92%	3.00E-83	93.62
33	28659	28922	+	Putativa proteína de membrana	98%	8.00E-55	96.55
34	28935	32195	+	Putativa proteína de las fibras de la cola 2	99%	0	80.48
35	32234	33475	+	Proteína estructural	99%	0	92.98
36	33518	34744	-	Proteína hipotética	96%	0	94.66
37	34830	35015	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-20	91.8
38	35028	35405	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-88	100
39	35458	36108	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-91	65.12
40	36108	36479	-	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	85.12
41	36476	36766	-	Proteína hipotética	85%	3.00E-40	73.81
42	36763	36915	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-21	84
43	36909	37331	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-78	83.57
44	37395	38063	-	Proteína hipotética	78%	8.00E-65	73.66
45	38060	38275	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-28	95.77
46	38275	38604	-	Proteína NrdA.1	99%	7.00E-72	93.58
47	38604	38894	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-52	98.96
48	38895	39296	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-91	97.74
49	39286	39633	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-68	93.04
50	39645	39830	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.72
51	39839	40060	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	100
52	40054	40728	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-164	97.77
53	40738	40983	-	Proteína hipotética	97%	1.00E-45	88.75
54	40980	41213	-	Proteína hipotética	94%	2.00E-19	49.33
55	41215	41433	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	80.56
56	41433	41801	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-82	96.72
57	41904	42302	-	Proteína hipotética	89%	2.00E-75	98.32
58	42363	44366	-	Proteína hipotética	99%	0	96.7
59	44376	44606	-	No Significancia			
60	44668	44898	+	Proteína hipotética	96%	1.00E-25	66.67
61	44898	45134	+	Proteína hipotética	93%	2.00E-37	82.43
62	45124	45396	+	Proteína hipotética	75%	5.00E-22	67.14
63	45386	45667	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-64	97.85
64	45651	45914	+	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-50	96.55
65	45972	47006	+	Proteína hipotética	95%	5.00E-81	42.65
66	47003	47239	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-50	98.72
67	47226	47432	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-40	98.53
68	47429	48160	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-177	99.17
69	48157	48501	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-76	99.12
70	48620	48838	+	Proteína hipotética	94%	6.00E-42	97.1
71	48825	49148	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-69	94.39
72	49148	49339	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-25	73.02
73	49383	49829	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-93	89.8

74	49826	50203	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-80	92
75	50193	50453	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-42	93.02
76	50462	50674	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-42	91.43
77	50676	51197	+	Putativa fosfatasa	99%	4.00E-112	89.02
78	51199	51579	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-87	99.21
79	51629	52159	+	SleB	99%	4.00E-107	96.02
80	52156	52353	+	Putativa proteína de membrana	98%	1.00E-30	84.62
81	52363	52548	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-34	98.36
82	52548	53909	+	Putativa helicasa	99%	0	96.91
83	53906	54124	+	Proteína hipotética	100%	8.00E-41	93.15
84	54117	54530	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	95.62
85	54523	54687	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-12	90.74
86	54665	54964	+	Proteína hipotética	88%	2.00E-45	95.45
87	54961	55176	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	100
88	55173	55352	+	No Significancia			
89	55349	55540	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-38	98.41
90	55576	55851	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-59	100
91	55851	56015	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-29	94.44
92	56012	58084	+	Putativa ADN primasa/helicasa	99%	0	97.68
93	58121	58639	+	Proteína hipotética	90%	2.00E-112	100
94	58729	59025	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-62	94.9
95	59022	59162	+	Putativa proteína de membrana	91%	1.00E-09	60.47
96	59159	59341	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	98.33
97	59334	59540	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-42	98.53
98	59537	59731	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-40	100
99	59724	59996	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	85.56
100	59993	60349	+	Fosfotransferasa	44%	1.2	42.11
101	60342	60518	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-21	64.91
102	60515	60697	+	Proteína hipotética	96%	8.00E-32	91.53
103	60690	60923	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-22	54.55
104	60920	61174	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-39	75.9
105	61176	61847	+	Putativa ADN metilasa I	99%	2.00E-163	97.31
106	61858	62511	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-147	94.93
107	62615	62893	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-58	91.3
108	62890	63264	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-82	94.35
109	63257	63460	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-22	78.46
110	63457	63924	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	91.61
111	63924	64016	+	No Significancia			
112	64009	64188	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-35	100
113	64251	66887	+	Putativa ADN polimerasa I	99%	0	98.52
114	66988	67209	+	Proteína hipotética	85%	9.00E-13	53.97
115	67219	67386	+	Proteína hipotética	96%	0.054	36.36
116	67379	67675	+	Proteína hipotética	88%	1.00E-23	52.27

117	67662	67829	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-31	100
118	67819	68010	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-36	93.65
119	68000	68284	+	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	77.42
120	68301	68759	+	No Significancia			
121	68781	69062	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-61	98.92
122	69161	69661	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-63	65.27
123	69658	69858	+	Proteína hipotética	92%	1.00E-31	82.26
124	69858	70067	+	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-42	97.1
125	70075	70287	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-45	94.29
126	70287	70652	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-80	95.04
127	70652	70990	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-74	95.54
128	70987	71187	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-23	81.82
129	71184	71741	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-136	100
130	71725	72225	+	Putativa HNH endonucleasa	99%	4.00E-122	98.8
131	72238	73350	+	Putativa Exodeoxiribonucleasa	99%	0	98.92
132	73350	73685	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-60	91
133	73666	74289	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-151	98.55
134	74339	74881	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-130	98.33
135	74883	75395	+	Putativa Endonucleasa VII de empaquetamiento y recombinación	99%	4.00E-122	99.41
136	75388	75621	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-50	100
137	75636	76718	+	Putativa ADN polimerasa II	99%	0	98.06
138	76769	77074	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-61	87.13
139	77074	77733	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-161	99.54
140	77720	78331	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-140	100
141	78331	78513	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-32	86.67
142	78529	79542	+	Putativa timidilato sintasa	99%	0	90.8
143	79624	80118	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-115	100
144	80121	80351	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-50	100
145	80370	82628	+	Ribonucleósido-difosfato reductasa	97%	0	96.05
146	82905	84002	+	Putativo Ribonucleótido-difosfato reductasa subunidad beta	99%	0	99.73
147	84012	84233	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-45	98.63
148	84233	84457	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	97.3
149	84457	84744	+	Glutaredoxina	98%	3.00E-64	100
150	84755	85168	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-93	100
151	85177	85560	+	Endolisina	99%	3.00E-78	100
152	85576	86322	+	Proteína de la familia PhoH	99%	0	97.98
153	86325	86918	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-128	98.48
154	86902	87216	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	98.08
155	87227	87703	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-96	97.47
156	87703	88716	+	putativa ClpP subunidad de proteasa dependiente de ATP	99%	0	82.2

157	88716	89228	+	Putativa ADN metiltransferasa	99%	1.00E-118	96.47
158	89313	89645	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	90.91
159	89642	89863	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-45	97.26
160	89860	91179	+	Putativa tRNA nucleótidiltransferasa	99%	0	97.27
161	91142	91465	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-68	98.13
162	91462	91917	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-100	89.4
163	91919	92218	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-27	98.99
164	92215	92616	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-91	99.25
165	92616	93017	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-84	95.49
166	93105	94223	+	Putativa nucleótidiltransferasa	99%	0	97.85
167	94217	94708	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-59	57.83
168	94721	94981	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-54	96.51
169	94983	95576	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-130	89.85
170	95795	96163	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-49	61.16
171	96229	97119	+	Putativa ribosa-fosfato pirofosfoquinasa	99%	0	92.91
172	97171	98961	+	Nicotinato putativo fosforibosiltransferasa	99%	0	98.99
173	99007	99252	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-21	82.35
174	99319	99549	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-43	88.16
175	99549	100076	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	62.86
176	100069	100266	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-40	100
177	100399	100962	+	Putativa Fosfohidrolasa dependiente del metal	99%	2.00E-121	89.3
178	100952	101119	+	Proteína hipotética	96%	1.00E-20	75.93
179	101109	101297	+	Proteína hipotética	98%	0.003	39.71
180	101294	101824	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-101	86.36
181	101827	102441	+	Proteína hipotética	82%	2.00E-103	98.22
182	102507	103745	+	Putativa ATPasa	99%	0	97.82
183	103812	105368	+	Proteína hipotética	99%	0	98.26
184	105377	105754	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-78	90.16
185	105996	106238	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-51	98.75
186	106235	106327	+	Proteína hipotética	58%	0.15	88.89
187	106426	106548	+	Proteína hipotética	97%	6.00E-17	87.5
188	106548	106898	+	Putativa proteína de membrana	99%	9.00E-60	90.52
189	106873	107031	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-26	90.38
190	107028	107285	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-27	57.65
191	107328	107525	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-39	98.46
192	107515	108054	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-121	93.3
193	108047	108292	+	Proteína hipotética	100%	4.00E-32	91.38
194	108286	108567	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-61	100
195	108567	108668	+	No Significancia			

196	108665	108892	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-36	97.33
197	109082	109384	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-62	89.9
198	109377	109718	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-64	89.62
199	109711	109977	+	Proteína hipotética	79%	2.00E-30	71.83
200	110009	110146	+	No Significancia			
201	110160	110564	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-86	92.54
202	110651	112018	+	Putativa ADN ligasa	99%	0	95.38
203	112015	112455	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-43	58.5
204	112510	112872	+	Putativa MazG nucleótido pirofosfohidrolasa	99%	5.00E-80	97.5
205	112872	113048	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	96.55
206	113057	113392	+	Proteína hipotética	87%	9.00E-46	71.43
207	113461	113778	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-66	99.05
208	113928	114371	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-99	95.24
209	114419	114844	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-79	82.98
210	114813	115328	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-114	91.23
211	115331	115804	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-105	94.23
212	115782	116186	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-65	75.18
213	116179	116637	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-83	84.21
214	116692	116865	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-11	61.4
215	116865	117164	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-50	86.87
216	117168	117428	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-24	55.17
217	117416	117730	+	Proteína hipotética	92%	5.00E-35	63.44
218	117780	117986	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-36	80.88
219	118122	118460	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-51	80.36
220	118457	118660	+	Proteína hipotética	97%	5.00E-08	60.61
221	118653	119153	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-76	72.22
222	119318	120481	+	Producto del gen 179	22%	3.00E-07	37.08
223	120496	121647	+	Producto del gen 179	22%	1.00E-14	48.24
224	121770	122003	+	Proteína hipotética	94%	1.00E-25	66.22
225	122003	122332	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-57	83.81
226	122461	122973	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-116	91.76
227	122957	123193	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	96.15
228	123190	123405	+	Proteína hipotética	80%	0.045	33.9
229	123541	123816	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-59	93.41
230	123818	124288	+	Proteína hipotética	76%	1.00E-76	95.83
231	124290	124502	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-40	87.14
232	124625	124810	+	Oxidoreductasa dependiente de la molibdopterina	38%	7.4	50
233	124807	124944	+	No Significancia			
234	124941	125153	+	Proteína hipotética	85%	7.00E-17	60.66
235	125150	125356	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-19	55.88
236	125356	125541	+	No Significancia			

237	125578	125898	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-71	94.34
238	125907	126083	+	Proteína hipotética	81%	1.00E-22	89.58
239	126076	126288	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-42	95.71
240	126372	126590	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-35	95.83
241	126673	127044	+	Proteína hipotética	94%	2.00E-35	55.46
242	127783	128106	+	Proteína hipotética	74%	2.00E-45	98.68
243	128106	128300	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-34	90.32
244	128297	128659	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-74	86.67
245	128656	128997	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-68	90.99
246	128990	129217	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-48	98.67
247	129219	129494	+	Proteína hipotética	95%	6.00E-57	98.86
248	129491	129718	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-46	97.33
249	129715	129987	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-42	91.11
250	130046	130906	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-161	80.21
251	131180	131443	+	No Significancia			
252	131503	132324	+	Proteína hipotética	36%	7.00E-14	53.92
253	132317	132397	+	Proteína hipotética	100%	3.00E-05	73.08
254	132895	133089	+	No Significancia			
255	133127	133393	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-75	94.31
256	133462	133671	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-42	100
257	133760	134149	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-68	89.92
258	134248	134469	+	Proteína hipotética	79%	1.00E-29	89.83
259	134472	134606	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-14	81.82
260	134683	134922	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	97.47
261	135026	135445	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-84	84.89
262	135515	135667	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-26	96
263	135740	136033	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	78.57
264	136030	136173	+	No Significancia			
265	136488	136787	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-61	92.93
266	137022	137162	+	No Significancia			
267	137159	137551	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-83	91.54
268	137551	138012	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-93	93.46
269	138091	138342	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	98.8
270	138379	138603	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-46	100
271	138605	138829	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-47	100
272	138840	139034	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-24	90.62
273	139031	139339	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-66	97.06
274	141714	142088	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	99.19
275	142851	142934	-	Proteína hipotética	89%	4.00E-04	76
276	142936	143025	-	No Significancia			
277	143022	143249	-	Proteína hipotética	98%	4.00E-15	49.33
278	143246	143473	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-18	65.33
279	143470	143721	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-42	97.59

280	143798	144037	+	No Significancia			
281	144115	144429	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	97.12
282	144429	144674	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-47	93.83
283	145070	145291	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	100
284	145337	145681	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-76	95.61
285	145827	146165	+	No Significancia			
286	146448	146678	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	96.05
287	146749	146988	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	97.47
288	147084	147338	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-54	95.24
289	147423	147752	+	Proteína hipotética	100%	1.00E-64	95.92

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.

