

ÍNDICE

BIENVENIDA	3
PROGRAMA	5
RESÚMENES	11

BIENVENIDA

Estimados colegas:

Ya han pasado 21 años desde la celebración de la primera reunión de la Red de Extremófilos, aquí en Alicante. En aquella ocasión, Paco Rodríguez Valera, Antonio Ventosa y Emilia Quesada, junto con un reducido grupo de investigadores, sentaron las bases para lo que está siendo un proyecto fructífero y duradero que, pese a los altibajos y la escasez de la financiación de la ciencia en nuestro país, sigue creciendo y enriqueciéndose con la incorporación de nuevos miembros de la empresa y la academia.

Este año Emilia Quesada ha empezado el camino de la jubilación. Queremos aprovechar esta ocasión para agradecerle a ella y a los que con ella participaron en el nacimiento de la Red su iniciativa y pasión por la investigación. De alguna manera, aunque algunos de nosotros ya hemos pasado hace tiempo a la categoría de *senior*, todos somos sus herederos. Esperamos poder mantener la Red viva durante muchos años y seguir incorporando a este proyecto nuevas generaciones de científicos.

Os deseamos que disfrutéis de esta XIII Reunión de la Red de Extremófilos.

Responsable de la organización:

Josefa Antón Botella

Grupo de Ecología Microbiana Molecular

Dpto. Fisiología, Genética y Microbiología

Dirección postal: Apto. 99, San Vicente del Raspeig, 03080 Alicante

Teléfono: 965903870

Fax: 965909569

Correo electrónico: anton@ua.es

PROGRAMA

JUEVES, 20 DE OCTUBRE

20:30 - 20:30

RECEPCIÓN Y VINO DE HONOR

VIERNES, 21 DE OCTUBRE

10:15 - 10:30

BIENVENIDA Y PRESENTACIÓN

10:30 – 11:30

SESIÓN VIERNES MAÑANA I (*Moderador: Rafael Ruíz de la Haba*)

10:30 - 10:45

Alba Blesa, Ignacio Baquedano, Nieves García-Quintans, Carlos P. Mata, José R. Castón, José Berenguer. “Transjugation: beyond conventional models of DNA Exchange”

10:45 - 11:00

Lourdes Martínez-Martínez, Montserrat Argandoña, Joaquín J. Nieto, Carmen Vargas. “Regulación de las rutas de catabolismo de ectoínas en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*: implicación de un regulador de la familia LysR”

11:00 - 11:15

Alba Cuecas, Juan M. Gonzalez. “Viscosidad intracelular en procariontas”

11:15 - 11:30

Torregrosa-Crespo J, Pire C, Martínez-Espinosa Rosa María, Bergaust L, Bakken LR, Esclapez J, Bautista V, Camacho M, Bonete MJ. “Emisión de gases nitrogenados por parte de haloarqueas desnitrificantes: contribución en el cambio climático”

11:30 - 12:00

Café

12:00 – 13:30

SESIÓN VIERNES MAÑANA II (*Moderadores: María Gomariz y Raúl Muñoz*)

12:00 - 12:15

Jelena Rajkovic, Jose Manuel Otero, Kamila Knapik, Jacobo Cruces, María Isabel González-Siso, Mercedes Sánchez, Aurelio Hidalgo, Ana Torrado, María Luisa Rúa. “Novel library of chromogenic substrates for the screening of industrially relevant esterases and lipases”

12:15-12:30

María José León, Blanca Vera-Gargallo, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa. “Diversidad del género *Spiribacter* en ambientes hipersalinos”

12:30-12:35

Toral, L., Castro, D., Rodríguez, M., Quesada, E., Béjar, V. "Selección y caracterización taxonómica de bacterias con actividad frente a *Botrytis cinerea*, aisladas de hábitats hipersalinos"

12:35-12:40

Ana Durán-Viseras, Blanca Vera-Gargallo, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa. "Caracterización de dos nuevas especies del género *Halorubrum*"

