

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Biotecnología

**Identificación de marcadores genómicos de potencial
probiótico en cepas de *Lactiplantibacillus plantarum*.**

Autor: Hristo Krassimirov Kandjikov

Villaviciosa de Odón, *Julio, 2026*

Título del Trabajo: Identificación de marcadores genómicos de potencial probiótico en cepas de *Lactiplantibacillus plantarum*



Realizado en la Universidad Europea de Madrid.

TUTORAS: Dras. Mónica Martínez Martínez y Sara Gómez Quevedo.

Contenido

Resumen y palabras clave.....	5
Introducción.....	6
Objetivos.....	9
Materiales y métodos.....	10
Extracción del ADN genómico de <i>L. plantarum</i> y secuenciación.....	10
Cultivo y extracción del ADN genómico	10
Evaluación de calidad y cuantificación	10
Secuenciación genómica.....	11
Análisis bioinformático.....	11
Cepas bacterianas y genomas analizados.....	11
Análisis básico y comparación estructural.....	11
Identificación de genes de resistencia a antibióticos.....	12
Identificación de factores de virulencia.....	12
Metabolismo de carbohidratos	12
Adhesión	12
Resistencia al ácido y a la bilis. Respuesta a condiciones de estrés.....	13
Inmunomodulación	13
Bacteriocinas.....	14
Resultados y discusión	15
Extracción del ADN genómico de <i>L. plantarum</i> y secuenciación.....	15
Evaluación de calidad y cuantificación	15
Información básica de los genomas.....	17
Genes de resistencia a antibióticos.....	18
Factores de virulencia	19
Metabolismo de carbohidratos.....	19
Adhesión.....	22
Resistencia a ácido y bilis.....	23
Inmunomodulación	25
Bacteriocinas	26
Objetivos de desarrollo sostenible.....	28
Conclusiones.....	28

Bibliografía.....	30
Anexo	36
Tablas con contenido adicional	37
ZJ316	37
KU15149	38
ATCC 8014	39
WCFS1.....	40
Y42	41
LP1	42

Resumen y palabras clave

Lactiplantibacillus plantarum es una de las especies bacterianas de mayor interés como probiótico debido a su capacidad para adaptarse al tracto gastrointestinal y ejercer efectos beneficiosos sobre la salud. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial probiótico de seis cepas de *L. plantarum* mediante un análisis genómico comparativo, prestando especial atención a marcadores relacionados con la seguridad, la supervivencia en el tracto gastrointestinal, la adhesión, la inmunomodulación, el metabolismo de carbohidratos y la producción de bacteriocinas. Para ello, se obtuvo el ADN genómico de una cepa (LP1) a partir de un preparado probiótico comercial, se realizó su secuenciación completa y se comparó con los genomas de las cepas WCFS1, ATCC 8014, Y42, KU15149 y ZJ316 mediante diversas herramientas bioinformáticas. Los resultados mostraron una elevada conservación genómica entre las seis cepas y la presencia de numerosos determinantes genéticos compatibles con un elevado potencial probiótico, incluyendo genes relacionados con la tolerancia al ácido y a las sales biliares, la respuesta al estrés, la adhesión al epitelio intestinal, la biosíntesis de exopolisacáridos y la producción de bacteriocinas. Asimismo, se observaron diferencias entre cepas en determinados sistemas funcionales, especialmente en el metabolismo de carbohidratos, la composición de los genes *eps* y el repertorio de plantaricinas, destacando la cepa LP1 por presentar uno de los perfiles bacteriocínicos más completos. En conjunto, este estudio demuestra la utilidad de la genómica comparativa para la identificación de marcadores asociados al potencial probiótico y proporciona una base para futuros estudios experimentales dirigidos a validar funcionalmente las características observadas.

Palabras clave: *L. plantarum*; probióticos; genómica comparativa; bioinformática; bacteriocinas; inmunomodulación; exopolisacáridos.

Introducción

En las últimas décadas, el interés por los microorganismos beneficiosos para la salud humana ha experimentado un notable crecimiento, impulsado por el avance en el conocimiento de la microbiota y su influencia sobre numerosos procesos fisiológicos. La microbiota intestinal desempeña funciones esenciales relacionadas con la digestión, el metabolismo, la síntesis de compuestos bioactivos, la protección frente a microorganismos patógenos y la regulación del sistema inmunitario. Alteraciones en su composición o equilibrio, conocidas como disbiosis, se han asociado con diversas patologías, incluyendo enfermedades gastrointestinales, trastornos metabólicos, enfermedades inflamatorias e incluso alteraciones neurológicas. En este contexto, los probióticos han emergido como una herramienta prometedora para contribuir al mantenimiento y restauración de la salud intestinal.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) definen los probióticos como microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas(1), confieren un beneficio para la salud del huésped. Diversos estudios han demostrado que determinadas cepas probióticas pueden ejercer efectos beneficiosos mediante diferentes mecanismos, entre los que destacan la exclusión competitiva de microorganismos patógenos, la producción de metabolitos antimicrobianos, la modulación de la respuesta inmunitaria, el fortalecimiento de la barrera intestinal y la mejora de procesos digestivos y metabólicos(2,3). Como consecuencia, los probióticos han adquirido una gran relevancia tanto en el ámbito clínico como en la industria alimentaria y biotecnológica, siendo incorporados en una amplia variedad de alimentos funcionales y suplementos nutricionales.(4)

Sin embargo, no todos los microorganismos presentan las mismas capacidades probióticas. De hecho, muchas de las propiedades beneficiosas atribuidas a los probióticos son específicas de cada cepa, incluso dentro de una misma especie bacteriana(5). Por este motivo, la caracterización detallada de nuevas cepas constituye un paso fundamental para evaluar su potencial aplicación en salud humana. Tradicionalmente, esta caracterización se ha basado en ensayos experimentales

destinados a evaluar propiedades como la resistencia a condiciones gastrointestinales, la capacidad de adhesión al epitelio intestinal o la actividad antimicrobiana(5). No obstante, el desarrollo de las tecnologías de secuenciación masiva y de las herramientas bioinformáticas ha permitido complementar estos estudios mediante el análisis exhaustivo de los genomas bacterianos(6).

La genómica comparativa constituye actualmente una estrategia de gran utilidad para la identificación de determinantes genéticos relacionados con funciones probióticas. El análisis de genes y proteínas implicados en procesos de adaptación al entorno gastrointestinal permite predecir la capacidad de una cepa para sobrevivir al tránsito digestivo y ejercer sus efectos beneficiosos. Entre los marcadores más relevantes se encuentran aquellos relacionados con la resistencia al estrés ácido y a las sales biliares, condiciones que representan importantes barreras para la supervivencia bacteriana en el tracto gastrointestinal. Asimismo, la presencia de sistemas de respuesta a diferentes tipos de estrés, como el estrés osmótico, oxidativo o térmico, puede contribuir a mejorar la viabilidad de las bacterias tanto durante los procesos de producción industrial como durante su permanencia en el huésped(7).

Otro aspecto fundamental en la evaluación del potencial probiótico es la capacidad de adhesión a la superficie de la mucosa intestinal. La adhesión favorece una interacción más estrecha entre el microorganismo y el huésped, facilitando la colonización transitoria del tracto gastrointestinal y potenciando efectos como la exclusión competitiva de patógenos y la modulación de la respuesta inmunitaria. Diversas proteínas de superficie, proteínas de unión a mucina, proteínas asociadas a la pared celular y otras estructuras extracelulares han sido descritas como factores implicados en estos procesos de adhesión(8).

Además de la supervivencia y la adhesión, la capacidad inmunomoduladora constituye una de las características más valoradas en los probióticos. Determinados componentes bacterianos pueden interactuar con células del sistema inmunitario y modular la producción de citoquinas o la activación de diferentes rutas de señalización celular. La identificación de genes implicados en estas interacciones proporciona información valiosa sobre el posible impacto de una cepa en la regulación de la respuesta inmune y en el mantenimiento de la homeostasis intestinal(8).

Entre las bacterias con mayor interés biotecnológico destaca la especie *Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente clasificada dentro del género *Lactobacillus*)(9). Esta bacteria ácido-láctica presenta una notable versatilidad metabólica y una amplia distribución en diversos nichos ecológicos, incluyendo alimentos fermentados de origen vegetal y animal, así como el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Su capacidad para adaptarse a ambientes muy diversos se refleja en la considerable variabilidad genética observada entre cepas, lo que la convierte en un modelo especialmente interesante para estudios de genómica comparativa.

Numerosos trabajos han descrito cepas de *L. plantarum* con propiedades probióticas destacadas(10,11), incluyendo resistencia a condiciones gastrointestinales adversas, capacidad de adhesión al epitelio intestinal, producción de compuestos antimicrobianos y efectos inmunomoduladores. Asimismo, su amplio repertorio de genes relacionados con el metabolismo de carbohidratos le permite utilizar una gran variedad de sustratos, favoreciendo su adaptación a distintos entornos y contribuyendo potencialmente a la producción de metabolitos beneficiosos para el huésped. No obstante, la diversidad genética existente dentro de la especie hace necesario analizar individualmente cada cepa para determinar sus capacidades funcionales y su potencial aplicación como probiótico.

En este contexto, el presente trabajo aborda el análisis bioinformático de seis cepas de *L. plantarum* con el objetivo de identificar características genéticas asociadas a su potencial probiótico. Mediante herramientas de análisis genómico se evaluarán genes y marcadores relacionados con la adhesión celular, la inmunomodulación, la resistencia al ácido y a las sales biliares, la respuesta a condiciones de estrés y el metabolismo de carbohidratos, entre otros factores de interés. La identificación de estos determinantes permitirá obtener una visión más completa de las capacidades funcionales de las cepas estudiadas y contribuirá al conocimiento de los mecanismos moleculares que sustentan sus posibles efectos beneficiosos sobre la salud.

Además, se pretende hacer la contribución de la secuenciación completa del genoma de una cepa de *L. plantarum*(nombrada como LP1 en este trabajo) no secuenciada al 100% hasta el momento, la cual forma parte de un preparado probiótico comercial.