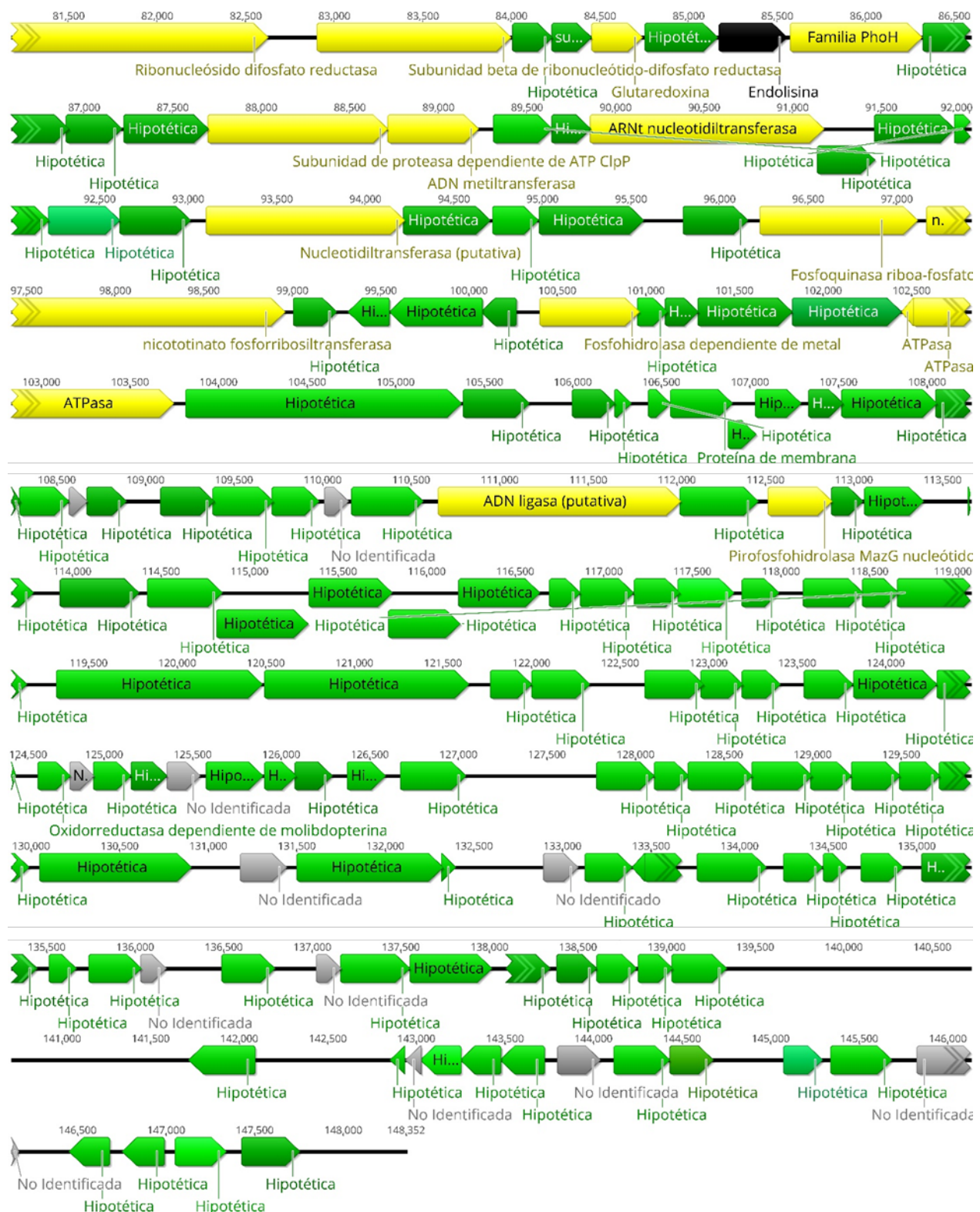


Figura 22. Diagrama del genoma del bacteriófago F2M1E. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN

(flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.10 Características Genómicas del Bacteriófago F4M1E

El genoma del bacteriófago F4M1E consiste en ADN de doble cadena compuesto por 148,907 pb con un contenido de GC del 57.20% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 289 ORFs, 192 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 97 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 17**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F4M1E reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por lo tanto, el bacteriófago tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F4M1E presenta una alta similitud (90.38%) con la secuencia del bacteriófago *Cronobacter* phage PBES 02 (NCBI: KT353109.1), un fago con actividad lítica sobre *Cronobacter* sp, que pertenece a la familia *Myoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F4M1E posea una estructura icosaédrica y una cola larga contráctil típica de la familia *Myoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 56 ORFs (19.4%) son putativamente funcionales; además 220 ORFs (76.1%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 13 ORFs (4.5%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: : proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 23**).

Cuadro 15. Características de los genes del bacteriófago F4M1E y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F4M1E							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	1	249	+	No Significancia			
2	309	1130	+	Proteína hipotética	36%	7.00E-14	53.92
3	1123	1494	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-73	87.8
4	1494	1808	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	98.08
5	1914	3401	+	Putativa terminasa subunidad grande	99%	0	99.6
6	3420	4943	+	Proteína hipotética	96%	0	97.76
7	5082	5588	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-100	91.67
8	5585	6691	+	Proteína estructural	99%	0	87.26
9	6709	7167	+	Putativa proteína de estabilización de la cabeza/decoración	99%	2.00E-88	86.84
10	7188	8186	+	Putativa proteína principal de la cabeza	99%	0	96.69
11	8307	8921	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	97.55
12	8982	12335	+	Putativa proteína que contiene repeticiones de triple hélice de colágeno	94%	0	79.41
13	12376	13026	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-151	94.91
14	13028	13360	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-28	86.36
15	13458	13985	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	98.29
16	14048	14509	+	Putativa ARN polimerasa	99%	1.00E-106	97.39
17	14544	14966	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-103	96.62
18	14966	15673	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-153	98.72
19	15734	17155	+	Putativa proteína estructural	99%	0	94.71
20	17159	17641	+	Proteína estructural	90%	1.00E-99	99.32
21	17713	18180	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-97	87.97
22	18267	18452	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-31	95.08
23	18520	20952	+	Putativa proteína cinta métrica	99%	0	89.16
24	21019	21873	+	Proteína estructural	99%	1.00E-171	90.81
25	21876	22262	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-76	89.43
26	22262	23242	+	Proteína hipotética	99%	0	93.03
27	23252	23944	+	Putativa proteína de ensamblaje de la base	99%	2.00E-141	80.57
28	23953	24486	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-115	97.74
29	24576	26060	+	Putativa proteína de ensamblaje de la base	99%	0	97.57
30	26070	26714	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-136	94.86
31	26725	28362	+	Putativa proteína de las fibras de la cola 1	99%	0	86.93

32	28365	28877	+	Proteína de ensamblaje de las fibras de la cola	99%	1.00E-69	60.82
33	28919	29257	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-69	96.43
34	29254	29712	+	Putativa proteína de membrana	92%	3.00E-83	93.62
35	29736	29999	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-55	96.55
36	30012	33272	+	Putativa proteína de las fibras de la cola 2	99%	0	80.48
37	33311	34552	+	Proteína estructural	99%	0	92.98
38	34595	35821	-	Proteína hipotética	96%	0	94.66
39	35907	36092	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-20	91.80
40	36105	36482	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-87	100
41	36535	37185	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-91	65.12
42	37185	37556	-	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	85.12
43	37553	37843	-	Proteína hipotética	83%	3.00E-40	73.81
44	37840	37992	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-21	84
45	37986	38408	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-78	83.57
46	38472	39140	-	Proteína hipotética	78%	8.00E-65	73.66
47	39137	39352	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-28	95.77
48	39352	39681	-	Proteína NrdA.1	99%	7.00E-72	93.58
49	39681	39971	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-52	98.96
50	39972	40373	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-91	97.74
51	40363	40710	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-68	93.04
52	40722	40907	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.72
53	40916	41137	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	100
54	41131	41805	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-164	97.77
55	41815	42060	-	Proteína hipotética	97%	1.00E-45	88.75
56	42057	42290	-	Proteína hipotética	94%	2.00E-19	49.33
57	42292	42510	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	80.56
58	42510	42878	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-82	96.72
59	42981	43379	-	Proteína hipotética	89%	2.00E-75	98.32
60	43440	45443	-	Proteína hipotética	99%	0	96.7
61	45453	46139	-	No Significancia			
62	46156	46440	-	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	77.42
63	46430	46621	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-36	93.65
64	46611	46778	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-31	100
65	46765	47061	-	Proteína hipotética	88%	1.00E-23	52.27
66	47054	47221	-	Proteína hipotética	96%	0.054	36.36
67	47231	47452	-	Proteína hipotética	85%	9.00E-13	53.97
68	47553	50189	-	Putativa ADN polimerasa I	99%	0	98.52
69	50252	50431	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-35	100
70	50424	50516	-	No Significancia			
71	50516	50983	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	91.61
72	50980	51183	-	Proteína hipotética	95%	2.00E-22	78.46

73	51176	51550	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-82	94.35
74	51547	51825	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-58	91.3
75	51929	52582	-	Proteína hipotética	99%	8.00E-147	94.93
76	52593	53264	-	Putativa ADN metilasa I	99%	2.00E-163	97.31
77	53266	53520	-	Proteína hipotética	97%	2.00E-39	75.9
78	53517	53750	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-22	54.55
79	53743	53925	-	Proteína hipotética	96%	8.00E-32	91.53
80	53922	54098	-	Proteína hipotética	96%	3.00E-21	64.91
81	54091	54447	-	Fosfotransferasa	44%	1.2	42.11
82	54444	54716	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	85.56
83	54709	54903	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-40	100
84	54900	55106	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-42	98.53
85	55099	55281	-	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	98.33
86	55278	55418	-	Putativa proteína de membrana	91%	1.00E-09	60.47
87	55415	55711	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-62	94.9
88	55801	56319	-	Proteína hipotética	90%	2.00E-112	100
89	56356	58428	-	Putativa ADN primasa/helicasa	99%	0	97.68
90	58425	58589	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-29	94.44
91	58589	58864	-	Proteína hipotética	98%	8.00E-59	100
92	58900	59091	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-38	98.41
93	59088	59267	-	No Significancia			
94	59264	59479	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	100
95	59476	59775	-	Proteína hipotética	88%	2.00E-45	95.45
96	59753	59917	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-12	90.74
97	59910	60323	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	95.62
98	60316	60534	-	Proteína hipotética	100%	8.00E-41	93.15
99	60531	61892	-	Putativa helicasa	99%	0	96.91
100	61892	62077	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-34	98.36
101	62087	62284	-	Putativa proteína de membrana	98%	1.00E-30	84.62
102	62281	62811	-	SleB	99%	4.00E-107	96.02
103	62861	63241	-	Proteína hipotética	99%	6.00E-87	99.21
104	63243	63764	-	Putativa fosfatasa	99%	4.00E-112	89.02
105	63766	63978	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-42	91.43
106	63987	64247	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-42	93.02
107	64237	64614	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-80	92
108	64611	65057	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-93	89.8
109	65101	65292	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-25	73.02
110	65292	65615	-	Proteína hipotética	99%	7.00E-69	94.39
111	65602	65820	-	Proteína hipotética	91%	9.00E-21	97.62
112	65939	66283	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-76	99.12
113	66280	67011	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-177	99.17
114	67008	67214	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-40	98.53
115	67201	67437	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-50	98.72

116	67434	68468	-	Proteína hipotética	95%	5.00E-81	42.65
117	68526	68789	-	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-50	96.55
118	68773	69054	-	Proteína hipotética	98%	7.00E-64	97.85
119	69044	69316	-	Proteína hipotética	75%	5.00E-22	67.14
120	69306	69542	-	Proteína hipotética	93%	2.00E-37	82.43
121	69542	69841	-	Proteína hipotética	91%	1.00E-40	37.23
122	69838	70068	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-43	88.16
123	70068	70595	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	62.86
124	70588	70785	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-40	100
125	70918	71481	+	Putativa Fosfohidrolasa dependiente del metal	99%	2.00E-121	89.3
126	71471	71638	+	Proteína hipotética	96%	1.00E-20	75.93
127	71628	71816	+	Proteína hipotética	98%	0.003	39.71
128	71813	72343	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-101	86.36
129	72346	72960	+	Proteína hipotética	82%	2.00E-103	98.22
130	73026	74264	+	Putativa ATPasa	99%	0	97.82
131	74331	75887	+	Proteína hipotética	99%	0	98.26
132	75896	76273	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-78	90.16
133	76515	76757	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-51	98.75
134	76754	76846	+	Proteína hipotética	58%	0.15	88.89
135	76945	77067	+	Proteína hipotética	97%	6.00E-17	87.5
136	77067	77417	+	Putativa proteína de membrana	99%	9.00E-60	90.52
137	77392	77550	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-26	90.38
138	77547	77804	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-27	57.65
139	77847	78044	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-39	98.46
140	78034	78573	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-121	93.3
141	78566	78865	+	Proteína hipotética	100%	1.00E-34	91.8
142	78859	79140	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-61	100
143	79140	79241	+	No Significancia			
144	79238	79465	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-36	97.33
145	79655	79957	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-62	89.9
146	79950	80291	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-64	89.62
147	80284	80550	+	Proteína hipotética	79%	2.00E-30	71.83
148	80582	80719	+	No Significancia			
149	80733	81137	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-86	92.54
150	81224	82591	+	Putativa ADN ligasa	99%	0	95.38
151	82588	83028	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-43	58.5
152	83083	83445	+	Putativa MazG nucleótido pirofosfohidrolasa	99%	5.00E-80	97.5
153	83445	83621	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	96.55
154	83630	83965	+	Proteína hipotética	87%	9.00E-46	71.43
155	84034	84351	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-66	99.05
156	84424	84705	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-61	98.92

157	84804	85304	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-63	65.27
158	85301	85501	+	Proteína hipotética	92%	1.00E-31	82.26
159	85501	85710	+	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-42	97.1
160	85718	85930	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-45	94.29
161	85930	86295	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-80	95.04
162	86295	86633	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-74	95.54
163	86630	86830	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-23	81.82
164	86827	87384	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-136	90
165	87368	87868	+	Putativa HNH endonucleasa	99%	4.00E-122	98.8
166	87881	88993	+	Putativa Exodeoxiribonucleasa	99%	0	98.92
167	88993	89328	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-60	91
168	89309	89932	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-151	98.55
169	89982	90524	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-130	98.33
170	90526	91038	+	Putativa endonucleasa VII de empaquetamiento y recombinación	99%	4.00E-122	99.41
171	91031	91264	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-50	100
172	91279	92361	+	Putativa ADN polimerasa II	99%	0	98.06
173	92412	92717	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-61	87.13
174	92717	93376	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-161	99.54
175	93363	93974	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-140	100
176	93974	94156	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-32	86.67
177	94172	95185	+	Putativa timidilato sintasa	99%	0	90.8
178	95267	95761	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-115	100
179	95764	95994	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-50	100
180	96013	98271	+	Ribonucleósido-difosfato reductasa	97%	0	96.05
181	98280	98450	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-31	96.43
182	98548	99645	+	Putativa ribonucleótido-difosfato reductasa subunidad beta	99%	0	99.73
183	99655	99876	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-45	98.63
184	99876	100100	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	97.3
185	100100	100387	+	Glutaredoxina	98%	3.00E-64	100
186	100398	100811	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-93	100
187	100820	101203	+	Endolisina	99%	3.00E-78	100
188	101219	101965	+	Proteína de la familia PhoH	99%	0	97.98
189	101968	102561	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-128	98.48
190	102545	102859	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	98.08
191	102870	103346	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-96	97.47
192	103346	104359	+	putativa ClpP subunidad de proteasa dependiente de ATP	99%	0	82.2
193	104359	104871	+	Putativa ADN metiltransferasa	99%	1.00E-118	96.47
194	104956	105288	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	90.91
195	105285	105506	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-45	97.26