12:40-12:55

Marta Torres, Esther Rubio-Portillo, Teik-Min Chong, Kar-Wuai Hong, Kok-Gan Chan, Yves Dessaux, Josefa Antón, Emilia Quesada, Inmaculada Llamas. "Aplicación en acuicultura de la cepa PQQ-42 de *Alteromonas stellipolaris*"

12:55-13:00

Victor González-Menéndez, Gloria Crespo, Nuria de Pedro, Caridad Díaz, Jesus Martin, Clara Toro, Francisca Muñoz, Carlos Justicia, Francisca Vicente, Fernando Reyes, José R. Tormo and Olga Genilloud. "Fungal endophytes isolated from arid plants of Andalucía: Induction of new antitumoral and antifungal activities by the addition adsorptive polymeric resins"

13:00-13:15

María Lamprecht-Grandio, Marta Cortesão, Macarena Benguigui, Salvador Mirete, Ramón Rosselló-Móra, José Eduardo González-Pastor. "Identificación de nuevos genes de resistencia a radiación ultravioleta de microorganismos de ambientes hipersalinos mediante metagenómica funcional"

13:00 -13:20

José A. Delgado, Enrique Gómez, Juan M. González. "Actividad respiratoria de microorganismos termófilos en suelos"

13:20 -13:25

Susana Osuna-Esteban, Ángeles Aguilera, Marina Postigo, Elena González-Toril. "Ecología Microbiana del Aire"

13:25 - 13:30

Carlos Angulo-Preckler, Marina Postigo, Cristina Cid. "Identificación de los microorganismos psicrófilos sensibles al efecto "antifouling" de invertebrados bentónicos antárticos"

14:00 – 16:00

Comida

16:00 – 17:30

SESIÓN VIERNES TARDE I (Moderadores: Alba Blesa y Jon Ochoa)

16:00 - 16:15

Pastor-Soler, S., Esclapez, J., Bautista, V., Pire, C., Martínez-Espinosa, R.M., Camacho, M., Bonete, M.J. "Regulación a nivel transcripcional de la nitrato reductasa asimilativa de *Haloferax mediterranei*"

- 16:15 - 16:30
Emilia Naranjo, Montserrat Argandoña, Joaquín J. Nieto y Carmen Vargas. “Estudio del papel de los reguladores Fur y del hierro en el control de la síntesis de ectoínas en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*”
- 16:30 - 16:45
José Jordán Soria, Ricardo Amils Pibernat, Felipe Gómez Gómez. “Comprobando modelos evolutivos que expliquen el proceso de sustitución nucleotídica en RNA 16S de ambientes ácidos extremos”
- 16:45 - 17:00
Sandra Bosch, José Berenguer, Aurelio Hidalgo. “An enhanced folding reporter to select thermostable protein variants”
- 17:00 - 17:15
Martínez-Espinosa Rosa María, Torregrosa-Crespo J, Pire C, Bautista V, Esclapez J, González-Torres P, Richardson DJ, Camacho M, Bonete MJ. “Avances sobre la desnitrificación en haloarqueas: de la bioquímica/biología molecular al cambio climático”
- 17:15 - 17:20
Torres, S., Martínez-Bueno, M., Martín-Platero, A. M., Quesada, E., Béjar, V., Martínez-Checa, F. “X-DNA extraction kit: un nuevo kit de extracción de ADN de alta eficacia”
- 17:20 - 17:25
Castro, D., Quesada E., Béjar, V., Llamas, I., Rodríguez, M. y Martínez-Checa, F. “Nueva especie de *Blastomonas* aislada del suelo salino de Rambla Salada (Murcia)”
- 17:25 - 17:30
Raul Munoz, Rudolf Amann, Ramon Rosselló-Móra. “*Rhodothermaeota* phyl. nov.; un filo de carácter extremófilo que se distingue de los *Bacteroidetes*”
- 17:30 - 18:00
Café
- 18:00 – 19:30
SESIÓN VIERNES TARDE II (Monike Oggerin y Marcos Almendros)
- 18:00 - 18:15
Clara López-Hermoso, Rafael R. de la Haba, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa. “Filogenómica y biodiversidad del género *Salinivibrio*”
- 18:15 - 18:30
Inmaculada Sampedro, Inmaculada Llamas, Marta Torres, Emilia Quesada. “Influencia de la quimiotaxis en la colonización de plantas de *Salicornia* por bacterias halófilas”