Objetivos

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el potencial probiótico de distintas cepas de *L. plantarum* mediante la combinación de técnicas de laboratorio y herramientas bioinformáticas, prestando especial atención a la identificación de características genéticas asociadas a funciones relevantes para la supervivencia y actividad de estos microorganismos en el tracto gastrointestinal.

Para alcanzar este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Obtener ADN genómico de alta calidad de la cepa *L. plantarum* LP1 a partir de un preparado probiótico comercial mediante técnicas de extracción y purificación de ADN.
- Realizar la secuenciación completa del genoma mediante secuenciación de nueva generación (NGS) y ensamblar mediante herramientas bioinformáticas los datos obtenidos para obtener un archivo FASTA de genoma completo.
- Realizar un estudio bioinformático general comparativo del genoma anterior con otros genomas depositados en bases de datos, concretamente de las cepas *L. plantarum* WCFS1, ATCC 8014, Y42, KUI5149 y ZJ316.
- Identificar genes y proteínas potencialmente implicados en la adhesión a superficies mucosas y a células del huésped; la resistencia a condiciones adversas; respuesta frente a diferentes condiciones de estrés ambiental; relacionados con la inmunomodulación; e implicados en el metabolismo de carbohidratos.
- Comparar los perfiles genéticos de las seis cepas estudiadas con el fin de identificar similitudes y diferencias que permitan explicar posibles variaciones en su potencial probiótico.

En conjunto, este estudio pretende contribuir al conocimiento de las bases genéticas que sustentan las propiedades probióticas de *L. plantarum*, así como demostrar la utilidad de las herramientas bioinformáticas como apoyo en la selección y caracterización de cepas con interés biotecnológico y potencial aplicación en el ámbito de la salud humana.

Materiales y métodos

Extracción del ADN genómico de *L. plantarum* y secuenciación.

Cultivo y extracción del ADN genómico

La cepa *L. plantarum* LP1 fue obtenida a partir de un probiótico comercial (*Lactoflora*®). La bacteria se sembró en medio sólido *Man, Rogosa y Sharpe* (MRS) y se incubó durante 48h a 37°. A partir de las colonias aisladas, la bacteria se propagó mediante cultivo en caldo MRS y se incubó a 37°C durante 24h.

Tras la incubación, se tomaron 2 mL del cultivo y se centrifugaron a $12.000 \times g$ durante 5 minutos para la obtención del sedimento celular. El sobrenadante fue eliminado y las células recuperadas se emplearon para la extracción de ADN genómico.

La extracción de ADN se realizó mediante el kit NZY Microbial gDNA Isolation Kit(Nzytech) siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante con una modificación previa destinada a favorecer la lisis de la pared celular bacteriana.

Esta modificación del protocolo consistió en resuspender el sedimento celular en 100 μ L de tampón NME(tampón incluido en el kit), a los que se añadieron 10 μ L de lisozima (500 mg/mL). La suspensión se incubó durante 1 hora a 37 °C(12).

Tras este tratamiento enzimático, se comenzó con el protocolo de extracción indicado por el fabricante hasta la obtención del ADN genómico purificado.

Evaluación de calidad y cuantificación

La integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % p/v utilizando condiciones estándar de migración y empleando RedSafe (Intron Biotechnology) como agente de tinción para posterior revelado mediante luz UV.

La concentración y pureza del ADN se determinaron mediante espectrofotometría utilizando un equipo NanoDrop (BioDrop LT), determinando la absorbancia a 260 nm, así como los ratios de absorbancia a longitudes de onda de 260/280 y 260/230 nm.

Secuenciación genómica.

El ADN genómico obtenido se empleó para la secuenciación completa del genoma de la cepa *L. plantarum* LP1. Las muestras fueron enviadas en frío a Stabvida(Portugal), laboratorio especializado en secuenciación, que realizó la tecnología basada en Illumina. Tras el análisis, el laboratorio externo envió los archivos brutos (raw data) así como los datos de calidad correspondientes para el posterior análisis bioinformático.

Los datos en bruto recibidos se subieron a la aplicación web Proksee(13) y se obtuvo el genoma ensamblado en formato FASTA. A partir de este archivo, se procedió al análisis bioinformático descrito a continuación.

Análisis bioinformático

A continuación se realizaron diversos análisis bioinformáticos para la identificación de propiedades probióticas tales como ausencia/presencia de genes de resistencia a antibióticos; identificación de factores de virulencia; metabolismo de carbohidratos; adhesión; resistencia a condiciones ambientales adversas e inmunomodulación.

Cepas bacterianas y genomas analizados.

Los genomas completos en formato FASTA de 5 de las 6 cepas de *L. plantarum* estudiadas se obtuvieron a partir de las bases de datos de NCBI: Las cepas y sus códigos de acceso fueron: WCFS1 (GCA_000203855.3), ATCC 8014 (GCA_002749655.1), Y42 (CP116377), KU15149 GCA_002897015.1, ZJ316 (GCA_000338115.2).

El genoma de la cepa numero 6, LP1, se obtuvo mediante el procedimiento explicado en el apartado anterior.

Análisis básico y comparación estructural

El análisis básico de los genomas se realizó con la herramienta de anotación genómica Bakta(14,15) disponible en línea. Esta herramienta permite la identificación de características y componentes genómicos como: tamaño del genoma (pares de bases), %GC, genes codificantes (CDS), ARN ribosómico(rRNA), ARN de transferencia(tRNA) y RNA no codificante(ncRNA).

Identificación de genes de resistencia a antibióticos

El estudio de genes de resistencia a antibióticos se hizo utilizando la herramienta RGI con su base de datos CARD(Comprehensive Antibiotic Resistance Database)(16).

Se utilizaron los parámetros por defecto de la herramienta y se obtuvo información como la familia del gen de resistencia, el criterio de detección y el % de identidad con la región de coincidencia, entre otros.

Identificación de factores de virulencia

La detección de factores de virulencia se realizó mediante el uso de la herramienta VFanalizer la cual hace una búsqueda de similitud de secuencias entre el genoma enviado y las bases de datos de VFDB (Virulence Factor Data Base) para predecir posibles genes asociados a factores de virulencia (17).

Para cada cepa analizada se envió un archivo FASTA con el genoma completo, y la herramienta mediante homología de secuencia en genes ortólogos, realizó la identificación de genes asociados a factores de virulencia.

Metabolismo de carbohidratos

Se empleó la herramienta informática en línea dbCAN3(18). A partir del archivo FASTA completo de cada uno de los genomas, se usaron los 3 filtros posibles (Diamond, HMMER, dbCAN_sub) y se seleccionaron las enzimas que mostraron resultados positivos en los 3 filtros.

Adhesión

Para la definición de posibles candidatos a factores de adhesión se hizo previamente una búsqueda en la herramienta de inteligencia artificial chatGPT pidiendo que devolviera posibles factores de adhesión en bacterias probióticas. A continuación, se realizó una búsqueda manual de los posibles factores de adhesión en los archivos de las anotaciones en formato .TSV obtenido de la aplicación web Bakta. Se buscaron proteínas de unión a mucina, así como sortasas, exosortasas, proteínas con motivos LPXTG y factores de agregación.

Resistencia al ácido y a la bilis. Respuesta a condiciones de estrés.

La resistencia a las condiciones gastrointestinales se evaluó analizando los genomas de las cepas, siguiendo el mismo procedimiento del apartado anterior centrado la búsqueda de genes en la anotación .TSV de la aplicación web Bakta. En ella se buscaron genes que permiten la resistencia a diversas condiciones adversas como las encontradas en el tracto digestivo. Los genes candidatos y su función se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Relación de los posibles genes de resistencia al ácido y a la bilis y la función que tienen.

Gen/Sistema	Función
ATPasa F0F1	Expulsa protones de la célula y ayuda a mantener el pH intracelular.
Sistema glutamato descarboxilasa, GAD	La glutamato descarboxilasa consume protones durante la descarboxilación del glutamato, contribuyendo a la resistencia ácida.
Sistema arginina deiminasa, ADI	Generan amoníaco y ayudan a neutralizar acidez.
Bile salt hydrolase, BSH	La BSH hidroliza las sales biliares conjugadas.
Chaperonas y proteínas de estrés	Las chaperonas participan en el correcto plegamiento y reparación de proteínas que han sido dañadas por condiciones adversas como el pH ácido, las sales biliares o el estrés oxidativo.
Estrés oxidativo	Se evaluó la resistencia al estrés oxidativo mediante la búsqueda de genes relacionados con la resistencia a especies reactivas del oxígeno (ROS) como el peróxido de hidrógeno, el anión superóxido y los radicales hidroxilo.

Inmunomodulación

La capacidad de inmunomodulación se analizó haciendo un estudio de las anotaciones en el archivo .TSV obtenidas de la aplicación Bakta y buscando genes y funciones relacionadas con la inmunomodulación. Entre ellos se hizo una búsqueda de las siguientes características mostradas en la Tabla 2.

Tabla 2. Características buscadas en los archivos .TSV con funciones inmunomoduladoras.

Característica	Función
----------------	---------

Biosíntesis de exopolisacáridos (EPS)	Los EPS son polisacáridos extracelulares que constituyen una de las principales estructuras de interacción entre la bacteria y el hospedador. Se ha descrito que pueden modular la respuesta de células inmunitarias, favorecer la producción de citocinas antiinflamatorias como IL-10 y contribuir al mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal. Por ello, los genes implicados en su biosíntesis son considerados marcadores relevantes de potencial inmunomodulador.
Modificación de ácidos teicoicos	Los ácidos teicoicos son componentes fundamentales de la pared celular de bacterias Gram positivas. La modificación de estas moléculas mediante genes como <i>dltABCD</i> altera las propiedades superficiales bacterianas y su reconocimiento por receptores inmunitarios del hospedador, especialmente TLR2. Estas modificaciones pueden influir en la intensidad de la respuesta inflamatoria inducida por la bacteria.
Proteínas de adhesión y unión al moco	Las proteínas de adhesión favorecen la interacción directa de la bacteria con la mucosa intestinal y las células epiteliales. Una mayor capacidad de adhesión incrementa el tiempo de permanencia en el intestino y facilita la comunicación bacteria-hospedador, permitiendo que otros factores probióticos ejerzan efectos inmunomoduladores de manera más eficiente.
Sortasas	Las sortasas son enzimas responsables del anclaje de proteínas de superficie a la pared celular bacteriana. Muchas de estas proteínas participan en la adhesión al epitelio intestinal y en la interacción con células inmunitarias. Por ello, la presencia de <i>srtA</i> se considera un indicador de la capacidad potencial de establecer interacciones estrechas con el hospedador.