196	105503	106822	+	Putativa ARNt nucleótildiltransferasa	99%	0	97.27
197	106785	107108	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-68	98.13
198	107105	107560	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-100	89.4
199	107562	107861	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-27	98.99
200	107858	108259	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-91	99.25
201	108259	108660	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-84	95.49
202	108748	109866	+	Putativa nucleótildiltransferasa	99%	0	97.85
203	109860	110351	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-59	57.83
204	110364	110624	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-54	96.51
205	110626	111219	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-130	89.85
206	111383	111751	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-49	61.16
207	111817	112707	+	Putativa ribosa-fosfato pirofosfoquinasa	99%	0	92.91
208	112759	114549	+	Putativa nictotinato fosforibosiltransferasa	99%	0	98.99
209	114595	114786	+	Proteína hipotética	100%	3.00E-22	83.33
210	114909	115352	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-99	95.24
211	115400	115825	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-79	82.98
212	115794	116309	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-114	91.23
213	116312	116785	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-105	94.23
214	116763	117167	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-65	75.18
215	117160	117618	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-83	84.21
216	117673	117846	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-11	61.4
217	117846	118145	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-50	86.87
218	118149	118409	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-24	55.17
219	118397	118711	+	Proteína hipotética	92%	5.00E-35	63.44
220	118761	118967	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-36	80.88
221	119103	119441	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-51	80.36
222	119438	119641	+	Proteína hipotética	97%	5.00E-08	60.61
223	119634	120134	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-76	72.22
224	120299	121462	+	Producto del gen 179	22%	3.00E-07	37.08
225	121477	122628	+	Producto del gen 179	22%	1.00E-14	48.24
226	122751	122984	+	Proteína hipotética	94%	1.00E-25	66.22
227	122984	123313	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-57	83.81
228	123442	123954	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-113	91.57
229	123938	124174	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	96.15
230	124171	124386	+	Proteína hipotética	80%	0.045	33.9
231	124522	124797	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-59	93.41
232	124978	125208	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-46	98.68
233	125208	125402	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-34	90.32
234	125399	125761	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-74	86.67
235	125758	126099	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-68	90.99

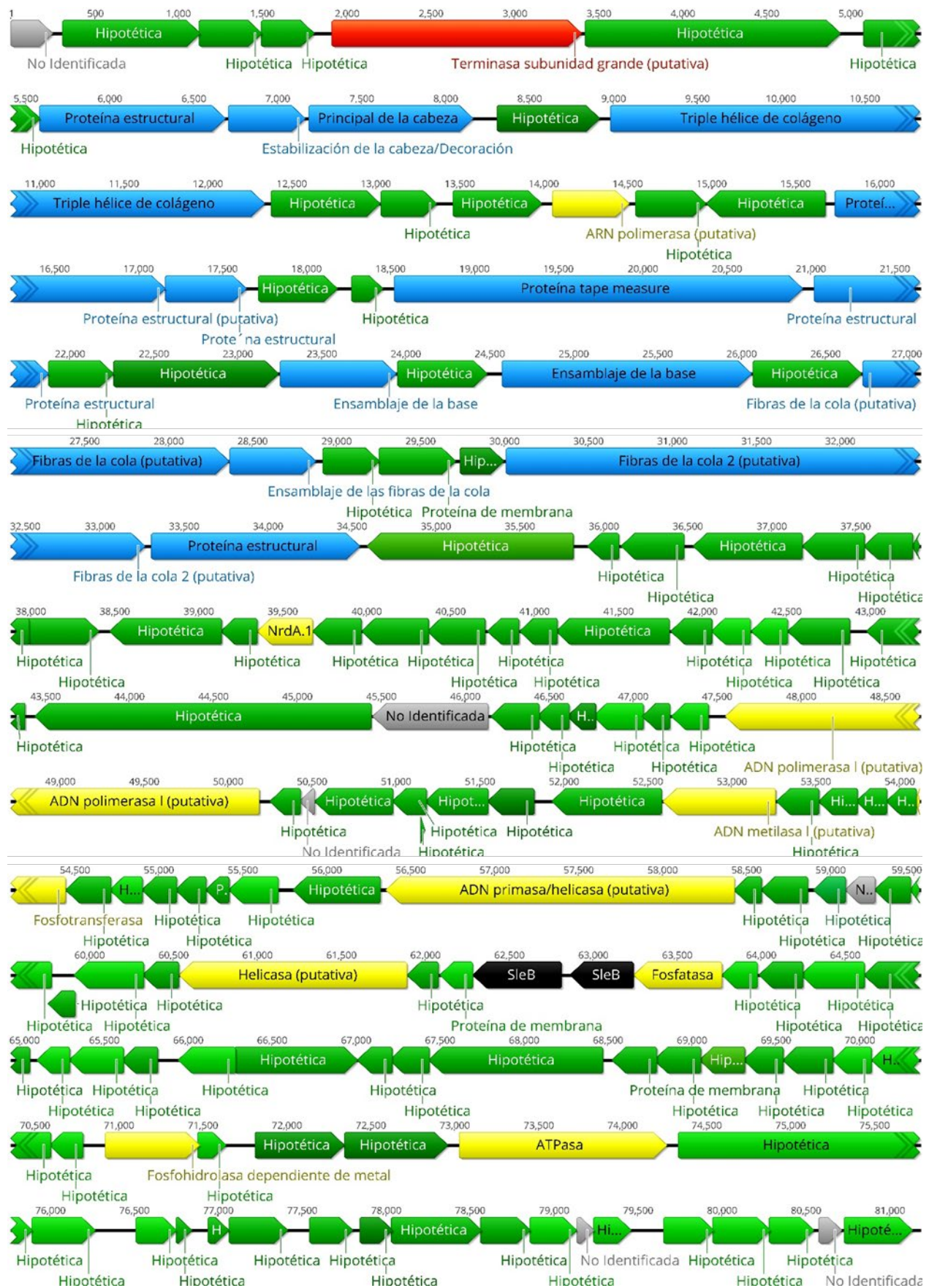
236	126092	126319	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-48	98.67
237	126321	126596	+	Proteína hipotética	95%	6.00E-57	98.86
238	126593	126820	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-46	97.33
239	126817	127089	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-42	91.11
240	127148	128008	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-161	80.21
241	128282	128620	+	No Significancia			
242	128969	129295	+	Proteína hipotética	93%	1.00E-68	98.04
243	129355	129606	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-42	97.59
244	129603	129830	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-18	65.33
245	129827	130054	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-15	49.33
246	130051	130140	+	No Significancia			
247	130142	130225	+	Proteína hipotética	89%	4.00E-04	76
248	130988	131362	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	99.19
249	133885	134010	+	No Significancia			
250	134052	134291	+	No Significancia			
251	134369	134683	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	97.12
252	134683	134928	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-47	93.83
253	136489	136860	-	Proteína hipotética	94%	2.00E-35	55.46
254	136943	137161	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-35	95.83
255	137245	137457	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.67
256	137450	137626	-	Proteína hipotética	81%	1.00E-22	89.58
257	137635	137955	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-71	94.34
258	137992	138177	-	No Significancia			
259	138177	138383	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-19	55.88
260	138380	138592	-	Proteína hipotética	85%	7.00E-17	60.66
261	138589	138726	-	No Significancia			
262	138723	138908	-	Oxidoreductasa dependiente de la molibdopterina	38%	7.4	50
263	139052	139273	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	100
264	139319	139663	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-76	95.61
265	139764	140003	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	97.47
266	140074	140304	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	96.05
267	140383	140763	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-77	94.44
268	140832	141041	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-42	100
269	141130	141519	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-68	89.92
270	141618	141839	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	84.47
271	141842	141976	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-14	81.82
272	142053	142292	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	97.47
273	142396	142815	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-84	84.89
274	142885	143037	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-26	96
275	143110	143403	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	78.57
276	143400	143543	+	No Significancia			
277	143858	144157	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-61	92.93

278	144386	144469	+	Proteína hipotética	96%	1.00E-09	96
279	144471	144941	+	Proteína hipotética	76%	1.00E-76	95.83
280	144943	145155	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-40	87.14
281	145405	145797	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-83	91.54
282	145797	146258	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-93	93.46
283	146337	146588	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	98.8
284	146625	146849	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-45	100
285	146851	147075	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-47	100
286	147086	147280	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-24	90.62
287	147277	147585	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-66	97.06
288	148167	148421	+	Proteína hipotética	85%	4.00E-54	95.24
289	148506	148865	+	Proteína hipotética	83%	5.00E-65	95

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.



azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.11 Características Genómicas del Bacteriófago F5M1E

El genoma del bacteriófago F5M1E consiste en ADN de doble cadena compuesto por 147,542 pb con un contenido de GC del 50.60% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 280 ORFs, 173 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 107 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 18**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F5M1E reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por lo tanto, el bacteriófago tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F5M1E presenta una alta similitud (90.38%) con la secuencia del bacteriófago *Cronobacter* phage PBES 02 (NCBI: KT353109.1), un fago con actividad lítica sobre *Cronobacter* sp, que pertenece a la familia *Myoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F5M1E posea una estructura icosaédrica y una cola larga contráctil típica de la familia *Myoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 43 ORFs (15.35%) son putativamente funcionales; además 225 ORFs (80.35%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 12 ORFs (4.3%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 24**).

Cuadro 16. Características de los genes del bacteriófago F5M1E y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F5M1E							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	2	622	+	Proteína hipotética	92%	1.00E-118	92.67
2	619	1725	+	Proteína estructural	99%	0	87.26
3	1743	2201	+	Putativa proteína de estabilización de la cabeza/decoración	99%	2.00E-88	86.84
4	2222	3220	+	Putativa proteína principal de la cabeza	99%	0	96.69
5	3341	3955	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	97.55
6	4016	7369	+	Putativa proteína que contiene repeticiones de triple hélice de colágeno	94%	0	79.41
7	7410	8060	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-151	94.91
8	8062	8394	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-28	86.36
9	8492	9019	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	98.29
10	9082	9543	+	Putativa ARN polimerasa	99%	1.00E-106	97.39
11	9554	10000	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-103	96.62
12	10000	10707	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-153	98.72
13	10768	12189	+	Putativa proteína estructural 1	99%	0	94.71
14	12193	12675	+	Proteína estructural	90%	1.00E-99	99.32
15	12747	13214	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-97	87.97
16	13301	13486	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-31	95.08
17	13554	15986	+	Putativa proteína cinta métrica	99%	0	89.16
18	16053	16907	+	Proteína estructural	99%	1.00E-171	90.81
19	16910	17296	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-76	89.43
20	17296	18276	+	Proteína hipotética	99%	0	93.03
21	18286	18978	+	Putativa proteína de ensamblaje de la base	99%	2.00E-141	80.57
22	18987	19520	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-115	97.74
23	19610	21094	+	Putativa proteína de ensamblaje de la base	99%	0	97.57
24	21104	21748	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-136	94.86
25	21759	23396	+	Putativa proteína de las fibras de la cola 1	99%	0	86.93
26	23399	23911	+	Proteína de ensamblaje de la cola	99%	1.00E-69	60.82
27	23953	24291	+	Putativa proteína de membrana	99%	3.00E-68	95.54
28	24288	24746	+	Putativa proteína de membrana	92%	3.00E-83	93.62
29	24770	25033	+	Putativa proteína de membrana	98%	8.00E-55	96.55
30	25046	28306	+	Putativa proteína de las fibras de la cola 2	99%	0	80.48
31	28345	29586	+	Proteína estructural	99%	0	92.98

32	29629	30855	-	Proteína hipotética	96%	0	94.66
33	30941	31126	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-20	91.8
34	31139	31513	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-87	100
35	31569	32219	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-91	65.12
36	32219	32590	-	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	85.12
37	32587	32877	-	Proteína hipotética	85%	3.00E-40	73.81
38	32874	33026	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-21	84
39	33020	33442	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-78	83.57
40	33506	34174	-	Proteína hipotética	78%	8.00E-65	73.66
41	34171	34386	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-28	95.77
42	34386	34715	-	Proteína NrdA.1	99%	7.00E-72	93.58
43	34715	35005	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-52	98.96
44	35006	35407	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-91	97.74
45	35397	35744	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-68	93.04
46	35756	35941	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.72
47	35950	36171	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	100
48	36165	36839	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-164	97.77
49	36849	37094	-	Proteína hipotética	97%	1.00E-45	88.75
50	37091	37324	-	Proteína hipotética	94%	2.00E-19	49.33
51	37326	37544	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	80.56
52	37544	37912	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-82	96.72
53	38015	38413	-	Proteína hipotética	89%	2.00E-75	98.32
54	38474	40477	-	Proteína hipotética	99%	0	96.7
55	40487	41173	-	No Significancia			
56	41190	41474	-	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	77.42
57	41464	41655	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-36	93.65
58	41645	41812	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-31	100
59	41799	42095	-	Proteína hipotética	88%	1.00E-23	52.27
60	42088	42255	-	Proteína hipotética	96%	0.054	36.36
61	42265	42486	-	Proteína hipotética	85%	9.00E-13	53.97
62	42587	45223	-	Putativa ADN polimerasa I	99%	0	98.52
63	45286	45465	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-35	100
64	45458	45550	-	No Significancia			
65	45550	46017	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	91.61
66	46014	46217	-	Proteína hipotética	95%	2.00E-22	78.46
67	46210	46584	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-82	94.35
68	46581	46859	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-58	91.3
69	46963	47616	-	Proteína hipotética	99%	8.00E-147	94.93
70	47627	48298	-	Putativa ADN metilasa I	99%	2.00E-163	97.31
71	48300	48554	-	Proteína hipotética	97%	2.00E-39	75.9
72	48551	48784	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-22	54.55
73	48777	48959	-	Proteína hipotética	96%	8.00E-32	91.53
74	48956	49132	-	Proteína hipotética	96%	3.00E-21	64.91