Bacteriocinas

La identificación de genes potencialmente implicados en la producción de bacteriocinas se llevó a cabo mediante el análisis de las anotaciones genómicas de seis cepas de *L. plantarum*.

A partir de dichos archivos, se realizó una búsqueda dirigida de genes pertenecientes al locus de plantaricinas (*pln*), principal sistema bacteriocínico descrito en *L. plantarum*. Se examinaron tanto los genes estructurales responsables de la síntesis de bacteriocinas, incluyendo *plnE*, *plnF*, *plnJ*, *plnK* y los genes correspondientes a los péptidos α y β de la plantaricina NC8, como los genes implicados en su regulación (*plnR*, *plnS*, *plnU*), exportación (*plnG*) e inmunidad (*plnI*, *plnL*, *plnM* y *plnP*).

Posteriormente, se registró la presencia o ausencia de cada uno de estos genes en las distintas cepas y se elaboró una tabla comparativa para facilitar el análisis de las diferencias en el potencial bacteriocínico entre ellas. La interpretación de los resultados se basó en la composición y complejidad de los loci de plantaricinas identificados,

considerando que la presencia conjunta de genes estructurales, reguladores, de transporte e inmunidad constituye un indicio de la capacidad potencial de producir bacteriocinas funcionales.

Resultados y discusión

Para abordar los objetivos planteados en esta investigación, en primer lugar, se llevó a cabo un trabajo de laboratorio orientado a la obtención de ADN genómico de la cepa *L. plantarum* LP1, aislada a partir del probiótico comercial Lactoflora®, con el fin de disponer de material genético de calidad para su posterior estudio y secuenciación del genoma completo. En segundo lugar, se realizó un análisis bioinformático comparativo de esta cepa junto con otras cinco cepas de *L. plantarum* (WCFS1, ATCC 8014, Y42, KU15149 y ZJ316), con el propósito de identificar determinantes genéticos relacionados con propiedades probióticas de interés

Extracción del ADN genómico de *L. plantarum* y secuenciación.

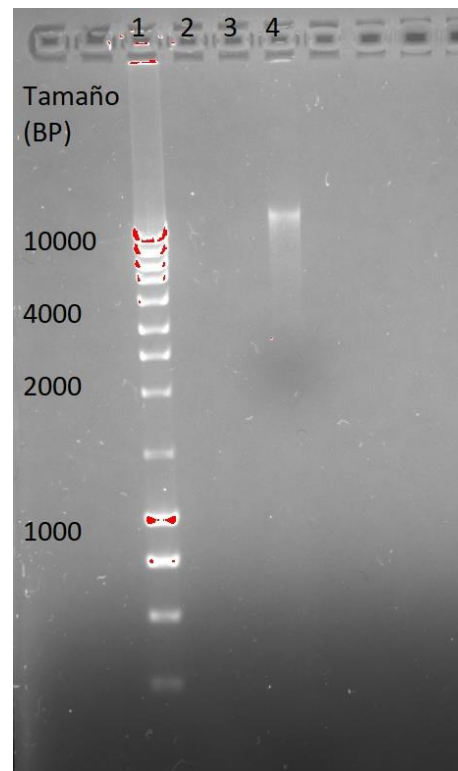
Evaluación de calidad y cuantificación

Tras el cultivo de *L. plantarum* LP1 en caldo MRS durante 24 horas a 37 °C, se procedió a la extracción de ADN genómico utilizando el kit NZY Microbial gDNA Isolation Kit(NZYTech), incorporando una etapa previa de lisis enzimática con lisozima para favorecer la ruptura de la pared celular bacteriana, ya que en las bacterias Gram positivas es mas dificultoso.

La cuantificación espectrofotométrica mediante NanoDrop mostró una concentración final de ADN de 83 µg/mL, indicando un rendimiento adecuado para los análisis posteriores. Asimismo, los valores de absorbancia obtenidos fueron de 2,024 para la relación A260/A280 y de 1,169 para la relación A260/A230, indicando una adecuada pureza de la muestra.

La integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 %p/v. EL ADN presentó una única banda de elevado peso molecular sin evidencias

apreciables de degradación, lo que indica una extracción satisfactoria y la preservación de la integridad del material genético (Ilustración 1).



*Ilustración 1. Imagen del gel de agarosa realizado para comprobar la integridad del genoma. Carril: marcador de peso molecular NZYDNA Ladder III de Nzytech, carriles 2 y 3: vacíos, y carril 4: ADN genómico de *L. plantarum* (LPI).*

Tras confirmar que la muestra cumplía los parámetros de calidad y pureza, esta fue enviada a StabVida(Portugal) para su secuenciación mediante la técnica Illumina.

La secuenciación Illumina es una tecnología de secuenciación masiva basada en el principio de secuenciación por síntesis (*sequencing by synthesis*, SBS), en la que nucleótidos marcados con fluoróforos se incorporan de forma secuencial a cadenas de ADN en crecimiento, permitiendo determinar su secuencia mediante la detección de señales fluorescentes(19). Como resultado, se obtuvieron dos archivos de resultados en formato FASTA (R1 y R2), que fueron ensamblados en un único archivo FASTA mediante la aplicación web Proksee. El resto de genomas fueron descargados directamente de la web de NCBI a partir de su código de acceso.

Información básica de los genomas

Los resultados del análisis básico del genoma obtenidos mediante la herramienta Bakta muestran una elevada homogeneidad entre las seis cepas de *L. plantarum* estudiadas. El tamaño genómico osciló entre 3.264.387 pb en la cepa KU15149 y 3.395.341 pb en LP1, con una diferencia máxima relativamente baja que refleja la conservación estructural característica de esta especie. La cepa LP1 presenta el genoma más grande (3.395.341 pb), mientras que KU15149 poseía el más pequeño (3.264.387 pb).

El contenido de GC es muy similar en todas las cepas, situándose entre el 44,4 % y el 44,6 %, lo que indica una alta estabilidad composicional y coincide con los valores descritos para la especie *L. plantarum*(20). Esta uniformidad sugiere una estrecha relación filogenética entre las cepas analizadas.

En cuanto al número de genes codificantes (CDS), se observó una variación moderada, desde 3.057 genes en KU15149 hasta 3.236 genes en LP1. De forma general, las cepas con genomas de mayor tamaño tienden a presentar un mayor número de CDS, lo que podría estar relacionado con una mayor capacidad metabólica o adaptativa. La cepa ZJ316 destacó por presentar 3.135 CDS a pesar de no poseer el genoma más grande del conjunto.

Respecto a los genes de ARN ribosómico (rRNA), la mayoría de las cepas presentaron entre 15 y 16 genes, excepto LP1, que mostró únicamente 3 genes rRNA. Este resultado podría reflejar errores en el ensamblaje o la anotación genómica, ya que se trata de un valor considerablemente inferior al observado en el resto de cepas. El número de genes tRNA varió entre 65 y 74, manteniéndose dentro de un rango estrecho que evidencia una organización genómica conservada. Finalmente, los genes de ARN no codificante (ncRNA) presentaron valores entre 4 y 9, siendo ATCC 8014 la cepa con mayor número de estos elementos. En conjunto, estos resultados, recogidos en la Tabla 3, ponen de manifiesto una notable conservación genómica entre las cepas estudiadas, aunque existen pequeñas diferencias que podrían contribuir a las particularidades funcionales y probióticas de cada una de ellas.

Tabla 3. Tabla en la que se muestra información básica de los genomas de las 6 cepas bacterianas estudiadas.

Cepa	Tamaño genoma(BP)	%G C	Nº genes codificantes/CDS	rRNA genes	tRNA genes	ncRN A
------	-------------------	------	---------------------------	------------	------------	--------

WCFS1	3,348,624	0.44 4	3124	16	74	4
ATCC 8014	3,309,473	0.44 5	3104	15	67	9
Y42	3,324,561	0.44 6	3098	16	73	7
KU15149	3,264,387	0.44 4	3057	16	70	7
ZJ316	3,299,755	0.44 5	3135	15	65	6
LP1	3,395,341	0.44 4	3236	3	68	8

Genes de resistencia a antibióticos.

El análisis de genes de resistencia a antibióticos realizado mediante RGI y la base de datos CARD mostró resultados idénticos en las seis cepas de *L. plantarum* estudiadas. En todos los casos se detectó un único gen asociado a resistencia antimicrobiana, identificado como vanY en el cluster vanB. Este gen pertenece a la familia vanY, relacionada con los mecanismos de resistencia a glicopéptidos.

La detección se realizó mediante el modelo de proteína homóloga lo que indica que la asignación se basa en la similitud proteica con secuencias de referencia incluidas en CARD. Todas las cepas presentaron un porcentaje de cobertura muy elevado respecto a la secuencia de referencia (95,9 %), aunque el porcentaje de identidad fue relativamente bajo (31,93 %). La presencia de este gen en todas las cepas sugiere que se trata de una característica conservada dentro de los genomas analizados. No obstante, el bajo nivel de identidad observado indica que estas secuencias son divergentes respecto a los genes de resistencia descritos en microorganismos clínicamente relevantes, por lo que serían necesarios estudios adicionales para determinar su posible funcionalidad y relevancia biológica.

A la vista de estos resultados, podemos concluir que las cepas estudiadas, carecen de genes de resistencia a antibióticos, característica esperada y favorable para que una cepa pueda considerarse como probiótico(21).

Factores de virulencia

Mediante la herramienta VFanalizer se constató que este grupo de bacterias tienen genes homólogos a factores de virulencia presentes en bacterias patógenas, pero estos resultados hay que interpretarlos con cautela. En la mayoría de casos se trata de similitud de secuencia con proteínas conservadas con funciones fisiológicas normales no asociadas a patogenicidad.

Se encontraron genes de adhesión de manera consistente en todas las cepas como *lap*, *plr/gapA*. Estas proteínas pueden participar en la adhesión a la superficie intestinal, lo cual es una característica probiótica.