75	49125	49481	-	Proteína hipotética	44%	1.2	42.11
76	49478	49750	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	85.56
77	49743	49937	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-40	100
78	49934	50140	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-42	98.53
79	50133	50315	-	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	98.33
80	50312	50452	-	Putativa proteína de membrana	91%	1.00E-09	60.47
81	50449	50745	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-62	94.9
82	50835	51353	-	Proteína hipotética	90%	2.00E-112	100
83	51390	53462	-	Putativa ADN primasa/helicasa	99%	0	97.68
84	53459	53623	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-29	94.44
85	53623	53898	-	Proteína hipotética	98%	8.00E-59	100
86	53934	54125	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-38	98.41
87	54122	54301	-	No Significancia			
88	54298	54513	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	100
89	54510	54809	-	Proteína hipotética	88%	2.00E-45	95.45
90	54787	54951	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-12	90.74
91	54944	55357	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	95.62
92	55350	55568	-	Proteína hipotética	100%	8.00E-41	93.15
93	55565	56926	-	Putativa helicasa	99%	0	96.91
94	56926	57111	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-34	98.36
95	57121	57318	-	Putativa proteína de membrana	98%	1.00E-30	84.62
96	57315	57845	-	Hidrolasa de la pared celular SleB	99%	4.00E-107	96.02
97	57895	58275	-	Proteína hipotética	99%	6.00E-87	99.21
98	58277	58798	-	Putativa fosfatasa	99%	4.00E-112	89.02
99	58800	59012	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-42	91.43
100	59021	59281	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-42	93.02
101	59271	59648	-	Proteína hipotética	99%	2.00E-80	92
102	59645	60091	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-93	89.8
103	60135	60326	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-25	73.02
104	60326	60649	-	Proteína hipotética	99%	7.00E-69	94.39
105	60636	60773	-	Proteína hipotética	91%	9.00E-21	97.62
106	60973	61317	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-76	99.12
107	61314	62045	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-177	99.17
108	62042	62248	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-40	98.53
109	62235	62471	-	Proteína hipotética	98%	9.00E-50	98.72
110	62468	63502	-	Proteína hipotética	95%	5.00E-81	42.65
111	63560	63823	-	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-50	96.55
112	63807	64088	-	Proteína hipotética	98%	7.00E-64	97.85
113	64078	64350	-	Proteína hipotética	75%	5.00E-22	67.14
114	64340	64576	-	Proteína hipotética	93%	2.00E-37	82.43
115	64827	65108	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-61	98.92
116	65207	65707	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-63	65.27
117	65704	65904	+	Proteína hipotética	92%	1.00E-31	82.26

118	65904	66113	+	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-42	97.1
119	66121	66333	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-45	94.29
120	66333	66698	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-80	95.04
121	66698	67036	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-74	95.54
122	67033	67233	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-23	81.82
123	67230	67787	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-136	100
124	67771	68271	+	Putativa HNH endonucleasa	99%	4.00E-122	98.8
125	68284	69396	+	Putativa Exodeoxiribonucleasa	99%	0	98.92
126	69396	69731	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-60	91
127	69712	70335	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-151	98.55
128	70385	70927	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-130	98.33
129	70929	71441	+	Endonucleasa VII de empaquetamiento y recombinación	99%	4.00E-122	99.41
130	71434	71667	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-50	100
131	71682	72764	+	Putativa ADN polimerasa II	99%	0	98.06
132	72815	73120	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-61	87.13
133	73120	73779	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-161	99.54
134	73766	74377	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-140	100
135	74377	74559	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-32	86.67
136	74575	75588	+	Putativa timidilato sintasa	99%	0	90.8
137	75670	76164	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-115	100
138	76167	76397	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-50	100
139	76416	78674	+	Ribonucleósido-difosfato reductasa	97%	0	96.05
140	78951	80048	+	Putativo Ribonucleótido-difosfato reductasa subunidad beta	99%	0	99.73
141	80058	80279	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-45	98.63
142	80279	80503	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	97.30
143	80503	80790	+	Glutaredoxina	98%	3.00E-64	100
144	80801	81214	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-93	100
145	81223	81606	+	Endolisina	99%	3.00E-78	100
146	81622	82368	+	Proteína de la familia PhoH	99%	0	97.98
147	82371	82964	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-128	98.48
148	82948	83262	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	98.08
149	83273	83749	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-96	97.47
150	83749	84762	+	putativa ClpP subunidad de proteasa dependiente de ATP	99%	0	82.2
151	84762	85274	+	Putativa ADN metiltransferasa	99%	1.00E-118	96.47
152	85359	85691	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	90.91
153	85688	85909	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-45	97.26
154	85906	87225	+	Putativa ARNt nucleótidiltransferasa	99%	0	97.27
155	87188	87511	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-68	98.13
156	87508	87963	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-100	89.4

157	87965	88264	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-27	98.99
158	88420	88788	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-49	61.16
159	88854	89744	+	Putativa ribosa-fosfato pirofosfoquinasa	99%	0	92.91
160	89796	91586	+	Putativo nictotinato fosforibosiltransferasa	99%	0	98.99
161	91632	91880	+	Proteína hipotética	100%	3.00E-22	83.33
162	91947	92177	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-43	88.16
163	92177	92704	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	62.86
164	92697	92894	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-41	98.53
165	93027	93590	+	Putativa Fosfohidrolasa dependiente del metal	99%	2.00E-121	89.3
166	93580	93747	+	Proteína hipotética	96%	1.00E-20	75.93
167	93737	93925	+	Proteína hipotética	98%	0.003	39.71
168	93922	94452	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-101	86.36
169	94455	95069	+	Proteína hipotética	82%	2.00E-103	98.22
170	95135	96373	+	Putativa ATPasa	99%	0	97.82
171	96440	97996	+	Proteína hipotética	99%	0	98.26
172	98005	98382	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-78	90.16
173	98624	98866	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-51	98.75
174	98863	98955	+	Proteína hipotética	58%	0.15	88.89
175	99054	99176	+	Proteína hipotética	97%	6.00E-17	87.5
176	99176	99526	+	Putativa proteína de membrana	99%	9.00E-60	90.52
177	99501	99659	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-26	90.38
178	99656	99913	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-27	57.65
179	100051	100422	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-73	87.8
180	100422	100736	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	98.08
181	100842	102329	+	Putativa terminasa subunidad grande	99%	0	99.6
182	102348	103871	+	Proteína hipotética	96%	0	97.76
183	104060	104341	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-61	100
184	104341	104442	+	No Significancia			
185	104439	104666	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-36	97.33
186	104856	105158	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-62	89.9
187	105151	105492	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-64	89.62
188	105485	105751	+	Proteína hipotética	79%	2.00E-30	71.83
189	105783	105920	+	No Significancia			
190	105934	106338	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-86	92.54
191	106425	107792	+	Putativa ADN ligasa	99%	0	95.38
192	107789	108229	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-43	58.5
193	108284	108646	+	putativa MazG nucleótido pirofosfohidrolasa	99%	5.00E-80	97.5
194	108646	108822	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	96.55

195	108831	109166	+	Proteína hipotética	87%	9.00E-46	71.43
196	109235	109552	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-66	99.05
197	109734	109904	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-28	87.5
198	109956	111119	+	Producto del gen 179	22%	3.00E-07	37.08
199	111250	111843	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-130	89.85
200	111845	112105	-	Proteína hipotética	98%	4.00E-54	96.51
201	112118	112609	-	Proteína hipotética	99%	6.00E-59	57.83
202	112603	113721	-	Putativa nucleótidiltransferasa	99%	0	97.85
203	113809	114210	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-84	95.49
204	114210	114611	-	Proteína hipotética	99%	9.00E-91	99.25
205	114608	114727	-	Proteína hipotética	77%	2.00E-11	100
206	114726	115877	+	Producto del gen 179	21%	1.00E-14	48.24
207	116000	116233	+	Proteína hipotética	94%	1.00E-25	66.22
208	116233	116562	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-57	83.81
209	116691	117203	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-116	91.76
210	117187	117423	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-49	96.15
211	117420	117635	+	Proteína hipotética	80%	0.045	33.9
212	117797	118027	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-46	98.68
213	118027	118221	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-34	90.32
214	118218	118580	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-74	86.67
215	118577	118918	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-68	90.99
216	118911	119138	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-48	98.67
217	119140	119415	+	Proteína hipotética	95%	6.00E-57	98.86
218	119412	119639	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-46	97.33
219	119636	119908	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-42	91.11
220	119967	120827	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-161	80.21
221	121101	121439	+	No Significancia			
222	121788	122420	+	Proteína hipotética	100%	4.00E-72	98.11
223	122851	123105	+	No Significancia			
224	123153	123446	-	Proteína hipotética	100%	1.00E-34	91.8
225	123439	123978	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-121	93.3
226	123968	124165	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-39	98.46
227	124344	124595	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-42	97.59
228	124592	124819	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-18	65.33
229	124816	125043	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-15	49.33
230	125040	125129	+	No Significancia			
231	125131	125214	+	Proteína hipotética	89%	4.00E-04	76
232	125977	126351	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	99.19
233	128874	128996	+	No Significancia			
234	129260	129631	-	Proteína hipotética	94%	2.00E-35	55.46
235	129714	129932	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-35	95.83
236	130016	130228	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-42	95.71
237	130221	130397	-	Proteína hipotética	81%	1.00E-22	89.58

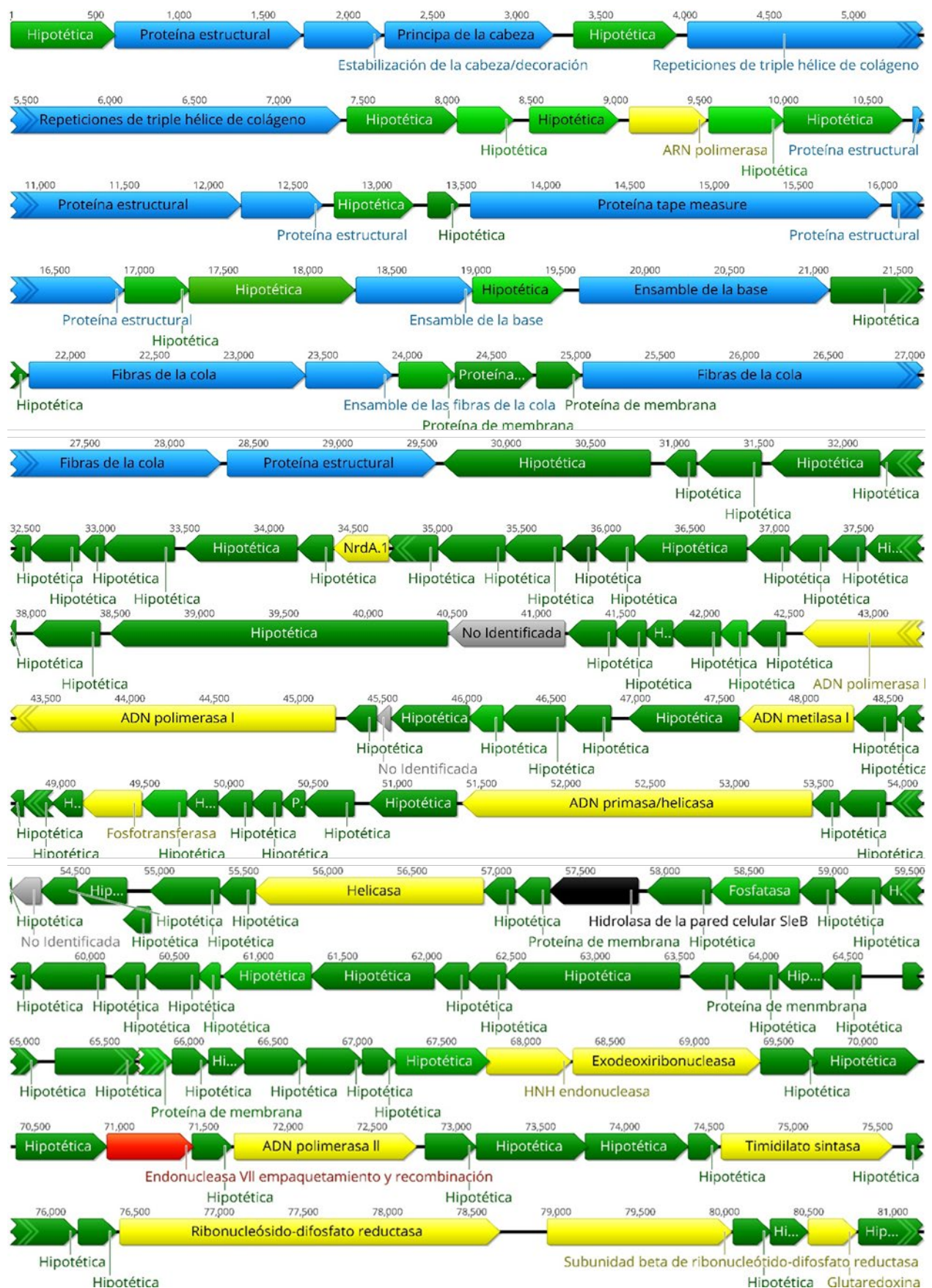
238	130608	131051	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-99	95.24
239	131099	131524	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-79	82.98
240	131493	132008	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-114	91.23
241	132011	132484	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-105	94.23
242	132622	133089	-	Proteína hipotética	97%	8.00E-62	69.23
243	133082	133285	-	Proteína hipotética	97%	5.00E-08	60.61
244	133282	133620	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-51	80.36
245	134113	134502	+	Proteína hipotética	96%	4.00E-09	100
246	134601	134822	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-40	85.71
247	134825	134959	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-14	81.82
248	135036	135275	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	97.47
249	135379	135798	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-84	84.89
250	135868	136020	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-26	96
251	136093	136386	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	78.57
252	136383	136526	+	No Significancia			
253	136841	137140	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-61	92.93
254	137137	137376	+	No Significancia			
255	137381	137773	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-83	91.54
256	137773	138234	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-93	93.46
257	138313	138564	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	98.8
258	138623	138865	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-52	86.52
259	138858	139316	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-83	84.21
260	139371	139544	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-11	61.4
261	139544	139843	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-50	86.87
262	139847	140107	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-24	55.17
263	140107	140409	+	Proteína hipotética	92%	5.00E-35	63.44
264	140711	140932	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	100
265	140978	141322	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-76	95.61
266	141423	141662	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	97.47
267	141733	141963	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	96.05
268	142042	142422	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-77	94.44
269	142491	142727	+	Proteína hipotética	100%	5.00E-42	100
270	142819	143133	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	97.12
271	143734	143988	+	Proteína hipotética	92%	3.00E-54	95.24
272	144073	144423	+	Proteína hipotética	86%	4.00E-65	95
273	144452	144658	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-19	55.88
274	144655	144867	-	Proteína hipotética	85%	7.00E-17	60.66
275	144864	145001	-	No Significancia			
276	144998	145183	-	Oxidoreductasa dependiente de la molibdopterina	38%	7.5	50
277	145260	145484	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-46	100
278	145486	145710	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-47	100
279	145721	145915	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-24	90.62

280	145912	146220	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-66	97.06
-----	--------	--------	---	---------------------	-----	----------	-------

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.



azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.12 Características Genómicas del Bacteriófago F5M2A

El genoma del bacteriófago F5M2A consiste en ADN de doble cadena compuesto por 149,428 pb con un contenido de GC del 50.60% como se muestra en el **cuadro 5**. En total, el genoma del bacteriófago contiene 292 ORFs, 274 de los cuales son transcritos en la cadena directa y 18 en la cadena complementaria. Los datos detallados de la anotación del genoma del fago (posición, dirección y posible función de cada gen) se resumen en el **cuadro 19**.

El análisis bioinformático de la secuencia del bacteriófago F5M2A reveló que el genoma del fago carece de genes que codifiquen para factores de resistencia a los antibióticos y factores de virulencia; además, sigue el ciclo lítico de replicación infectando a bacterias Gram negativas. Por lo tanto, el bacteriófago tiene potencial para ser utilizado como control biológico. El genoma del bacteriófago F5M2A presenta una alta similitud (90.38%) con la secuencia del bacteriófago *Cronobacter* phage PBES 02 (NCBI: KT353109.1), un fago con actividad lítica sobre *Cronobacter* sp, que pertenece a la familia *Myoviridae*. Por lo tanto, existe una alta probabilidad que el fago F5M2A posea una estructura icosaédrica y una cola larga contráctil típica de la familia *Myoviridae*.

Con base en similitudes de la secuencia, en los dominios de las proteínas y principalmente por búsquedas en BLAST, se determinó que solo 43 ORFs (14.73%) son putativamente funcionales; además 237 ORFs (81.16%) fueron catalogados como proteínas hipotéticas, mientras que los 12 ORFs (4.11%) restantes no fueron identificados, lo cual puede traducirse en una falta de conocimiento acerca de la funcionalidad de las proteínas codificadas por los genomas de los fagos en las bases de datos. Además, el análisis bioinformático reveló que el genoma del bacteriófago se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales: proteínas estructurales (flechas azules), de metabolismo (flechas amarillas), empaquetamiento de ADN (flechas rojas) y lisis del hospedero (flechas negras) (**figura 25**).

Cuadro 17. Características de los genes del bacteriófago F5M2A y función putativa de las proteínas predichas

ORFs F5M2A							
Gen	Inicio	Paro	Dirección	Función molecular predicha	Query Cover	Valor E	% Identidad
1	2	256	+	No Significancia			
2	316	1137	+	Proteína hipotética	36%	7.00E-14	53.92
3	1130	1501	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-73	87.8
4	1501	1815	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	98.08
5	1921	3408	+	Putativa terminasa subunidad grande	99%	0	99.6
6	3427	4950	+	Proteína hipotética	99%	0	97.59
7	5089	5595	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-118	92.67
8	5592	6698	+	Proteína estructural	99%	0	87.26
9	6716	7174	+	Proteína de estabilización de la cabeza/decoración	99%	3.00E-87	86.18
10	7195	8193	+	Putativa proteína principal de la cápside	99%	0	96.69
11	8314	8928	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	97.55
12	8989	12342	+	Putativa proteína que contiene repeticiones de triple hélice de colágeno	94%	0	79.41
13	12383	13033	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-151	94.91
14	13035	13367	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-28	86.36
15	13465	13992	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-124	98.29
16	14055	14516	+	Putativa ARN polimerasa	99%	1.00E-106	97.39
17	14551	14973	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-98	97.86
18	14973	15680	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-153	98.72
19	15741	17162	+	Putativa proteína estructural 1	99%	0	94.71
20	17166	17648	+	Proteína estructural	90%	1.00E-99	99.32
21	17720	18187	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-97	87.97
22	18274	18459	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-31	95.08
23	18527	20959	+	Putativa proteína cinta métrica	99%	0	89.16
24	21026	21880	+	Proteína estructural	99%	1.00E-171	90.81
25	21883	22269	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-76	89.43
26	22269	23249	+	Proteína hipotética	99%	0	92.97
27	23259	23951	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-142	80.97
28	23960	24493	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-115	97.74
29	24583	26067	+	Proteína hipotética	99%	0	97.57
30	26077	26721	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-136	94.86
31	26732	28369	+	Putativa proteína de las fibras de la cola	99%	0	86.93
32	28372	28884	+	Proteína de ensamblaje de las fibras de la cola	99%	1.00E-69	60.82

33	28926	29264	+	Putativa proteína de membrana	99%	3.00E-68	95.54
34	29261	29719	+	Putativa proteína de membrana	92%	3.00E-83	93.62
35	29743	30006	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-55	96.55
36	30019	33279	+	Putativa proteína de las fibras de la cola 2	99%	0	80.48
37	33318	34559	+	Proteína estructural	99%	0	92.98
38	34758	35792	+	Proteína hipotética	91%	8.00E-81	42.65
39	35789	36025	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-50	98.72
40	36012	36218	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-38	98.48
41	36215	36946	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-177	99.17
42	36943	37287	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-76	99.12
43	37406	37624	+	Proteína hipotética	94%	6.00E-42	97.1
44	37611	37934	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-69	94.39
45	37934	38125	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-25	73.02
46	38169	38615	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-93	89.8
47	38612	38989	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-80	92
48	38979	39239	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-42	93.02
49	39248	39460	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-42	91.43
50	39462	39983	+	Putativa fosfatasa	99%	4.00E-112	89.02
51	39985	40365	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-87	99.21
52	40415	40945	+	SleB	99%	4.00E-107	96.02
53	40942	41139	+	Putativa proteína de membrana	98%	1.00E-30	84.62
54	41149	41334	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-34	98.36
55	41334	42695	+	Putativa helicasa	99%	0	96.91
56	42692	42910	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	95.62
57	42903	43316	+	Proteína hipotética	98%	9.00E-12	90.74
58	43309	43473	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	95.62
59	43451	43750	+	Proteína hipotética	88%	2.00E-45	95.45
60	43747	43962	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	100
61	43959	44138	+	No Significancia			
62	44135	44326	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-38	98.41
63	44362	44637	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-59	100
64	44637	44801	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-29	94.44
65	44798	46870	+	Putativa ADN Primasa/helicasa	99%	0	97.68
66	46907	47425	+	Proteína hipotética	90%	2.00E-112	100
67	47515	47811	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-60	94.68
68	47808	47948	+	Putativa proteína de membrana	91%	1.00E-09	60.47
69	47945	48127	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	98.33
70	48120	48326	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-42	98.53
71	48323	48517	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-40	100
72	48510	48782	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-47	85.06
73	48779	49135	+	Fosfotransferasa	44%	1.2	42.11
74	49128	49304	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-21	64.91

75	49301	49483	+	Proteína hipotética	96%	8.00E-32	91.53
76	49476	49709	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-22	54.55
77	49706	49960	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-39	75.9
78	49962	50633	+	Putativa ADN metilasa 1	99%	2.00E-163	97.31
79	50644	51297	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-147	94.93
80	51401	51679	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-58	91.3
81	51676	52050	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-82	94.35
82	52043	52246	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-22	78.46
83	52243	52710	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-92	91.61
84	52710	52802	+	No Significancia			
85	52795	52974	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-35	100
86	53037	55673	+	Putativa ADN polimerasa I	99%	0	98.52
87	55774	55995	+	Proteína hipotética	85%	9.00E-13	53.97
88	56005	56172	+	Proteína hipotética	96%	0.054	36.36
89	56165	56461	+	Proteína hipotética	88%	1.00E-23	52.27
90	56448	56615	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-31	100
91	56605	56796	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-36	93.65
92	56786	57070	+	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	77.42
93	57087	57773	+	No Significancia			
94	57783	59786	+	Proteína hipotética	99%	0	96.7
95	59847	60245	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-75	98.32
96	60348	60716	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-82	96.72
97	60716	60934	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	80.56
98	60936	61169	+	Proteína hipotética	94%	2.00E-19	49.33
99	61166	61411	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-45	88.75
100	61421	62095	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-164	97.77
101	62089	62310	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	100
102	62319	62504	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.72
103	62516	62863	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-68	93.04
104	62853	63254	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-91	97.74
105	63255	63545	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-52	98.96
106	63545	63874	+	Proteína NrdA.1	99%	7.00E-72	93.58
107	63874	64089	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-28	95.77
108	64086	64754	+	Proteína hipotética	78%	8.00E-65	73.66
109	64818	65240	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-78	83.57
110	65234	65386	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-21	84
111	65383	65673	+	Proteína hipotética	85%	3.00E-40	73.81
112	65670	66041	+	Proteína hipotética	97%	3.00E-46	85.12
113	66041	66691	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-91	65.12
114	66744	67121	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-87	100
115	67134	67319	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-20	91.8
116	67405	68631	+	Proteína hipotética	96%	0	94.66
117	68716	68997	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-61	98.92

118	69096	69596	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-63	65.27
119	69593	69793	+	Proteína hipotética	92%	1.00E-31	82.26
120	69793	70002	+	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-42	97.1
121	70010	70222	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-45	94.29
122	70222	70587	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-80	95.04
123	70587	70925	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-74	95.54
124	70922	71122	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-23	81.82
125	71119	71676	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-136	100
126	71660	72160	+	Putativa HNH Endonucleasa	99%	4.00E-122	98.8
127	72173	73285	+	Putativa Exodeoxiribonucleasa	99%	0	98.92
128	73285	73620	+	Proteína hipotética	89%	2.00E-60	91
129	73601	74224	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-139	98.44
130	74274	74816	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-130	98.33
131	74818	75330	+	Putativa endonucleasa VII de empaquetamiento y recombinación	99%	4.00E-122	99.41
132	75323	75556	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-50	100
133	75571	76653	+	Putativa ADN polimerasa II	99%	0	98.06
134	76704	77009	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-61	87.13
135	77009	77668	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-161	99.54
136	77655	78266	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-140	100
137	78266	78448	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-32	86.67
138	78464	79477	+	Putativa timidilato sintasa	99%	0	90.8
139	79559	80053	+	Proteína hipotética	99%	8.00E-115	100
140	80056	80286	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-50	100
141	80305	82563	+	Ribonucleósido-difosfato reductasa	97%	0	96.05
142	82840	83937	+	Putativa ribonucleótido-difosfato reductasa subunidad beta	99%	0	99.73
143	83947	84168	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-50	100
144	84168	84392	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-45	97.3
145	84392	84679	+	Glutaredoxina	98%	3.00E-64	100
146	84690	85103	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-93	100
147	85112	85495	+	Endolisina	99%	3.00E-78	100
148	85511	86257	+	Proteína de la familia PhoH	99%	0	97.98
149	86260	86853	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-128	98.48
150	86837	87151	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	98.08
151	87162	87638	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-96	97.47
152	87638	88651	+	Putativa ClpP subunidad de proteasa dependiente de ATP	99%	0	82.20
153	88651	89163	+	Putativa ADN metiltransferasa	99%	1.00E-118	96.47
154	89248	89580	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-69	90.91
155	89577	89798	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-45	97.26

156	89795	91114	+	Putativa ARNt nucleótidiltransferasa	99%	0	97.27
157	91077	91400	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-68	98.13
158	91397	91852	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-100	89.4
159	91854	92153	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-27	98.99
160	92150	92551	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-91	99.25
161	92551	92952	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-84	95.49
162	93040	94158	+	Putativa nucleótidiltransferasa	99%	0	97.85
163	94152	94643	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-59	57.83
164	94656	94916	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-54	96.51
165	94918	95511	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-130	89.85
166	95608	97398	+	Putativa nictotinato fosforibosiltransferasa	98%	0	98.99
167	97545	97748	-	Proteína hipotética	98%	4.00E-16	60
168	97745	97975	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-43	88.16
169	97975	98502	-	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	62.86%
170	98495	98692	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-41	98.53%
171	98825	99388	+	Putativa Fosfohidrolasa dependiente del metal	99%	2.00E-121	89.30%
172	99378	99545	+	Proteína hipotética	96%	1.00E-20	75.93%
173	99535	99723	+	Proteína hipotética	98%	0.003	39.71%
174	99720	100250	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-101	86.36%
175	100253	100867	+	Proteína hipotética	82%	2.00E-103	98.22%
176	100933	102171	+	Putativa ATPasa	99%	0	97.82%
177	102238	103794	+	Proteína hipotética	99%	0	98.26%
178	103803	104180	+	Proteína hipotética	96%	3.00E-78	90.16%
179	104422	104664	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-51	98.75%
180	104661	104753	+	Proteína hipotética	58%	0.15	88.89%
181	104852	104974	+	Proteína hipotética	97%	6.00E-17	87.50%
182	104974	105324	+	Putativa proteína de membrana	99%	9.00E-60	90.52%
183	105299	105457	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-26	90.38%
184	105454	105711	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-27	57.65%
185	105754	105843	+	Proteína hipotética	76%	7.00E-06	95.65%
186	105886	106167	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-61	100.00%
187	106167	106268	+	No Significancia			
188	106265	106492	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-36	97.33%
189	106682	106984	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-62	89.90%
190	106977	107318	+	Proteína hipotética	92%	2.00E-64	89.62%
191	107311	107577	+	Proteína hipotética	79%	2.00E-30	71.83%
192	107609	107746	+	No Significancia			
193	107760	108164	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-86	92.54%
194	108251	109618	+	Putativa ADN ligasa	99%	0	95.38%
195	109615	110055	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-43	58.50%