También se identificaron genes como *cps4I*, *cpsY*, *rmlA*, *rmlB* y *rfbD* que forman parte de polisacáridos de la cápsula, los cuales confieren protección a la bacteria y pueden generar inmunomodulación positiva en el huésped, y no virulencia clínica.

En todas las cepas apareció también el gen *lisR*, descrito en *Listeria monocytogenes*, aunque en bacterias no patógenas su función es participar en la supervivencia bajo estrés ácido y condiciones gastrointestinales.

Comparativamente se observa que todas estas cepas tienen un perfil muy parecido, resultado esperado ya que pertenecen a la misma especie. Aun así podemos confirmar que las cepas WCFS1 y ATCC 8014 tienen un número algo superior de coincidencias, mientras que Y42 y ZJ316 mostraron un menor número de coincidencias.

La conclusión de este apartado es que no se aprecian marcadores clásicos de alta virulencia como toxinas mayores o genes claramente patogénicos. Por lo tanto, este perfil coincide con el de bacterias probióticas que no tienen un riesgo asociado.

Las tablas con los datos obtenidos de la herramienta se pueden consultar en la sección Anexo.

Metabolismo de carbohidratos.

El análisis de enzimas activas sobre carbohidratos mediante el uso de la herramienta dbCAN3 reveló una elevada diversidad de familias de enzimas implicadas en dicho metabolismo en las seis cepas de *L. plantarum*, lo que pone de manifiesto una notable

capacidad para metabolizar una amplia variedad de carbohidratos presentes tanto en el medio ambiente como en el tracto gastrointestinal. En la Tabla 4 se presenta un resumen de las enzimas implicadas en el metabolismo de carbohidratos.

En todas las cepas se identificaron numerosas glicosiltransferasas (GT), especialmente pertenecientes a las familias GT2, GT4, GT5, GT28, GT51, GT111 y GT125, implicadas en la biosíntesis de polisacáridos, glicoconjugados y componentes de la pared celular bacteriana. Estas enzimas desempeñan un papel importante en procesos relacionados con la colonización, la formación de biopelículas y la interacción con el huésped(22).

Por otro lado, las glicosil hidrolasas (GH) constituyeron el grupo más abundante y diverso, destacando las familias GH1, GH13, GH25, GH32, GH36, GH42, GH65 y GH73. Estas enzimas participan en la degradación de carbohidratos complejos, oligosacáridos y polisacáridos, permitiendo la obtención de azúcares fermentables que pueden ser utilizados como fuente de energía. La presencia recurrente de varias subfamilias de GH13, asociadas al metabolismo de almidón y α -glucanos, sugiere una especialización en la utilización de carbohidratos de origen vegetal y dietético(23).

La comparación entre cepas mostró un elevado grado de conservación, ya que gran parte de las familias identificadas estuvieron presentes en todos los genomas analizados. No obstante, también se detectaron diferencias que podrían conferir ventajas metabólicas específicas. En concreto, la cepa ZJ316 presentó familias exclusivas como GH85 y GT127, mientras que LP1 destacó por la presencia de GH70, GT122 y del complejo CBM41+CBM48+GH13_14, ausentes en el resto de cepas. Asimismo, WCFS1 y especialmente LP1 mostraron un repertorio enzimático ligeramente más amplio, lo que podría traducirse en una mayor capacidad para utilizar diferentes sustratos hidrocarbonados.

Además de las GH y GT, se identificaron diversos módulos de unión a carbohidratos (CBM), entre ellos CBM32, CBM34, CBM48 y CBM50, que favorecen la unión de las enzimas a sus sustratos y aumentan la eficiencia catalítica(24). También se detectaron enzimas auxiliares (AA10) y carbohidrato esterasas (CE9), implicadas en la modificación y procesamiento de estructuras glucídicas más complejas. La presencia combinada de

estas familias enzimáticas sugiere que las cepas poseen sistemas metabólicos bien desarrollados para la captación, degradación y transformación de carbohidratos(23).

En conjunto, los resultados indican que todas las cepas de *L. plantarum* presentan una importante capacidad de aprovechamiento de carbohidratos, característica que constituye una ventaja adaptativa en ambientes ricos en polisacáridos complejos, como el tracto gastrointestinal. Esta versatilidad metabólica podría contribuir a su supervivencia, persistencia y actividad probiótica, favoreciendo tanto la fermentación de compuestos dietéticos como la producción de metabolitos beneficiosos para el huésped. Además, las diferencias observadas entre cepas sugieren la existencia de capacidades funcionales específicas que podrían influir en su potencial probiótico y en su adaptación a distintos nichos ecológicos.

Tabla 4. Se muestran las enzimas metabolizadoras de carbohidratos presentes en cada cepa. Tabla obtenida con los resultados de la aplicación web dbCAN3.

ATCC	KU15149	WCFS1	Y42	ZJ316	LP1
CBM50+GH 25	GT111	GT4	GT4	GH2_10	GH65
GT4	GT4	GT2	GH1	GH36	GH13_39
GT125	CBM50+GH 25	GT125	GT51	GH73	GT35
GH1	GH1	GT111	GT2	GH25	GT5
GT51	GT51	GH1	AA10	GT4	CBM48+GH13_9
GT2	GT2	GT51	GH65	GT127	GT4
AA10	AA10	GH13	GH25	GT111	GT2
GH65	GH13	AA10	GH13	GT2	GH1
GH25	GH65	GH65	GH13_48	GT125	GH73
GH13	GH25	GH13_48	CBM32+GH 85	GH170	GH13_31
GH13_48	GH13_48	GH25	GH32	GH1	GT119
CBM32+GH 85	CBM32+GH 85	CBM32+GH 85	GH13_31	GT51	CBM50+GH25
GH36	GH32	GH32	GT119	GH65	GH0
GH32	GH13_31	GH13_31	CBM50+GH 25	GH31_1	CE9
GH13_31	GT119	GT119	GT28	GH78	GT26
CBM48+GH 13_9	GT28	CBM48+GH 13_9	CBM48+GH 13_9	AA10	GH25
GT119	CBM48+GH 13_9	GT28	GH170	GT119	GH32
GT28	GH73	GH170	GH73	CBM50+GH 25	GH36
GT5	GH13_29	GT5	GT5	GT28	CBM32+GH85
GH73	CBM34+GH 13_20	GH13_29	GH13_29	CBM48+GH 13_9	GH13_48

GT35	GH170	GT35	CBM34+GH 13_20	GT5	GH13
CBM34+GH 13_20	GT5	GH73	GT35	GT35	GH31_1
GH170	GT35	GH13_39	GH13_39	GH13_39	GH170
GH13_39	GH13_39	CBM34+GH 13_20	GH38	CBM34+GH 13_20	GH2_10
GH13_29	GH38	GH42	GH42	GH13_31	GH78
GH38	GH42	GH78	GH78	GH38	GH42
GH42	GH78	GH2_10	GH2_10	GH13	GT111
GH78	GH2_10	GH36	GH36	GH13_48	GT125
GH2_10	GH36	GH31_1	GH31_1	GH85	GT122
GH31_1	GH31_1	GH38	GH125	GH32	CBM34+GH13_20
GH4	CE9	GH125	GH92	GH13_29	GT51
GH125	GT26	GH92	GH20	CE9	GT28
GH92	GH126	GH20	CE9	GT26	GH13_29
GH20	GT125	CE9	GT26	GH42	GH20
CE9		GT26	GH126		GH92
GT26		GT0	GT127		GH125
			GT111		GH38
			GT125		CBM41+CBM48+G H13_14
					GH70
					AA10

Adhesión

El análisis comparativo de los factores genéticos relacionados con la adhesión mostró que todas las cepas estudiadas presentan un repertorio de proteínas compatible con una elevada capacidad de interacción con el epitelio intestinal y la capa mucosa. En primer lugar, se identificaron en las diferentes cepas entre dos y cuatro proteínas con dominios MucBP (Mucus Binding Protein), siendo las cepas KU15149 y LP1 las que presentaron el mayor número de ellas. Estas proteínas median la unión específica a las glicoproteínas presentes en el moco intestinal, favoreciendo la colonización transitoria del tracto gastrointestinal. Asimismo, todas las cepas poseen una sortasa, enzima responsable del anclaje de proteínas de superficie a la pared celular mediante el reconocimiento de motivos LPXTG(25)(26). La presencia adicional de exosortasa en todas las cepas excepto KU15149 podría contribuir al anclaje de proteínas especializadas implicadas en la interacción célula-hospedador.

Por otro lado, se observó un elevado número de proteínas con motivo LPXTG, con valores comprendidos entre 14 y 17 proteínas por cepa. Estas proteínas constituyen uno

de los principales sistemas de adhesión en bacterias Gram positivas, ya que actúan como adhesinas de superficie capaces de reconocer componentes del moco y de la matriz extracelular(26). Las cepas WCFS1 y Y42 presentaron el mayor número de proteínas con motivo LPXTG, lo que podría conferirles una mayor versatilidad adhesiva. Finalmente, todas las cepas codificaban un factor de agregación, proteína relacionada con la auto agregación bacteriana y la formación de microcolonias, características que favorecen la persistencia intestinal y la exclusión competitiva de microorganismos potencialmente patógenos(27). En conjunto, estos resultados sugieren que todas las cepas poseen un elevado potencial de adhesión, destacando KU15149 y LP1 por su mayor número de proteínas MucBP, y WCFS1 e Y42 por presentar el repertorio más amplio de proteínas con motivo LPXTG. Estos datos aparecen recogidos en la Tabla 5 de una manera más visual.

Tabla 5 . Tabla en la que se recogen los factores de adhesión presentes en cada cepa bacteriana. Realizada mediante búsqueda manual en las anotaciones .TSV de cada cepa. La cifra indica el número de genes presentes de cada característica y la presencia o no de factor de agregación.

Característica	ATCC8014	KU15149	WCFS1	Y42	ZJ316	LP1
MucBP	3	4	3	3	2	4
Sortasa	1	1	1	1	1	1
Exosortasa	1	0	1	1	1	1
Proteínas LPXTG	15	15	17	17	14	14
Factor de agregación	Si	Si	Si	Si	Si	Si

Resistencia a ácido y bilis

Tras el análisis de las anotaciones genómicas se pudieron identificar diversos genes asociados a la resistencia frente a condiciones adversas del tracto gastrointestinal. En todas las cepas analizadas se detectó el operón completo de la ATPasa F_oF₁, implicado en el mantenimiento de la homeostasis intracelular mediante la expulsión de protones en condiciones de pH ácido(28). Asimismo, se identificaron genes pertenecientes al sistema glutamato descarboxilasa, relacionado con la tolerancia al estrés ácido. Por el contrario, no se detectaron genes correspondientes al sistema arginina deiminasa (ADI) que genera amoníaco y ayuda a neutralizar la acidez.

En relación con la respuesta al estrés celular, todas las cepas presentaron los genes que codifican las chaperonas moleculares DnaK, DnaJ, GrpE, GroEL y GroES, así como las proteínas del sistema Clp (ClpP, ClpC, ClpX y ClpL), implicadas en el mantenimiento de la homeostasis proteica y en la respuesta frente a condiciones de estrés. Entre las funciones de estas chaperonas están las del correcto plegamiento de proteínas, su reparación ante daño por condiciones de estrés o su degradación y eliminación en el caso de no poder ser reparadas(29).

Respecto a la tolerancia a sales biliares, se identificó el gen *bsh* (bile salt hydrolase) en todas las cepas analizadas teniendo como función principal hidrolizar las sales biliares conjugadas(30). Además, se detectaron numerosos genes relacionados con la respuesta al estrés oxidativo y el mantenimiento del equilibrio redox celular, incluyendo *trxA*, *trxB*, *tpx*, *nox*, *NADH peroxidasa*, *gshA*, *gshB*, *msrA*, *msrB*, *dps*, *recA* y *fur*(31). En conjunto, los resultados muestran una elevada conservación de los mecanismos genéticos asociados a la resistencia al ácido, a las sales biliares y al estrés celular entre las cepas estudiadas. Estos resultados se pueden consultar en la Tabla 6.

Tabla 6. Tabla resumen de la presencia/ausencia de características de resistencia al ácido, bilis y diferentes situaciones de estrés. Se ha realizado mediante una búsqueda manual en las anotaciones de los genomas de cada cepa.

Característica	ATCC	KU15149	WCFS1	Y42	ZJ316	LP1
ATPasa F0F1	Presente y completa	Presente y completa	Presente y completa	Presente y completa	Presente y completa	Presente y completa
Sistema glutamato descarboxilasa	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Sistema arginina deiminasa	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Chaperonas y proteínas de estrés	<i>dnaK</i> <i>dnaJ</i> <i>grpE</i> <i>groEL</i> <i>groES</i> <i>clpP</i> <i>clpC</i> <i>clpX</i> <i>clpL</i>	<i>dnaK</i> <i>dnaJ</i> <i>grpE</i> <i>groEL</i> <i>groES</i> <i>clpP</i> <i>clpC</i> <i>clpX</i> <i>clpL</i>	<i>dnaK</i> <i>dnaJ</i> <i>grpE</i> <i>groEL</i> <i>groES</i> <i>clpP</i> <i>clpC</i> <i>clpX</i> <i>clpL</i>	<i>dnaK</i> <i>dnaJ</i> <i>grpE</i> <i>groEL</i> <i>groES</i> <i>clpP</i> <i>clpC</i> <i>clpX</i> <i>clpL</i>	<i>dnaK</i> <i>dnaJ</i> <i>grpE</i> <i>groEL</i> <i>groES</i> <i>clpP</i> <i>clpC</i> <i>clpX</i> <i>clpL</i>	<i>dnaK</i> <i>dnaJ</i> <i>grpE</i> <i>groEL</i> <i>groES</i> <i>clpP</i> <i>clpC</i> <i>clpX</i> <i>clpL</i>
Bile salt hydrolase, BSH	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente

Estrés oxidativo y estrés general	<i>trxA</i>	<i>trxA</i>	<i>trxA</i>	<i>trxA</i>	<i>trxA</i>	<i>trxA</i>
	<i>trxB</i>	<i>trxB</i>	<i>trxB</i>	<i>trxB</i>	<i>trxB</i>	<i>trxB</i>
	<i>tpx</i>	<i>tpx</i>	<i>tpx</i>	<i>tpx</i>	<i>tpx</i>	<i>tpx</i>
	<i>nox</i>	<i>nox</i>	<i>nox</i>	<i>nox</i>	<i>nox</i>	<i>nox</i>
	<i>NADH</i>	<i>NADH</i>	<i>NADH</i>	<i>NADH</i>	<i>NADH</i>	<i>NADH</i>
	<i>peroxidasa</i>	<i>peroxidasa</i>	<i>peroxidasa</i>	<i>peroxidasa</i>	<i>peroxidasa</i>	<i>peroxidasa</i>
	<i>gshA</i>	<i>gshA</i>	<i>gshA</i>	<i>gshA</i>	<i>gshA</i>	<i>gshA</i>
	<i>gshB</i>	<i>gshB</i>	<i>gshB</i>	<i>gshB</i>	<i>gshB</i>	<i>gshB</i>
	<i>msrA</i>	<i>msrA</i>	<i>msrA</i>	<i>msrA</i>	<i>msrA</i>	<i>msrA</i>
	<i>msrB</i>	<i>msrB</i>	<i>msrB</i>	<i>msrB</i>	<i>msrB</i>	<i>msrB</i>
	<i>dps</i>	<i>dps</i>	<i>dps</i>	<i>dps</i>	<i>dps</i>	<i>dps</i>
	<i>recA</i>	<i>recA</i>	<i>recA</i>	<i>recA</i>	<i>recA</i>	<i>recA</i>
	<i>fur</i>	<i>fur</i>	<i>fur</i>	<i>fur</i>	<i>fur</i>	<i>fur</i>

Inmunomodulación

El análisis de genes relacionados con la inmunomodulación mostró que las seis cepas de *L. plantarum* conservan los principales determinantes genéticos implicados en la interacción con el hospedador. En primer lugar, todas las cepas presentaron el operón *dltABCD* completo, responsable de la D-alanilación de los ácidos teicoicos de la pared celular. Esta modificación altera la carga superficial de la bacteria y puede influir en el reconocimiento por receptores del sistema inmunitario innato, especialmente TLR2, modulando la intensidad de la respuesta inflamatoria(32).

En relación con la biosíntesis de exopolisacáridos (EPS), todas las cepas conservaron el gen *epsC*, mientras que cinco de las seis también presentaron *epsD*, lo que indica la presencia de la maquinaria básica necesaria para la síntesis de polisacáridos extracelulares. Los EPS constituyen uno de los principales componentes de la superficie bacteriana y desempeñan un papel relevante en la interacción con el hospedador, ya que contribuyen a la protección frente al estrés ambiental, favorecen la adhesión y colonización intestinal y pueden modular la respuesta inmunitaria promoviendo un perfil antiinflamatorio(33). Se observaron diferencias entre cepas en la composición del clúster *eps*. La cepa ATCC 8014 presentó únicamente *epsC*, mientras que KU15149 y WCFS1 conservaron tanto *epsC* como *epsD*. Por su parte, Y42 incorporó además *epsI*, y las cepas ZJ316 y LP1 mostraron el repertorio más amplio al presentar *epsC*, *epsD* y *epsG*, incorporando además *epsI* en el caso de ZJ316, como se puede apreciar en la Tabla 7. Estas diferencias sugieren una mayor diversidad en los sistemas de biosíntesis y

modificación de los exopolisacáridos entre cepas, lo que podría traducirse en variaciones en la composición y estructura de los polisacáridos de superficie y, potencialmente, en su capacidad de interacción con el sistema inmunitario del hospedador, aunque esta hipótesis requeriría validación experimental.

Asimismo, todas las cepas codificaron una única sortasa, enzima responsable del anclaje de proteínas de superficie con motivo LPXTG a la pared celular, mientras que el número de proteínas con dominio MucBP osciló entre dos y cuatro copias. Estas proteínas participan en la unión al moco intestinal y favorecen el establecimiento de interacciones estrechas con el epitelio.

Tabla 7. Tabla donde se muestran genes con capacidades inmunomoduladoras de cada cepa.

Característica	ATCC 8014	KU15149	WCFS1	Y42	ZJ316	LP1
Operón dltABCD	Completo	Completo	Completo	Completo	Completo	Completo
Exopolisacaridos(EPS) (genes implicados en su síntesis)	<i>epsC</i>	<i>epsC</i> <i>epsD</i>	<i>epsC</i> <i>epsD</i>	<i>epsC</i> <i>epsD</i> <i>epsI</i>	<i>epsC</i> <i>epsD</i> <i>epsG</i> <i>epsI</i>	<i>epsC</i> <i>epsD</i> <i>epsG</i>
MucBP(número de proteínas con dominio MucBP)	3	4	3	3	2	4
Sortasa(número de sortasas)	1	1	1	1	1	1

Bacteriocinas

El análisis comparativo de los genes relacionados con la producción de bacteriocinas reveló diferencias relevantes entre las seis cepas de *L. plantarum* estudiadas, aunque todas ellas mostraron la presencia de al menos algunos elementos asociados al sistema de plantaricinas. Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos sintetizados en el ribosoma que proporcionan una ventaja competitiva frente a otros microorganismos presentes en el mismo nicho ecológico, contribuyendo además a una de las propiedades más valoradas de los probióticos: la capacidad de inhibir microorganismos potencialmente patógenos en el tracto gastrointestinal(34).

Las cepas KU15149, WCFS1 y Y42 presentaron los loci de plantaricinas más completos, incluyendo genes estructurales, reguladores, de exportación e inmunidad. En estas cepas se identificaron los genes *plnE-plnF* y *plnJ-plnK*, responsables de la síntesis de las plantaricinas EF y JK, respectivamente. Ambas pertenecen al grupo de las bacteriocinas de clase IIb, caracterizadas por requerir la acción conjunta de dos péptidos para ejercer su actividad antimicrobiana. Estas bacteriocinas actúan principalmente alterando la permeabilidad de la membrana citoplasmática de bacterias sensibles, provocando la pérdida del gradiente electroquímico y, finalmente, la muerte celular.