196	110110	110472	+	Putativa MazG nucleótido pirofosfohidrolasa	99%	5.00E-80	97.50%
197	110472	110648	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-34	96.55%
198	110657	110992	+	Proteína hipotética	87%	9.00E-46	71.43%
199	111061	111378	+	Proteína hipotética	99%	7.00E-66	99.05%
200	111507	111668	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-40	87.50%
201	111661	112119	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-83	84.21%
202	112174	112347	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-11	61.40%
203	112347	112646	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-50	86.87%
204	112650	112910	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-24	55.17%
205	112898	113212	+	Proteína hipotética	92%	5.00E-35	63.44%
206	113262	113468	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-36	80.88%
207	113604	113942	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-51	80.36%
208	113939	114142	+	Proteína hipotética	97%	5.00E-08	60.61%
209	114135	114635	+	Proteína hipotética	97%	1.00E-76	72.22%
210	114800	115963	+	producto del gen 179	22%	3.00E-07	37.08%
211	115978	117129	+	producto del gen 179	15%	5.00E-08	54.72%
212	117252	117485	+	Proteína hipotética	94%	1.00E-25	66.22%
213	117485	117814	+	Proteína hipotética	95%	1.00E-57	83.81%
214	117943	118455	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-116	91.76%
215	118439	118675	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-33	98.21%
216	118672	118887	+	Proteína hipotética	80%	0.045	33.90%
217	119051	119419	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-49	61.16%
218	119485	120375	+	Putativa ribosa-fosfato pirofosfoquinasa	99%	0	92.91%
219	120427	120519	+	Putativa nicotinamida fosforibosil transferasa	77%	4.00E-08	91.67%
220	120523	120720	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-39	98.46%
221	120710	121249	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-121	93.30%
222	121242	121451	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-40	91.30%
223	121530	121760	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-46	98.68%
224	121760	121954	+	Proteína hipotética	95%	2.00E-34	90.32%
225	121951	122313	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-74	86.67%
226	122310	122651	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-68	90.99%
227	122644	122871	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-48	98.67%
228	122873	123148	+	Proteína hipotética	95%	6.00E-57	98.86%
229	123145	123372	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-46	97.33%
230	123369	123641	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-42	91.11%
231	123700	124560	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-161	80.21%
232	124834	125172	+	No Significancia			
233	125488	125739	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-42	97.59%
234	125736	125963	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-18	65.33%
235	125960	126187	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-15	49.33%
236	126184	126273	+	No Significancia			

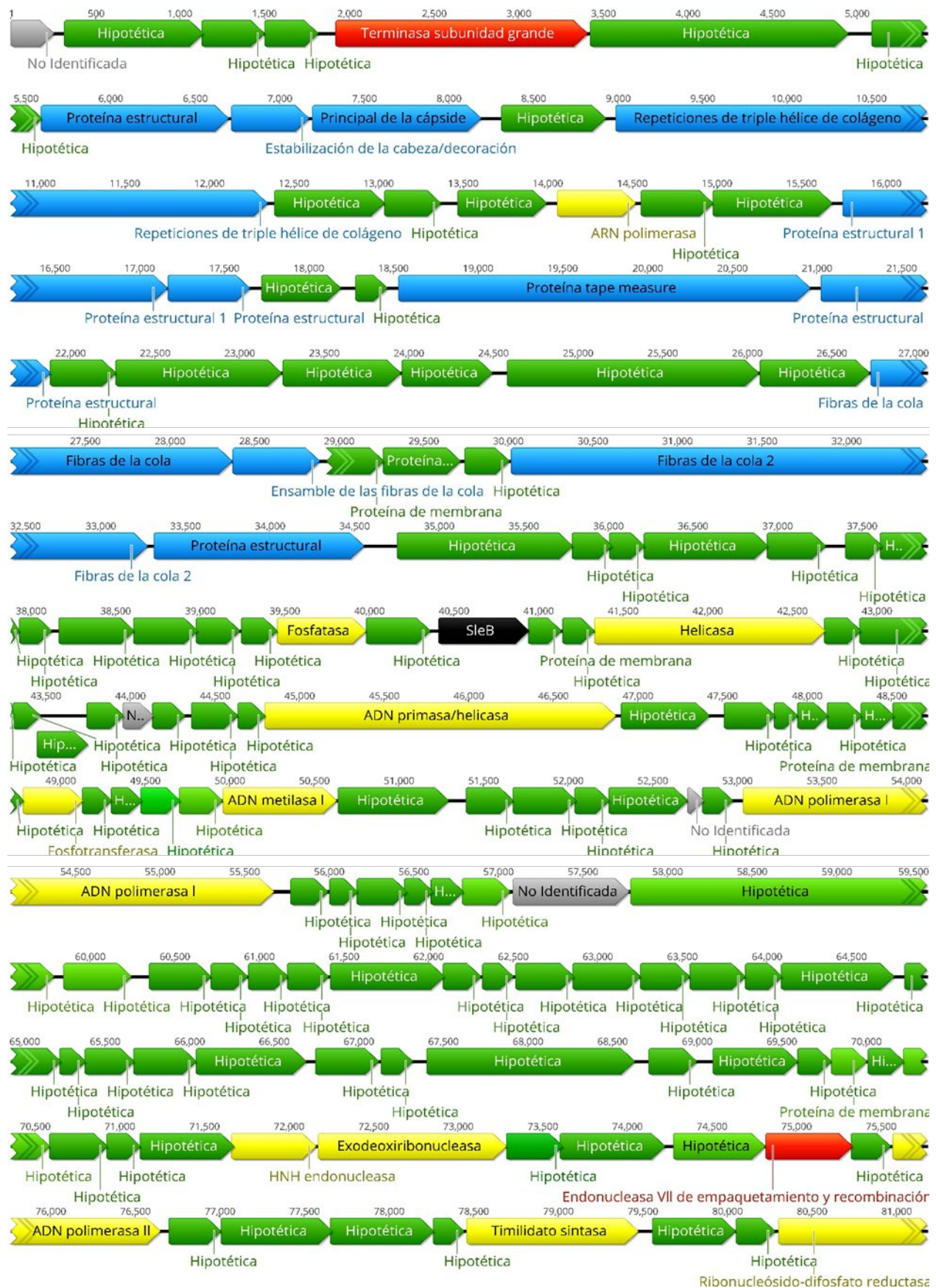
237	126275	126358	+	Proteína hipotética	90%	2.00E-04	50.00%
238	127121	127495	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-71	99.19%
239	130018	130158	+	No Significancia			
240	130301	130744	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-99	95.24%
241	130792	131217	+	Proteína hipotética	99%	5.00E-79	82.98%
242	131186	131701	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-114	91.23%
243	131704	132177	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-105	94.23%
244	132155	132430	+	Proteína hipotética	97%	3.00E-35	74.19%
245	133615	133986	-	Proteína hipotética	94%	2.00E-35	55.46%
246	134069	134287	-	Proteína hipotética	98%	5.00E-35	95.83%
247	134371	134583	-	Proteína hipotética	98%	2.00E-34	96.67%
248	134576	134752	-	Proteína hipotética	81%	1.00E-22	89.58%
249	134865	135104	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	96.05%
250	135175	135405	+	Proteína hipotética	98%	5.00E-48	96.05%
251	135484	135864	+	Proteína hipotética	99%	2.00E-77	94.44%
252	135933	136142	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-42	100.00%
253	136231	136620	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-68	89.92%
254	136719	136940	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	84.47%
255	136943	137077	+	Proteína hipotética	97%	2.00E-14	81.82%
256	137154	137393	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-48	97.47%
257	137497	137916	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-84	84.89%
258	137986	138138	+	Proteína hipotética	98%	1.00E-26	96.00%
259	138211	138504	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-50	78.57%
260	138501	138644	+	No Significancia			
261	138716	139066	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-53	92.77%
262	139068	139538	+	Proteína hipotética	76%	1.00E-76	95.83%
263	139540	139836	+	Proteína hipotética	98%	8.00E-32	91.07%
264	139841	140233	+	Proteína hipotética	99%	4.00E-83	91.54%
265	140233	140694	+	Proteína hipotética	99%	1.00E-93	93.46%
266	140773	141024	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-51	98.80%
267	141146	141466	-	Proteína hipotética	99%	3.00E-71	94.34%
268	141503	141688	-	No Significancia			
269	141688	141894	-	Proteína hipotética	98%	3.00E-19	55.88%
270	141891	142103	-	Proteína hipotética	85%	7.00E-17	60.66%
271	142100	142237	-	No Significancia			
272	142234	142419	-	Oxidoreductasa dependiente de la molibdopterina	38%	7.5	50.00%
273	142554	142991	+	Proteína hipotética	100%	7.00E-90	87.59%
274	143005	143244	+	No Significancia			
275	143322	143636	+	Proteína hipotética	99%	6.00E-70	97.12%
276	143636	143881	+	Proteína hipotética	98%	6.00E-47	93.83%
277	144290	144511	+	Proteína hipotética	98%	2.00E-43	100.00%
278	144557	144901	+	Proteína hipotética	99%	9.00E-76	95.61%

279	145008	145244	+	Proteína hipotética	93%	2.00E-37	82.43%
280	145234	145506	+	Proteína hipotética	75%	5.00E-22	67.14%
281	145496	145777	+	Proteína hipotética	98%	7.00E-64	97.85%
282	145761	146024	+	Putativa proteína de membrana	98%	2.00E-50	96.55%
283	146082	146195	+	Proteína hipotética	42%	8.80E+00	81.25%
284	146192	146398	+	Proteína hipotética	77%	2.00E-40	97.06%
285	146471	146725	+	Proteína hipotética	98%	4.00E-54	95.24%
286	146810	147301	+	Proteína hipotética	100%	1.00E-70	94.50%
287	147365	147664	+	Proteína hipotética	98%	3.00E-31	96.30%
288	147899	148051	+	Proteína hipotética	99%	3.00E-61	92.93%
289	148436	148744	-	Proteína hipotética	99%	5.00E-66	97.06%
290	148741	148935	-	Proteína hipotética	98%	6.00E-24	90.62%
291	148946	149170	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-47	100.00%
292	149172	149396	-	Proteína hipotética	98%	1.00E-46	100.00%

Query Cover: el porcentaje de consulta cubierto por la alineación, con la secuencia de la base de datos del NCBI.

Valor E: el mejor (más bajo) valor esperado de todas las alineaciones de la secuencia con la base de datos del NCBI.

% Identidad: porcentaje de identidad más alto de todas las alineaciones de la secuencia consultada.



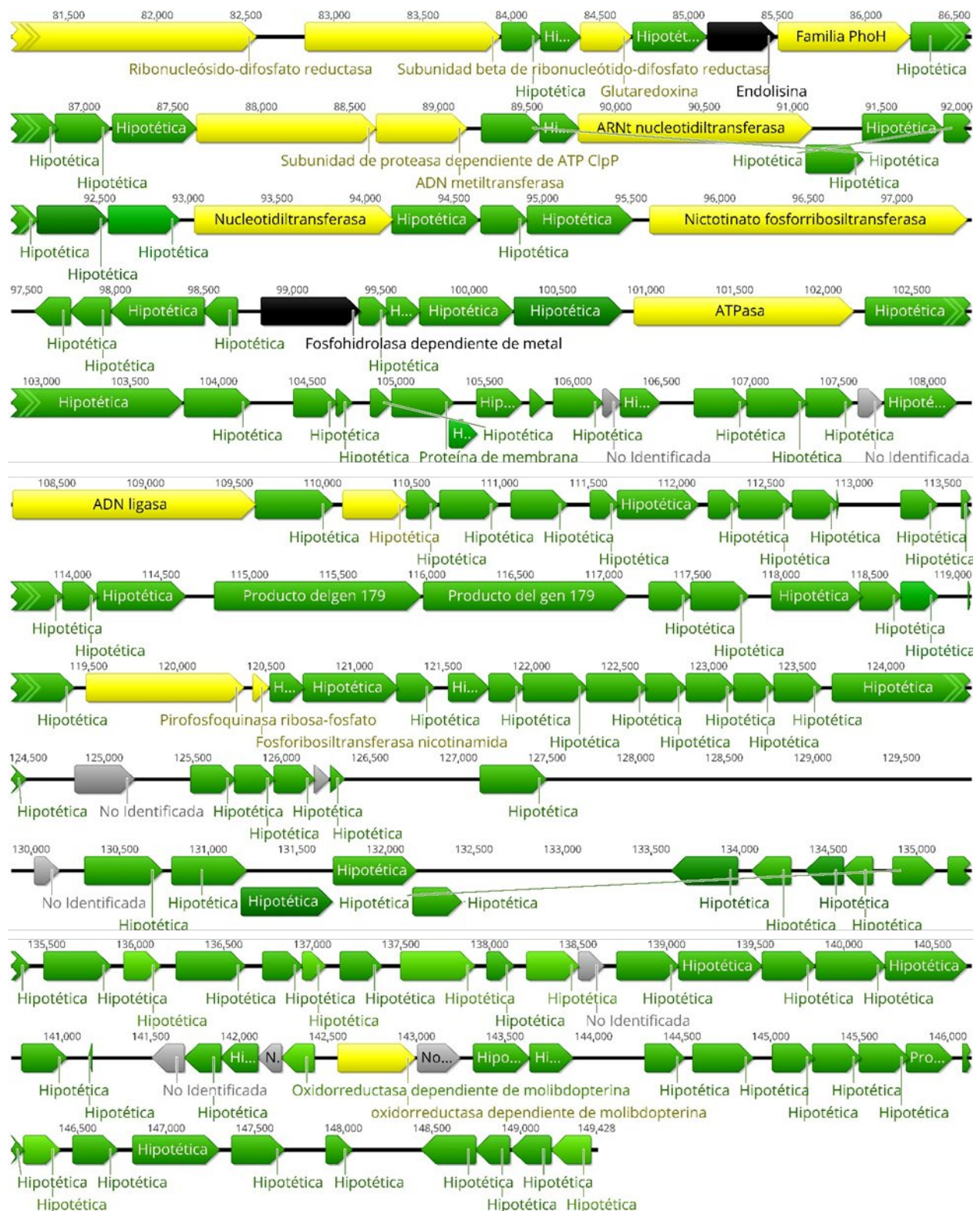


Figura 25. Diagrama del genoma del bacteriófago F5M2A. Las flechas indican el marco de lectura abierto (ORF), cuya orientación muestra la dirección de la transcripción. Los genes putativos se colorean de acuerdo con las funciones predichas de sus productos: proteínas estructurales (flechas

azules), proteínas del metabolismo (flechas amarillas), proteínas de empaquetamiento del ADN (flechas rojas), proteínas de lisis del hospedero (flechas negras), proteínas hipotéticas (flechas verdes) y ORFs no identificados (grises).