La cepa LP1 destacó por presentar, además de los genes de plantaricina EF y JK, los genes que codifican los péptidos α y β de la plantaricina NC8. Esta bacteriocina también pertenece a la clase IIb y ha sido descrita por su actividad frente a diversas bacterias Gram positivas, incluyendo especies de interés alimentario y sanitario(35). La coexistencia de varios sistemas bacteriocínicos en una misma cepa puede ampliar el espectro de inhibición y aumentar la competitividad de la bacteria en ecosistemas complejos como el tracto gastrointestinal. Asimismo, la presencia de genes reguladores (*plnR*, *plnS*, *plnU*), genes de transporte (*plnG*) y genes de inmunidad (*plnI*, *plnL*, *plnP*) sugiere que el sistema podría ser funcional y estar correctamente regulado.

La cepa ZJ316 presentó un repertorio intermedio, conservando los genes de plantaricina JK y NC8, así como varios genes de regulación e inmunidad, aunque careciendo de algunos componentes presentes en las cepas con los loci más completos. Por su parte, ATCC 8014 mostró el sistema bacteriocínico más reducido, limitándose principalmente a los genes de plantaricina EF y a algunos genes asociados a transporte e inmunidad, lo que podría traducirse en una menor capacidad antagonista frente a otros microorganismos.

Tabla 8. Tabla comparativa de las distintas bacteriocinas presentes en las 6 cepas de bacterias estudiadas.

Gen/Sistema	ATCC 8014	KU15149	WCFS1	Y42	ZJ316	LP1
Plantaracina EF	Si	Si	Si	Si	X	Si
Plantaracina JK	X	Si	Si	Si	Si	Si
Plantaracina NC8	X	X	X	X	Si	Si
<i>plnA</i>	X	Si	Si	Si	X	X
<i>plnN</i>	X	Si	Si	Si	X	X
<i>plnO</i>	X	Si	Si	Si	X	X
<i>plnQ</i>	X	Si	Si	Si	X	X
<i>plnR</i>	X	Si	Si	Si	Si	Si

pInG	Si	Si	Si	Si	X	Si
pInS	Si	X	X	X	Si	Si
pInT	X	Si	Si	Si	X	X
pInU	Si	Si	Si	Si	Si	Si
pInL(inmunidad)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
pInI(inmunidad)	Si	Si	Si	Si	X	Si
pInP(inmunidad)	X	Si	Si	Si	Si	Si
pInM(inmunidad)	X	Si	Si	Si	X	X

En conjunto, los resultados indican que todas las cepas poseen potencial para producir compuestos antimicrobianos, aunque dicho potencial varía considerablemente entre ellas, como se observa en la Tabla 8. Las cepas KU15149, WCFS1, Y42 y especialmente la cepa LP1 presentan los perfiles más prometedores desde el punto de vista probiótico, debido a la presencia simultánea de múltiples sistemas de plantaricinas y de los mecanismos necesarios para su regulación, secreción y autoprotección. Estas características podrían favorecer la colonización intestinal y contribuir a la exclusión competitiva de microorganismos indeseables, reforzando así su interés como posibles probióticos.

Objetivos de desarrollo sostenible

El presente trabajo se relaciona principalmente con el objetivo de desarrollo sostenible (ODS) 3: Salud y bienestar, ya que la caracterización genómica de 6 cepas de *L. plantarum* permite identificar características asociadas a su potencial probiótico, contribuyendo al desarrollo o elección de microorganismos seguros y eficaces con posibles aplicaciones en la mejora de la salud humana.

Desde el punto de vista de la sostenibilidad, el trabajo presenta una dimensión social, al generar conocimiento orientado a mejorar la salud y el bienestar de la población, y una dimensión económica, al aportar información de utilidad para el desarrollo de nuevos productos biotecnológicos con potencial aplicación industrial.

Conclusiones

El presente trabajo ha permitido identificar y comparar marcadores genómicos asociados al potencial probiótico de seis cepas de *L. plantarum* mediante un enfoque basado en

secuenciación genómica y análisis bioinformático. Además, se obtuvo el ensamblaje y la anotación del genoma completo de la cepa LP1, ampliando la información genómica disponible para esta cepa y permitiendo su comparación con otras cepas de referencia.

El análisis comparativo mostró una elevada conservación genómica entre las seis cepas, reflejada en parámetros estructurales como el tamaño del genoma, el contenido en GC y el número de genes codificantes. No obstante, también se identificaron diferencias en determinados genes y sistemas funcionales que podrían contribuir a las particularidades biológicas de cada cepa.

Desde el punto de vista de la seguridad, todas las cepas presentaron un perfil compatible con su utilización como probióticos. No se detectaron genes clásicos de resistencia adquirida a antibióticos ni factores de virulencia asociados a patogenicidad. Los genes identificados mediante las herramientas RGI y VFAnalyzer corresponden mayoritariamente a proteínas conservadas con funciones fisiológicas normales o a homologías de baja identidad, por lo que no constituyen evidencias de riesgo biológico.

Todas las cepas conservaron genes relacionados con la supervivencia en el tracto gastrointestinal, incluyendo sistemas de resistencia al estrés ácido, tolerancia a sales biliares y respuesta frente a estrés oxidativo. La presencia del operón de la ATPasa FoF₁, del gen *bsh*, de numerosas chaperonas moleculares y de proteínas implicadas en el mantenimiento de la homeostasis celular sugiere una elevada capacidad para soportar las condiciones adversas presentes durante el tránsito gastrointestinal.

Asimismo, el estudio de los factores de adhesión puso de manifiesto que todas las cepas poseen un importante repertorio de proteínas implicadas en la interacción con la mucosa intestinal, incluyendo proteínas MucBP, proteínas con motivo LPXTG, sortasas y factores de agregación. Estas características indican una elevada capacidad potencial de colonización transitoria y de establecimiento de interacciones con el hospedador.

El análisis del metabolismo de carbohidratos reveló una notable versatilidad metabólica, con un amplio repertorio de enzimas metabolizadoras conservadas entre las cepas y algunas diferencias específicas que podrían ampliar la utilización de determinados sustratos. En particular, las cepas LP1 y ZJ316 presentaron algunas familias exclusivas

de enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos, lo que podría conferirles una mayor capacidad adaptativa frente a distintos nichos ecológicos.

En relación con la inmunomodulación, todas las cepas conservaron el operón *dltABCD* y genes implicados en la biosíntesis de exopolisacáridos, lo que indica la presencia de mecanismos potencialmente relacionados con la interacción con el sistema inmunitario del hospedador. Aunque las diferencias observadas en los clústeres *eps* podrían traducirse en variaciones en la composición de los polisacáridos de superficie.

Finalmente, el análisis de los loci de plantaricinas evidenció diferencias importantes entre cepas. La cepa LP1 destacó por presentar uno de los repertorios bacteriocínicos más completos, incluyendo genes correspondientes a las plantaricinas EF, JK y NC8, además de genes reguladores y de inmunidad, lo que sugiere un elevado potencial para la producción de compuestos antimicrobianos y la exclusión competitiva de microorganismos indeseables.

En conjunto, los resultados obtenidos indican que las seis cepas de *L. plantarum* presentan un elevado potencial probiótico desde el punto de vista genómico, aunque existen diferencias funcionales que podrían condicionar su comportamiento biológico. Este trabajo demuestra la utilidad de las herramientas de genómica comparativa como estrategia para la selección y caracterización preliminar de cepas probióticas y pone de manifiesto la necesidad de complementar estos análisis con estudios experimentales que permitan validar las funciones predichas y confirmar su aplicación en el ámbito biotecnológico y de la salud.

Bibliografía

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization, World Health Organization. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada; 2002.

2. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of Action of Probiotics. *Adv Nutr.* 2019 Jan 1;10(suppl_1):S49–66. doi:10.1093/advances/nmy063 PubMed PMID: 30721959.
3. Khailova L, Baird CH, Rush AA, Barnes C, Wischmeyer PE. Lactobacillus rhamnosus GG treatment improves intestinal permeability and modulates inflammatory response and homeostasis of spleen and colon in experimental model of Pseudomonas aeruginosa pneumonia. *Clin Nutr.* 2017 Dec;36(6):1549–57. doi:10.1016/j.clnu.2016.09.025 PubMed PMID: 27745813.
4. Ballini A, Charitos IA, Cantore S, Topi S, Bottalico L, Santacroce L. About Functional Foods: The Probiotics and Prebiotics State of Art. *Antibiotics (Basel).* 2023 Mar 23;12(4). doi:10.3390/antibiotics12040635 PubMed PMID: 37106999.
5. Torres-Maravilla E, Reyes-Pavón D, Benítez-Cabello A, González-Vázquez R, Ramírez-Chamorro LM, Langella P, et al. Strategies for the Identification and Assessment of Bacterial Strains with Specific Probiotic Traits. *Microorganisms.* 2022 Jul 10;10(7). doi:10.3390/microorganisms10071389 PubMed PMID: 35889107.
6. Binda S, Hill C, Johansen E, Obis D, Pot B, Sanders ME, et al. Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Front Microbiol.* 2020;11:1662. doi:10.3389/fmicb.2020.01662 PubMed PMID: 32793153.
7. Garcia-Gonzalez N, Comas JC, Harris HMB, Strain C, Stanton C, Hill C, et al. Impact of Food Origin Lactiplantibacillus plantarum Strains on the Human Intestinal Microbiota in an in vitro System. *Front Microbiol.* 2022;13:832513. doi:10.3389/fmicb.2022.832513 PubMed PMID: 35450287.
8. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2008 Dec;72(4):728–64, Table of Contents. doi:10.1128/MMBR.00017-08 PubMed PMID: 19052326.

9. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020 Apr 1;70(4):2782–858. doi:10.1099/ijsem.0.004107
10. Fidanza M, Panigrahi P, Kollmann TR. *Lactiplantibacillus plantarum*-Nomad and Ideal Probiotic. *Front Microbiol*. 2021;12:712236. doi:10.3389/fmicb.2021.712236 PubMed PMID: 34690957.
11. Aljohani A, Rashwan N, Vasani S, Alkhawashki A, Wu TT, Lu X, et al. The Health Benefits of Probiotic *Lactiplantibacillus plantarum*: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2025 Oct;17(5):3358–77. doi:10.1007/s12602-024-10287-3 PubMed PMID: 38816672.
12. Alimolaei M, Golchin M. A comparison of methods for extracting plasmids from a difficult to lyse bacterium: *Lactobacillus casei*. *Biologicals*. 2017 Jan;45:47–51. doi:10.1016/j.biologicals.2016.10.001
13. Grant JR, Enns E, Marinier E, Mandal A, Herman EK, Chen C yu, et al. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*. 2023 Jul 5;51(W1):W484–92. doi:10.1093/nar/gkad326
14. Beyvers S, Jelonek L, Goesmann A, Schwengers O. Bakta Web – rapid and standardized genome annotation on scalable infrastructures. *Nucleic Acids Res*. 2025 Jul 7;53(W1):W51–6. doi:10.1093/nar/gkaf335
15. Schwengers O, Jelonek L, Dieckmann MA, Beyvers S, Blom J, Goesmann A. Bakta: rapid and standardized annotation of bacterial genomes via alignment-free sequence identification. *Microb Genom*. 2021 Nov 30;7(11). doi:10.1099/mgen.0.000685
16. Alcock BP, Huynh W, Chalil R, Smith KW, Raphenya AR, Wlodarski MA, et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids*

- Res. 2023 Jan 6;51(D1):D690–9. doi:10.1093/nar/gkac920 PubMed PMID: 36263822.
17. Zhou S, Liu B, Zheng D, Chen L, Yang J. VFDB 2025: an integrated resource for exploring anti-virulence compounds. *Nucleic Acids Res.* 2025 Jan 6;53(D1):D871–7. doi:10.1093/nar/gkae968 PubMed PMID: 39470738.
 18. Zheng J, Ge Q, Yan Y, Zhang X, Huang L, Yin Y. dbCAN3: automated carbohydrate-active enzyme and substrate annotation. *Nucleic Acids Res.* 2023 Jul 5;51(W1):W115–21. doi:10.1093/nar/gkad328
 19. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, Smith GP, Milton J, Brown CG, et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature.* 2008 Nov;456(7218):53–9. doi:10.1038/nature07517
 20. Kleerebezem M, Boekhorst J, van Kranenburg R, Molenaar D, Kuipers OP, Leer R, et al. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Feb 18;100(4):1990–5. doi:10.1073/pnas.0337704100 PubMed PMID: 12566566.
 21. Roe AL, Boyte ME, Elkins CA, Goldman VS, Heimbach J, Madden E, et al. Considerations for determining safety of probiotics: A USP perspective. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2022 Dec;136:105266. doi:10.1016/j.yrtph.2022.105266 PubMed PMID: 36206977.
 22. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nat Rev Microbiol.* 2010 Mar;8(3):171–84. doi:10.1038/nrmicro2297 PubMed PMID: 20157338.
 23. Lombard V, Golaconda Ramulu H, Drula E, Coutinho PM, Henrissat B. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic Acids Res.* 2014 Jan;42(Database issue):D490-5. doi:10.1093/nar/gkt1178 PubMed PMID: 24270786.

24. Boraston AB, Bolam DN, Gilbert HJ, Davies GJ. Carbohydrate-binding modules: fine-tuning polysaccharide recognition. *Biochem J.* 2004 Sep 15;382(Pt 3):769–81. doi:10.1042/BJ20040892 PubMed PMID: 15214846.
25. Mazmanian SK, Liu G, Ton-That H, Schneewind O. Staphylococcus aureus sortase, an enzyme that anchors surface proteins to the cell wall. *Science.* 1999 Jul 30;285(5428):760–3. doi:10.1126/science.285.5428.760 PubMed PMID: 10427003.
26. Call EK, Klaenhammer TR. Relevance and application of sortase and sortase-dependent proteins in lactic acid bacteria. *Front Microbiol.* 2013;4:73. doi:10.3389/fmicb.2013.00073 PubMed PMID: 23579319.
27. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2008 Dec;72(4):728–64, Table of Contents. doi:10.1128/MMBR.00017-08 PubMed PMID: 19052326.
28. Lee MG, Kang MJ, Cha S, Kim TR, Park YS. Acid tolerance responses and their mechanisms in *Lactiplantibacillus plantarum* LM1001. *Food Sci Biotechnol.* 2024 Jul;33(9):2213–22. doi:10.1007/s10068-024-01582-4 PubMed PMID: 39130666.
29. Frees D, Gerth U, Ingmer H. Clp chaperones and proteases are central in stress survival, virulence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol.* 2014 Mar;304(2):142–9. doi:10.1016/j.ijmm.2013.11.009 PubMed PMID: 24457183.
30. Begley M, Gahan CGM, Hill C. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev.* 2005 Sep;29(4):625–51. doi:10.1016/j.femsre.2004.09.003 PubMed PMID: 16102595.
31. Ricciardi A, Parente E, Guidone A, Ianniello RG, Zotta T, Abu Sayem SM, et al. Genotypic diversity of stress response in *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus pentosus*. *Int J Food Microbiol.* 2012 Jul 2;157(2):278–85. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.018 PubMed PMID: 22704047.

32. Grangette C, Nutton S, Palumbo E, Morath S, Hermann C, Dewulf J, et al. Enhanced antiinflammatory capacity of a *Lactobacillus plantarum* mutant synthesizing modified teichoic acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jul 19;102(29):10321–6. doi:10.1073/pnas.0504084102 PubMed PMID: 15985548.
33. Castro-Bravo N, Wells JM, Margolles A, Ruas-Madiedo P. Interactions of Surface Exopolysaccharides From *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* Within the Intestinal Environment. *Front Microbiol*. 2018;9:2426. doi:10.3389/fmicb.2018.02426 PubMed PMID: 30364185.
34. Cotter PD, Hill C, Ross RP. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol*. 2005 Oct;3(10):777–88. doi:10.1038/nrmicro1273 PubMed PMID: 16205711.
35. Jiang H, Tang X, Zhou Q, Zou J, Li P, Breukink E, et al. Plantaricin NC8 from *Lactobacillus plantarum* causes cell membrane disruption to *Micrococcus luteus* without targeting lipid II. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018 Sep;102(17):7465–73. doi:10.1007/s00253-018-9182-3 PubMed PMID: 29982926.

Anexo

Tablas con contenido adicional

ZJ316

Tabla 9. Tabla obtenida con VFAnalyzer. Se muestran los posibles factores de virulencia presentes en la cepa ZJ316 obtenidos mediante similitud de secuencia con factores de virulencia presentes en la base de datos VFDB.

Tipo de factor	Factor de virulencia	Genes relacionados	zj316(Prediction)	
			CP004082.1 (CP004082.1)	CP006248.1 (CP006248.1)
Adherencia	Listeria adhesion protein(Listeria)	lap	orf00201	-
	Streptococcal plasmin receptor/GAPDH(Streptococcus)	plr/gapA	orf00833	-
Enzima	Streptococcal enolase(Streptococcus)	eno	orf01868	-
Evasi3n inmune	Polysaccharide capsule	--	orf00110; orf00765; orf00805; orf01240	-
	Capsule(Streptococcus)	capD	-	orf03139
		cps4I	orf01181	-
		cpsY	orf01813	-
Regulaci3n	LisR/LisK(Listeria)	lisR	orf01527	-
Sistema de secrecci3n	T6SS-II(Klebsiella)	--	orf01852	-
Toxina	Hemolysin(Clostridium)	--	orf01578	-
	Phytotoxin phaseolotoxin(Pseudomonas)	cysC1	orf01412	-
Antifagocitosis	Capsule(Enterococcus)	--	orf01983	-
		cpsI	orf01184; orf01229	-
		cpsJ	orf00529	-
	Capsule(Klebsiella)	gnd	orf01525	-
Resistencia a bilis	Bile-salt hydrolase(Listeria)	bsh	orf00150	-
Invasi3n	Cell wall teichoic acid glycosylation protein(Listeria)	gtcA	orf02600	-
Captaci3n manganeso	Pneumococcal surface antigen A / Metal binding protein SloC(Streptococcus)	psaA	orf01112	-
Bloqueo fagosoma	Nucleoside diphosphate kinase(Mycobacterium)	ndk	orf00436	-
Proteasa	Serine protease(Streptococcus)	htrA/degP	orf00258	-
	Trigger factor(Streptococcus)	tig/ropA	orf02090	-
Resistencia al suero y evasi3n inmunitaria	LPS(Francisella)	--	-	orf03140
Anclaje prote3nas de superficie	Lipoprotein diacylglycerol transferase(Listeria)	lgt	orf00803	-

KU15149

Tabla 4. Tabla obtenida con VFAnalyzer. Se muestran los posibles factores de virulencia presentes en la cepa KU15149 obtenidos mediante similitud de secuencia con factores de virulencia presentes en la base de datos VFDB.

Tipo de factor	Factor de virulencia	Genes relacionados	ku15149(Prediction)		
			CP187839.1 (CP187839.1)	CP187840.1 (CP187840.1)	CP187844.1 (CP187844.1)
Adherencia	Listeria adhesion protein(Listeria)	lap	orf02977	-	-
	Streptococcal plasmin receptor/GAPDH(Streptococcus)	plr/gapA	orf00665	-	-
Enzima	Streptococcal enolase(Streptococcus)	eno	orf01225; orf01637	-	-
Evasión inmune	Polysaccharide capsule	--	orf00589; orf00630; orf01016; orf02870	-	orf03127
	Capsule(Streptococcus)	cps4I	orf00994	-	-
		cpsY	orf01581	-	-
		rfbD	-	-	orf03103
		rmlA	-	-	orf03100
		rmlB	-	-	orf03102
Regulación	LisR/LisK(Listeria)	lisR	orf01300	-	-
Sistema de secreción	T6SS-II(Klebsiella)	--	orf01621	-	-
Toxina	Cytolysin(Enterococcus)	cylR2	-	orf03002	-
	Hemolysin(Clostridium)	--	orf01354	-	-
	Phytotoxin phaseolotoxin(Pseudomonas)	cysC1	orf01176	-	-
Antifagocitosis	Capsule(Enterococcus)	--	orf01746	-	-
		cpsI	orf01005	-	-
		cpsJ	orf00292	-	-
	Capsule(Klebsiella)	gnd	orf01298	-	-
Resistencia a bilis	Bile-salt hydrolase(Listeria)	bsh	orf02919	-	-
Invasión	Cell wall teichoic acid glycosylation protein(Listeria)	gtcA	orf02269	-	-
Captación manganeso	Pneumococcal surface antigen A / Metal binding protein SloC(Streptococcus)	psaA	orf00927	-	-
Bloqueo fagosoma	Nucleoside diphosphate kinase(Mycobacterium)	ndk	orf00205	-	-
Proteasa	Serine protease(Streptococcus)	htrA/degP	orf00036	-	-
	Trigger factor(Streptococcus)	tig/ropA	orf01807	-	-
Adaptación a estrés	Catalase(Neisseria)	katA	orf02947	-	-
Anclaje proteínas de superficie	Lipoprotein diacylglycerol transferase(Listeria)	lgt	orf00628	-	-

ATCC 8014

Tabla 11. Tabla obtenida con VFanalyzer. Se muestran los posibles factores de virulencia presentes en la cepa ATCC 8014 obtenidos mediante similitud de secuencia con factores de virulencia presentes en la base de datos VFDB.

Tipo de factor	Factor de virulencia	Genes relacionados	atcc-8014(Predicción)
			CP024413.1 (CP024413.1)
Adherencia	Listeria adhesion protein(Listeria)	lap	orf03025
	Streptococcal plasmin receptor/GAPDH(Streptococcus)	plr/gapA	orf00664
Enzima	Streptococcal enolase(Streptococcus)	eno	orf01657
Evasión inmune	Polysaccharide capsule	--	orf00593; orf00635; orf01066; orf02870
	Capsule(Streptococcus)	cps4I	orf01041
		cpsY	orf01602
		rfbD	orf01060
		rmlA	orf01057
		rmlB	orf01059
Regulación	LisR/LisK(Listeria)	lisR	orf01326
Sistema de secreción	T6SS-II(Klebsiella)	--	orf01641
Toxina	Hemolysin(Clostridium)	--	orf01377
	Phytotoxin phaseolotoxin(Pseudomonas)	cysC1	orf01183
Respiración anaerobia	Nitrate reductase(Mycobacterium)	narH	orf01285
Antifagocitosis	Capsule(Enterococcus)	--	orf01756
		cpsJ	orf00308
	Capsule(Klebsiella)	gnd	orf01324
Resistencia a bilis	Bile-salt hydrolase(Listeria)	bsh	orf02919
Componentes superficie celular	Trehalose-recycling ABC transporter(Mycobacterium)	sugC	orf03000
Invasión	Cell wall teichoic acid glycosylation protein(Listeria)	gtcA	orf02269
Captación de manganeso	Pneumococcal surface antigen A / Metal binding protein SloC(Streptococcus)	psaA	orf00926
Bloqueo fagosoma	Nucleoside diphosphate kinase(Mycobacterium)	ndk	orf00223
Proteasa	Serine protease(Streptococcus)	htrA/degP	orf00056
	Trigger factor(Streptococcus)	tig/ropA	orf01818
Adaptación al estrés	Catalase(Neisseria)	katA	orf02956
Anclaje de proteínas de superficie	Lipoprotein diacylglycerol transferase(Listeria)	lgt	orf00633

WCFS1

Tabla 12. Tabla obtenida con VFAnalyzer. Se muestran los posibles factores de virulencia presentes en la cepa WCFS1 obtenidos mediante similitud de secuencia con factores de virulencia presentes en la base de datos VFDB.

Tipo de factor	Factor de virulencia	Genes relacionados	wcfs1(Prediction)
			AL935263.2 (AL935263.2)
Adherencia	BslA	bslA	-
	Listeria adhesion protein(Listeria)	lap	orf03132
	Streptococcal plasmin receptor/GAPDH(Streptococcus)	plr/gapA	orf00682
Enzima	Streptococcal enolase(Streptococcus)	eno	orf01644
Evasión inmune	Polysaccharide capsule	--	orf00613; orf00654; orf01057; orf02967
	Capsule(Streptococcus)	--	orf01019
		cps4I	orf01006
		cpsY	orf01589
		rfbD	orf01023
Regulación	LisR/LisK(Listeria)	lisR	orf01318
	T6SS-II(Klebsiella)	clpB	orf01628
Sistema secreción	Hemolysin(Clostridium)	--	orf01369
	Phytotoxin phaseolotoxin(Pseudomonas)	cysC1	orf01173
Respiración anaerobia	Nitrate reductase(Mycobacterium)	narH	orf01277
Antifagocitosis	Capsule(Enterococcus)	--	orf01763
		cpsI	orf01009; orf01045
		cpsJ	orf00294
	Capsule(Klebsiella)	gnd	orf01316
Resistencia a bilis	Bile-salt hydrolase(Listeria)	bsh	orf03017
Componentes superficie celular	Trehalose-recycling ABC transporter(Mycobacterium)	sugC	orf03107
Invasion	Cell wall teichoic acid glycosylation protein(Listeria)	gtcA	orf02349
Metabolismo de lípidos y ácidos grasos	Pantothenate synthesis(Mycobacterium)	panD	orf00497
Captación manganeso	Pneumococcal surface antigen A / Metal binding protein SloC(Streptococcus)	psaA	orf00943
Bloqueo fagosoma	Nucleoside diphosphate kinase(Mycobacterium)	ndk	orf00202
Proteasa	Serine protease(Streptococcus)	htrA/degP	orf00035
	Trigger factor(Streptococcus)	tig/ropA	orf01822
Adaptación a estrés	Catalase(Neisseria)	katA	orf03055
Anclaje proteínas de superficie	Lipoprotein diacylglycerol transferase(Listeria)	lgt	orf00652

Y42

Tabla 13. Tabla obtenida con VFanalyzer. Se muestran los posibles factores de virulencia presentes en la cepa Y42 obtenidos mediante similitud de secuencia con factores de virulencia presentes en la base de datos VFDB.

Tipo de factor	Factor de virulencia	Genes relacionados	y42(Prediction)
			CP110862.1 (CP110862.1)
Adherencia	Listeria adhesion protein(Listeria)	lap	orf03062
	Streptococcal plasmin receptor/GAPDH(Streptococcus)	plr/gapA	orf00615
Enzima	Streptococcal enolase(Streptococcus)	eno	orf01574
Evasión inmune	Polysaccharide capsule	--	orf00538; orf00580; orf01018; orf02907
	Capsule(Streptococcus)	cps4I	orf00957
		cpsY	orf01520
		rmlB	orf00972
Regulación	LisR/LisK(Listeria)	lisR	orf01249
Sistema de secreción	T6SS-II(Klebsiella)	clpB	orf01558
Toxina	Hemolysin(Clostridium)	--	orf01301
	Phytotoxin phaseolotoxin(Pseudomonas)	cysC1	orf01131
Antifagocitosis	Capsule(Enterococcus)	--	orf01671
		cpsI	orf00960; orf01007
		cpsJ	orf00295
	Capsule(Klebsiella)	gnd	orf01247
Resistencia a bilis	Bile-salt hydrolase(Listeria)	bsh	orf02943
Componentes superficie celular	Trehalose-recycling ABC transporter(Mycobacterium)	sugC	orf03035
Invasión	Cell wall teichoic acid glycosylation protein(Listeria)	gtcA	orf02299
Captación manganeso	Pneumococcal surface antigen A / Metal binding protein SloC(Streptococcus)	psaA	orf00894
Bloqueo fagosoma	Nucleoside diphosphate kinase(Mycobacterium)	ndk	orf00201
Proteasa	Serine protease(Streptococcus)	htrA/degP	orf00034
	Trigger factor(Streptococcus)	tig/ropA	orf01776
Anclaje proteínas de superficie	Lipoprotein diacylglycerol transferase(Listeria)	lgt	orf00578

LP1

Tabla 5. Tabla obtenida con VFAnalyzer. Se muestran los posibles factores de virulencia presentes en la cepa LP1 obtenidos mediante similitud de secuencia con factores de virulencia presentes en la base de datos VFDB.

Tipo de factor	Factor de virulencia	Genes relacionados	fect (Prediction)
			PLANTARUM (PLANTARUM)
Adhesión	Listeria adhesion protein(Listeria)	lap	orf02708
	Streptococcal plasmin receptor/GAPDH(Streptococcus)	plr/gapA	orf01598; orf03190
Enzima	Streptococcal enolase(Streptococcus)	eno	orf00647; orf01218
Evasión inmune	Polysaccharide capsule	--	orf01626; orf02144; orf02828; orf02858
	Capsule(Staphylococcus)	capP	orf03237
	Capsule(Streptococcus)	--	orf02287
		cps4I	orf02300
		cpsY	orf00592
Regulación	LisR/LisK(Listeria)	lisR	orf01293
Sistema de secreción	T6SS-II(Klebsiella)	clpB	orf00630
Toxina	Hemolysin(Clostridium)	--	orf00705
	Phytotoxin phaseolotoxin(Pseudomonas)	cysC1	orf02526
Antifagocitosis	Capsule(Enterococcus)	--	orf01159
		cpsI	orf02297
		cpsJ	orf00350
	Capsule(Klebsiella)	gnd	orf01291
Resistencia a bilis	Bile-salt hydrolase(Listeria)	bsh	orf01963
Componentes superficie celular	Trehalose-recycling ABC transporter(Mycobacterium)	sugC	orf02733
Invasión	Cell wall teichoic acid glycosylation protein(Listeria)	gtcA	orf02400
Captación manganeso	Pneumococcal surface antigen A / Metal binding protein SloC(Streptococcus)	psaA	orf02269
Bloqueo fagosoma	Nucleoside diphosphate kinase(Mycobacterium)	ndk	orf02688
Proteasa	Serine protease(Streptococcus)	htrA/degP	orf01031
	Trigger factor(Streptococcus)	tig/ropA	orf01097
Adaptación a estrés	Catalase(Neisseria)	katA	orf02001
Anclaje proteínas superficie	Lipoprotein diacylglycerol transferase(Listeria)	lgt	orf01628