6.3.13 Anotaciones de los Genomas de los Bacteriófagos Aislados

En general, el genoma de los doce bacteriófagos se encuentra organizado en cuatro módulos funcionales, los cuales se describen a continuación.

6.3.13.1. Genes ligados a morfología. Como en la mayoría de los bacteriófagos, el módulo de morfogénesis está compuesto por el módulo de ensamblaje de la cápside y el módulo de ensamblaje de la cola (Li et al., 2018). El análisis genómico reveló que los doce bacteriófagos aislados presentan por lo menos 18 ORFs asociados a la morfogénesis de la estructura viral, como proteínas de las fibras de cola, de la cápside, de membrana, proteína de la base. Esto sugiere que los fagos pertenecen al orden *Caudovirales*, que poseen cabezas icosaédricas con genomas compuestos por ADN bicatenario. El orden *Caudovirales* está formado por tres familias de fagos; *Myoviridae* que tienen colas rígidas contráctiles, *Podoviridae* con colas cortas no contráctiles y *Siphoviridae* con colas largas y flexibles (Buttimer et al., 2017). Y constituyen el 96% de los bacteriófagos aislados (Fokine y Rossmann; 2014). Sin embargo, esto debe ser confirmado por microscopía electrónica.

6.3.13.2. Genes ligados al metabolismo del ADN. Las secuencias de los bacteriófagos analizados codifican para proteínas que participan activamente en procesos del metabolismo del ADN tales como replicación, transcripción y traducción. Entre las enzimas codificadas en el genomas de los fagos están la ARN polimerasa, ADN polimerasa, ADN primasa, ADN helicasa, ADN ligasa, proteína de unión a ADN monocatenario y ARNt nucleótidiltransferasa. Esta última es una enzima necesaria para la biosíntesis de ARNt (Deutscher et al., 1974).

Algunos virus codifican su propia metiltransferasa para proteger su genoma de una amplia gama de enzimas de restricción del hospedero (Hulo et al., 2017). Los fagos F4M1E, F5M1E, F5M2A F2M1E, F1M1E, F5M1D y F2M1D codifican ADN metiltransferasa, ADN citosina metiltransferasas y ADN adenina metiltransferasa.

La glutaredoxina funciona como un portador de electrones en la síntesis de desoxirribonucleótidos dependiente de glutatión por la enzima ribonucleótido reductasa (Fernandes y Holmgren, 2004). Esta proteína se encuentra codificada por los fagos F4M1E F5M1E F5M2A y F1M1E.

Los productos acetil coenzima A, proteína quinasa, fosfoestearasa, fosfatasa, glutaredoxina, ribonucleósido difosfato reductasa, ribonucleósido difosfato reductasa subunidad beta, timidilato sintetasa y nicotinamida fosforibosiltransferasa, son enzimas utilizadas en la biosíntesis de nucleótidos y NAD⁺ por lo que tienen funciones importantes en la síntesis de proteínas.

Las secuencias de los bacteriófagos analizados codifican para proteínas que participan activamente en procesos de metabolismo del ADN tales como su degradación, síntesis, recombinación y traducción. Los productos acetil coenzima A, proteína quinasa, fosfoestearasa, fosfatasa, glutaredoxina, ribonucleósido difosfato reductasa, ribonucleósido difosfato reductasa subunidad beta, timidilato sintetasa y nicotinamida fosforibosiltransferasa, son enzimas utilizadas en la biosíntesis de nucleótidos y NAD⁺ por lo que tienen funciones importantes en la síntesis de proteínas.

6.3.13.3. Genes ligados al empaquetamiento del ADN. El empaquetamiento del ADN del fago se produce por translocación del ADN en una cubierta de proteína preformada, una procápside, con la ayuda de una enzima de empaquetamiento o una terminasa. La enzima de empaquetamiento está compuesta por dos subunidades: la subunidad grande tiene actividades de unión al ATP, unión a la propensión y corte del ADN, mientras que la subunidad pequeña es una proteína de unión al ADN (Fujisawa y Morita, 1997; Greive y Bayfield. 2019). Todos los fagos codifican para la subunidad grande de la terminasa. Los fagos F5M1D, F4M1D y F1M1D codifican una proteína portal, que

son homo-oligómeros cíclicos con un canal central a través del cual ocurren los movimientos de ADN durante el empaquetamiento (Isidro et al., 2004).

6.3.13.4. Genes ligados a la lisis bacteriana. Los productos de los genes que codifican para proteínas asociadas con la lisis del hospedero son principalmente las enzimas holina (clase I y II), endopeptidasa y espaninas. Las holinas de clase II se caracterizan porque tienen dos dominios transmembrana y tienen tanto el punto final N-terminal como C-terminal en el citoplasma. Éstas son proteínas que generan poros en la membrana plasmática del hospedero para iniciar y controlar la degradación de la pared celular de la bacteria hospedera al final del ciclo lítico de infección viral y las proteínas de lisis endopeptidasas y espaninas, participan en el paso final del proceso de lisis del hospedero (Young, 2014). Las proteínas espaninas se superponen internamente inmediatamente después de la endolisina para mejorar la lisis bacteriana cuando la membrana externa está estabilizada por cationes divalentes. Se sugiere que estos productos génicos forman un complejo después de la translocación al periplasma y desestabilizan la pared celular por escisión de los enlaces oligopeptídicos entre la mureína y la proteína de la membrana externa (Young, 2014). Los genes de los bacteriófagos F1M1E, F2M1E, F4M1E, F5M1E y F5M2A codifican para una hidrolasa de la pared celular (SleB), la cual desempeña el rol del sistema holina-endolisina. Estas enzimas líticas podrían tener potencial para ser clonadas y utilizadas en conjunto con los fagos para facilitar la liberación de la progenie viral durante el final del ciclo lítico.

En resumen, en el presente estudio se aislaron 12 bacteriófagos, los cuales pertenecen a las familias *Podoviridae* (F1M1C, F2M1C y F5M1C), *Siphoviridae* (F1M1D, F2M1D, F4M1D y F5M1D) y *Myoviridae* (F1M1E, F2M1E, F4M1E, F5M1E y F5M2A), de los cuales 11 resultaron líticos contra bacterias Gram negativas presentes en la microbiota cultivable de *Aedes aegypti* circulantes en la Ciudad de Culiacán, Sinaloa, México. En este sentido, es necesario detallar que a pesar de que los bacteriófagos aislados presentaron actividad lítica contra la microbiota bacteriana cultivable del intestino medio de *Aedes aegypti*, éstos no presentaron efecto lítico contra los grupos microbianos predominantes en la microbiota de los mosquitos circulantes en Culiacán, Sinaloa. Asimismo, es necesario considerar las características de los diferentes fagos, tales como las diferencias de

familias a las cuales pertenecen pueden representar un criterio de selección de los mejores agentes virales para considerarlos como candidatos para control biológico. En este sentido, diversos estudios enfocados en el uso de bacteriófagos, sugieren que los organismos pertenecientes a la familia *Myoviridae* presentan mayor número de características deseables para control biológico, tales como una estructura resistente, estable, ausencia de genes de virulencia, ausencia de genes de alergenidad y amplio rango de hospederos, las cuales coinciden con las características encontradas en los diferentes fagos aislados en el presente proyecto.

Este es el primer estudio realizado en México enfocado en determinar la composición de la biota bacteriana intestinal de mosquitos hembra de la especie *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán, Sinaloa. Así también, este es el primer esfuerzo en la búsqueda de bacteriófagos capaces de eliminar bacterias del tracto intestinal de *Aedes aegypti* que participan en funciones básicas para la reproducción del insecto.

7 CONCLUSIONES

Del intestino medio de los mosquitos se aislaron 22 colonias bacterianas morfológicamente diferentes, de las cuales, después del análisis filogenético se identificaron 17 especies pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Serratia* y *Staphylococcus*; en donde, las bacterias del género *Staphylococcus* dominaron los aislados intestinales de mosquitos hembra *Aedes aegypti* capturados en Culiacán, Sinaloa. Con el propósito de eliminar estas bacterias del intestino de los mosquitos, se aislaron doce bacteriófagos que mostraron fuerte actividad lítica contra bacterias Gram negativas de los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pantoea*; de los cuales, con base en los resultados de la secuenciación y el análisis genómico se determinó que poseen ADN de doble cadena como material genético. Además, el análisis reveló que ningún bacteriófago acarrea genes que codifiquen para factores de resistencia a antibióticos. Sin embargo, se determinó que el bacteriófago F5M1C posee el gen *IroB*, el cual codifica para el factor de virulencia glucosiltransferasa, componente esencial para la producción de enterobactina, por lo tanto, este bacteriófago no puede ser usado con fines de control biológico. También se encontró que el genoma del bacteriófago F1M1E codifica para una integrasa, la cual, participa en la integración del genoma del virus en el genoma bacteriano; por lo tanto, este bacteriófago presenta el ciclo lisogénico de replicación, por lo cual, no puede ser utilizado con fines de control biológico.

8 RECOMENDACIONES Y PROSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN

Se hizo el primer estudio para conocer la composición de la biota bacteriana intestinal de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán, Sinaloa y se comenzó con el aislamiento de bacteriófagos líticos capaces de eliminar dichas bacterias. Los resultados obtenidos en este trabajo representan los cimientos de una nueva línea de investigación propuesta por el grupo del LANIIA.

Antes de continuar con los ensayos *in vivo* de los bacteriófagos contra las bacterias intestinales en mosquitos vivos, se recomienda hacer un muestreo de mosquitos que abarque la totalidad de la ciudad de Culiacán, Sinaloa para posteriormente aislar e identificar las bacterias cultivables de la biota intestinal de dichos mosquitos; esto con la finalidad de conocer la composición de la biota bacteriana intestinal de mosquitos hembra de *Aedes aegypti* en toda la ciudad y no solo en determinados sectores. Una vez que se hayan definido cuales son las bacterias que componen la biota intestinal de los mosquitos de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, se tiene que investigar cuales de estas bacterias son esenciales para el vector. A la par, se sugiere que aislar más bacteriófagos líticos contra las bacterias en estudio; Para finalmente realizar los ensayos de eliminación de bacterias *in vivo*. Respecto a los bacteriófagos aislados y parcialmente caracterizados en este trabajo, se recomienda un análisis genómico más profundo así como también se recomienda realizar ensayos de resistencia a la temperatura, pH, luz UV y a cloroformo. Además, es recomendable realizar micrografías para conocer la morfología de los fagos.

Otra sugerencia es realizar un análisis metagenómico de intestino medio de mosquitos *Aedes aegypti* capturados en la ciudad de Culiacán, Sinaloa con la finalidad de conocer la composición general de la biota intestinal de los mosquitos en esta ciudad. Posteriormente, se recomienda administrar bacteriófagos líticos *in vivo* contra los grupos bacterianos identificados. Finalmente, mediante un análisis metagenómico, observar el efecto de la administración de bacteriófagos sobre las bacterias intestinales.

9 REFERENCIAS

- Ackermann H.W. 2009. Phage Classification and Characterization. En: Clokie M.R.J., Kropinski A.M. (eds). Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions. Humana Press, New York, 127-140 pp.
- Ackermann H.W. and DuBow M.S. 1987. Practical applications of bacteriophages. In Viruses of prokaryotes: general properties of bacteriophages. CRC Press, Boca Raton, Fla., USA. 143–158 pp.
- Apte-Deshpande A., Paingankar M., Gokhale M.D. and Deobagkar D.N. 2012. *Serratia odorifera* a Midgut Inhabitant of *Aedes aegypti* Mosquito Enhances Its Susceptibility to Dengue-2 Virus. PLoS ONE. 7(7): e40401.
- Bates M. 1970. The natural history of mosquitoes. Peter Smith, Gloucester, MA. 378pp.
- Biogents Mosquito Control. (2018). Life cycle of *Aedes* mosquitoes. Siem Reap, Cambodia.: Biogents SEA. Recuperado de: <https://sea.biogents.com/life-cycle-aedes-mosquitoes/>
- Blumberg B.J., Short S.M. and Dimopoulos G. 2016. Employing the Mosquito Microflora for Disease Control. En: Zach N. Adelman (ed). Genetic Control of Malaria and Dengue. Academic Press, Cambridge, Massachusetts. 335-362 pp.
- Buttimer C., McAuliffe O., Ross R.P., Hill C., O'Mahony J. and Coffey A. 2017. Bacteriophages and bacterial plant diseases. Frontiers in microbiology. 8: 34.
- Bruno-Wilke A.B., Toledo-Marrelli M. 2015. Paratransgénesis: a promising new strategy for mosquito vector control. Parasites & Vectors. 8: 342.
- Brüssow H. 2001. Phages of dairy bacteria. Annual Review of Microbiology. 55: 283-303.
- Campbell A. 2003. The future of bacteriophage biology. Nature Reviews Genetics. 4: 471-477.
- Capra M.J., Quiberoni A., Reinheimer J. and Guglielmotti D. 2018. Bacteriophage Biological Aspects. Reference Module in Food Science.
- Carrias A., Welch T.J., Waldbieser G.C., Mead D.A., Terhune J.S. and Liles, M.R. 2011. Comparative genomic analysis of bacteriophages specific to the channel catfish pathogen *Edwardsiella ictaluri*. Virol. J. 8:6.
- Ceissens P.J. and Lavigne R. 2010. Introduction to bacteriophage biology and diversity. En: Parviz M. Sabour and Mansel W. Griffiths (eds.). Bacteriophages in the Control of Food- and Waterborne Pathogens. ASM Press, Washington, DC, 11-29 pp.
- Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE). (2015). Guía para la instalación y mantenimiento del insectario de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae). <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/GuiaInstalacionMantenimientoInsectarioAedesAegypti.pdf>

- Charan S.S., Pawar K.D., Severson D.W., Patole M.S. and Shouche Y.S. 2013. Comparative analysis of midgut bacterial communities of *Aedes aegypti* mosquito strains varying in vector competence to dengue virus. *Parasitology Research*. 112:2627–2637.
- Cheng G., Liu Y., Wang P. and Xiao X. 2016. Mosquito Defense Strategies against Viral Infection. *Trends in Parasitology*. 32(3): 177-186.
- Colman D.R., Toolson E.C. and Takacs-Vesbach C.D. 2012. Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities? *Molecular Ecology*. 21(20):5124–5137.
- Coon K.L., Vogel K.J., Brown M.R. and Strand M.R. 2014. Mosquitoes rely on their gut microbiota for development. *Mol Ecol*. 23(11):2727–2739.
- Coon K.L., Brown M.R. and Strand M.R. 2016a. Gut bacteria differentially affect egg production in the anautogenous mosquito *Aedes aegypti* and facultatively autogenous mosquito *Aedes atropalpus* (Diptera: Culicidae). *Parasites & vectors*. 9:375.
- Coon K.L., Brown M.R. and Strand M.R. 2016b. Mosquitoes host communities of bacteria that are essential for development but vary greatly between local habitats. *Molecular Ecology*. 25(22):5806–5826.
- Coon K.L., Valzania L., McKinney D.A., Vogel K.J., Brown M.R. and Strand M.R. 2017. Bacteria-mediated hypoxia functions as a signal for mosquito development. *PNAS*. 114(27): E5362-E5369.
- Culot A., Grosset N. and Gautier M. 2019. Overcoming the challenges of phage therapy for industrial aquaculture: A review. *Aquaculture*. 734423.
- De Gaio A.O., Gusmão D.S., Santos A.V., Berbert-Molina M.A., Pimenta P.F. and Lemos F.J. 2011. Contribution of midgut bacteria to blood digestion and egg production in *Aedes aegypti* (diptera: culicidae) (L.). *Parasites & Vectors*. 4:105.
- Deutscher M.P., Foulds J. and McClain W.H. 1974. Transfer ribonucleic acid nucleotidyl-transferase plays an essential role in the normal growth of *Escherichia coli* and in the biosynthesis of some bacteriophage T4 transfer ribonucleic acids. *Journal of Biological Chemistry*. 249(20): 6696-6699.
- Dickson L.B., Jiolle D., Minard G., Moltini-Conclois I., Volant S. and Ghazlane A. 2017. Carryover effects of larval exposure to different environmental bacteria drive adult trait variation in a mosquito vector. *Science Advances*. 3(8): e1700585.
- Fernandes A.P., and Holmgren A. 2004. Glutaredoxins: glutathione-dependent redox enzymes with functions far beyond a simple thioredoxin backup system. *Antioxidants and Redox Signaling*. 6(1): 63-74.
- Fujisawa H. and Morita M. 1997. Phage DNA packaging. *Genes to Cells*. 2(9): 537-545.
- Fokine A. and Rossmann M.G. 2014. Molecular architecture of tailed double-stranded DNA phages. *Bacteriophage*. 4(2): e28281.
- Foshag D., Campbell C. and Pawelek P.D. 2014. The C-glycosyl transferase *IroB* from pathogenic *Escherichia coli*. Identification of residues required for efficient catalysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Proteins and Proteomics*. 1844(9): 1619-1630.

- Guégan M., Zouache K., Démichel C., Minard G., Van V.T., Potier P., Mavingui P. and Moro C.V. 2018. The mosquito holobiont: fresh insight into mosquito-microbiota interactions. *Microbiome*. 6: 49.
- Greive J.S. and Bayfield O.W. 2019. DNA Packaging: DNA Recognition. Reference Module in Life Sciences.
- Grose J.H. and Casjens S.R. 2019. Bacteriophage Diversity. Reference Module in Life Sciences.
- Gu J., Liu X., Li Y., Han W., Lei L., Yang Y., Zhao H., Gao Y., Song J. and Lu R. 2012. A method for generation phage cocktail with great therapeutic potential. *PLoS One*. 7(3): e31698.
- Gusmão D.S., Santos A.V., Marini D.C., Russo E.S., Peixoto A.M., Júnior M.B., Berbert-Molina M.A. and Alves-Lemos F.J. 2007. First isolation of microorganisms from the gut diverticulum of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): new perspectives for an insect-bacteria association. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*. 102(8).
- Gusmão D.S., Santos A.V., Marini D.C., Bacci M., Berbert-Molina M.A. and Lemos F.J. 2010. Culture-dependent and culture-independent characterization of microorganisms associated with *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (L.) and dynamics of bacterial colonization in the midgut. *Acta Tropica*. 115(3):275–281.
- Hagens S. and Loessner M.J. 2010. Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: calculations and considerations. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 11: 58-68.
- Harada L.K., Silva E.C., Campos W.F., Del Fiol F.S., Vila M., Dąbrowska K., Krylov V.N. and Balcão V.M. 2018. Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art. *Microbiological Research*. 212-213: 38-58.
- Hegde S., Rasgon J.L. and Hughes G.L. 2015. The microbiome modulates arbovirus transmission in mosquitoes. *Current Opinion in Virology*. 15:97–102.
- Hendrix R.W. 2002. Bacteriophages: Evolution of the majority. *Theoretical Population Biology*. 61: 471-480.
- Higa Y. 2011. Dengue Vectors and their Spatial Distributions. *Tropical Medicine and Health*. 39(4):17-27.
- Hill C.L., Sharma A., Shouche Y. and Severson D.W. 2014. Dynamics of midgut microflora and dengue virus impact on life history traits in *Aedes aegypti*. *Acta Tropica*. 140:151–157.
- Hulo C., Masson P., Toussaint A., Osumi-Sutherland D., de Castro E., Auchincloss A. and Le Mercier P. 2017. Bacterial virus ontology; coordinating across databases. *Viruses*. 9(6): 126.
- Ibañez-Bernal S. and Martinez-Campos C. 1994. Clave para la identificación de larvas de mosquitos comunes en las áreas urbanas y suburbanas de la república mexicana (Díptera: Culicidae). *Folia Entomol. Mex*. 92:43-73.
- Isidro A., Henriques A.O. and Tavares P. 2004. The portal protein plays essential roles at different steps of the SPP1 DNA packaging process. *Virology*. 322(2): 253-263.
- Jun J.W., Han J.E., Giri S.S., Tang F.J., Zhou X., Aranguren L.F., Kim H.J., Yun S., Chi C., Kim S.G., Park S.C. 2018. Phage Application for the Protection from Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in *Penaeus vannamei*. *Indian J Microbiol*. 58(1):114–117.

- Jupatanakul N., Sim S. and Dimopoulos G. 2014. The Insect Microbiome Modulates Vector Competence for Arboviruses. *Viruses*. 6(11):4294-4313.
- Jones J.B., Vallad G.E., Iriarte F.B., Obradovic A., Wernsing M.H., Jackson L.E., Balogh B., Hong J.C. and Momol M.T. 2012. Considerations for using bacteriophages for plant disease control. *Bacteriophage*. 2(4): 208-214.
- Lee J.H., Lee K.A. and Lee W.J. 2017. Microbiota, Gut Physiology, and Insect Immunity. En: Petros Ligoxygakis (ed). *Advances in Insect Physiology*. Academic Press, Cambridge, Massachusetts. 52:111-138.
- Li S., Lu S., Huang H., Tan L., Ni Q., Shang W., Yang Y., Hu Z., Zhu J., Li M., Rao X., Hu F. and Hu X. 2019. Comparative analysis and characterization of *Enterobacteria* phage SSL-2009a and “HK578likevirus” bacteriophages. *Virus Research*. 259: 77-84.
- López-Cuevas O., Castro-del Campo N., León-Félix J., Valdez-Torres B. and Chaidez C. 2012. Evaluation of Bacteriophage av-08 for Simultaneous Biocontrol of *Salmonella montevideo* and *Escherichia coli* O157:H7 in Experimentally Contaminated Chicken Skin. *Journal of Food Safety*. 32(3): 305-310.
- Leverentz B., Conway W.S., Camp M.J., Janisiewicz W.J., Abuladze T., Yang M., Saftner R. and Sulakvelidze A. 2003. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on Fresh-Cut Produce by Treatment with Lytic Bacteriophages and a Bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(8): 4519–4526.
- Miller T.A. 2010. Paratransgenesis as a potential tool for pest control: review of applied arthropod symbiosis. *Journal of Applied Entomology*. 135: 474-478.
- Minard G., Mavingui P. and Moro C.V. 2013. Diversity and function of bacterial microbiota in the mosquito holobiont. *Parasites & vectors*. 6: 146.
- Moineau S. and Tremblay D.M. 2013. Bacteriophage. En: Stanley Maloy and Kelly Hughes (eds.). *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*. Academic Press, Cambridge, Massachusetts, 280-283 pp.
- Monteiro R., Pires D.P., Costa A.R. and Azeredo J. 2019. Phage Therapy: Going Temperate? *Trends in Microbiology*. 27(4): 368-378.
- Moro C.V., Tran F.H., Raharimalala F.N., Ravelonandro P. and Mavingui P. 2013. Diversity of culturable bacteria including *Pantoea* in wild mosquito *Aedes albopictus*. *BMC Microbiology*. 13:70.
- Nelson M.J. 1986. *Aedes aegypti*: Biología y Ecología. Organización Panamericana de la Salud. Washington, DC. 50p.
- Nicastro J., Wong S., Khazaei Z., Lam P., Blay J. and Slavcev R.A. 2016. Bacteriophage Applications—Historical Perspective and Future Potential. *Springer Briefs in Biochemistry and Molecular Biology*. DOI 10.1007/978-3-319-45791-8.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2017. Respuesta Mundial para el Control de Vectores 2017-2030. http://www.who.int/malaria/areas/vector_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030-esp.pdf?ua=1
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2019. Enfermedades transmitidas por vectores. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>

- Prevelige P.E., and Cortines J.R. 2018. Phage assembly and the special role of the portal protein. *Current Opinion in Virology*. 30: 1-8.
- Ramírez J.L., Souza-Neto J., Torres-Cosme R., Rovira J., Ortiz A., Pascale J.M. and Dimopoulos G. 2012. Reciprocal Tripartite Interactions between the *Aedes aegypti* Midgut Microbiota, Innate Immune System and Dengue Virus Influences Vector Competence. *PLoS Negl Trop Dis* 6(3): e1561.
- Raya R.R. and Hébert E.M. 2009. Isolation of Phage via Induction of Lysogens. En: Clokie M.R. and Kropinski A.M. (eds.). *Bacteriophages: Methods and Protocols*, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions. Humana Press, New York, 23-32 pp.
- Rueda L.M. 2004. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with dengue virus transmission. Walter Reed Army Inst Of Research Washington Dc Department Of Entomology.
- Saldaña M.A., Hegde S. and Hughes G.L. 2017. Microbial control of arthropod-borne disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 112(2): 81-93.
- Sambrook J. and Russell W. 2001. Extraction of bacteriophage λ DNA from large-scale cultures using proteinase K and SDS. En: Irwin N. (ed.). *Molecular cloning: a laboratory manual* 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 256-258.
- Secretaría de salud (SSA). 2018. Panorama Epidemiológico de Dengue 2017. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/285237/Pano_dengue_sem_52_2017.pdf
- Sklar I.B. and Joerger R.D. 2001. Attempts to Utilize Bacteriophage to Combat *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Infection in Chickens. *Journal of Food Safety*. 21(1): 15-29.
- Strand M.R. 2017. The gut microbiota of mosquitoes. En: Wikel S.K., Aksoy S. and Dimopoulos G. (eds.). *Arthropod vector: controller of disease transmission – vector microbiome and innate immunity of arthropods*, volume 1. Academic Press, Cambridge, M., 185-199 pp.
- Strand M.R. 2018. Composition and functional roles of the gut microbiota in mosquitoes. *Current Opinion in Insect Science*. 28: 59-65.
- Tandina F., Almeras L., Koné A.K., Doumbo O.K., Raoult D. and Parola P. 2016. Use of MALDI-TOF MS and culturomics to identify mosquitoes and their midgut microbiota. *Parasites & Vectors*. 9: 495.
- Terenius O., Lindh J.M., Eriksson-Gonzales K., Bussiere L., Laugen A.T., Bergquist H., Titanji K. and Faye I. 2012. Midgut bacterial dynamics in *Aedes aegypti*. *FEMS Microbiology Ecology*. 80: 556-565.
- Tjaden N.B., Thomas S.M., Fischer D. and Beierkuhnlein C. 2013. Extrinsic incubation period of dengue: knowledge, backlog, and applications of temperature dependence. *PLoS Negl Trop Dis*. 7(6): e2207.
- Tol S.V. and Dimopoulos G. 2016. Influences of the Mosquito Microbiota on Vector Competence. *Advances in Insect Physiology*. 51: 243-291.
- Travanty N.V., Apperson C.S. and Ponnusamy L. 2019. A Diverse Microbial Community Supports Larval Development and Survivorship of the Asian Tiger Mosquito (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*. 56(3): 632-640.

- Vogel K.L., Valzania L., Coon K.L., Brown M.R. and Strand M.R. 2017. Transcriptome Sequencing Reveals Large-Scale Changes in Axenic *Aedes aegypti* Larvae. PLOS Neglected Tropical Diseases. 11(1): e0005273.
- Vontas J., Kioulos E., Pavlidi E., Morou E., Della-Torre A. and Ranson H. 2012. Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. Pesticide Biochemistry and Physiology. 104(2): 126–131.
- Walker T., Johnson P.H., Moreira L.A., Iturbe-Ormaetxe I., Frentiu F.D., McMeniman C.J., Leong Y.S., Dong Y., Axford J., Kriesner P., Lloyd A.L., Ritchie S.A., O'Neill S.L. and Hoffmann A.A. 2011. The wMel Wolbachia strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. Nature. 476: 450-453.
- Weaver S.C. and Reisen W.K. 2009. Present and future arboviral threats. Antiviral Research. 85: 328-345.
- Xi Z., Ramirez J.L. and Dimopoulos G. 2008. The *Aedes aegypti* Toll Pathway Controls Dengue Virus Infection. PLoS Pathog. 4(7): e1000098.
- Xu Y., Buss E. and Boucias D. 2016. Impacts of Antibiotic and Bacteriophage Treatments on the Gut-Symbiont-Associated *Blissus insularis* (Hemiptera: Blissidae). Insects. 7(4): 61.
- Yadav K.K., Datta S., Naglot A., Bora A., Hmuaka V., Bhagyawant S., Gogoi H.K., Veer V. and Raju S. 2016. Diversity of Cultivable Midgut Microbiota at Different Stages of the Asian Tiger Mosquito, *Aedes albopictus* from Tezpur, India. PLoS ONE. 11(12): e0167409.
- Young R. 2014. Phage lysis: three steps, three choices, one outcome. Journal of Microbiology. 52(3): 243-258.