18:30 - 18:45

Paulina Corral Villa. “La microbiota marina extrema: Un recurso de nuevos antimicrobianos contra bacterias multirresistentes a fármacos (MDR)”

18:45 - 19:00

Bravo, G., Esclapez, J., Marín, I., Bonete, M.J. “Tratamiento y revalorización de residuos. Ejemplo de aplicación: relaves”

19:00 - 19:15

Ramos-Barbero, MD, Viver, B, Martínez-García, M, Santos, F, T, Villamor, J1, Rosselló-Móra, R, Konstantinidis, K, Antón, J. “Demostración in-situ del modelo presa-depredador “Kill the winner”: Estudio del mesocosmos de las Salinas de Campos (Mallorca)”

19:15 - 19:20

Enrique J. Gómez, José A. Delgado, Juan M. González. “Persistencia de Enzimas Extracelulares de Microorganismos Termófilos en Suelos”

19:20 - 19:25

Rodríguez M, Castro D, Béjar V, Quesada E. “Evaluación de dos cepas de *Psychrobacillus* aisladas en las Tablas de Daimiel como promotoras del crecimiento vegetal”

19:25 - 19:30

Antonio García Moyano, António Pagarete, Anders Lanzén, Ángeles Aguilera, Elena González Toril, Lise Øvreås. “Exploring the microbial and viral diversity in extreme acidic environments”

21:30 – 1:00

CENA DE “GALA” Y BAILE

SÁBADO, 22 DE OCTUBRE

9:30 – 10:00

REUNIÓN DIRECTORES/VOLUNTARIOS

10:00 – 11:30

SESIÓN SÁBADO I (Moderadores: Manuel Martínez-García e Inmaculada Llamas)

10:00 - 10:05

Ignacio Baquedano, Alba Blesa, José Berenguer. “ICEth1, a new mobile element of *Thermus thermophiles*”

10:05 - 10:10

Esclapez, J., Bautista, V., Pire, C., Martínez-Espinosa, R.M., Camacho, M., Bonete, M.J. “Identificación de *small* RNAs implicados en la regulación de la asimilación del nitrato en *Haloferax mediterranei*”

10:10 - 10:25

Payá, G., Bautista, V., Vegara A., Esclapez, J., Camacho, M., Pire, C., Martínez-Espinosa, R.M., Bonete, M.J. “Mutante de delección de glutamina sintetasa en *Haloferax mediterranei*: optimización del método y caracterización”

10:25 - 10:35

Elisa Beneventi, Jacobo Cruces, Olalla López-López, Isabel González-Siso², Jelena Rajkovic, Ana Torrado, María Luisa Rúa. “Exploring the biocatalytic potential of the recombinant esterase KLEST-3S from *Thermus thermophilus* HB27”

10:35 - 10:40

Marín, A., Fernández, L., Torres, M., Campos, M., Béjar, V. “Actividad insecticida de cepas bacterianas aisladas de medios hipersalinos”

10:40 - 10:45

Sara Díaz Moyá, Merit del Rocío Mora Ruíz, Mercedes Urdiain Asensio, Ramon Rosselló-Móra. “Diversidad de microorganismos halófilos propios de la comunidad endófito de propágulos de mangle”

10:45 - 10:55

José Carlos Reina, Elisabeth León-Palmero, Isabel Reche, Emilia Quesada, Inmaculada Llamas. “Sistemas de inhibición de la comunicación celular tipo quorum sensing presentes en la microbiota de animales pertenecientes a los filos *Cnidaria* y *Echinodermata*”

10:55 - 11:10

Ana-Belen Martin-Cuadrado, Riccardo Rosselli, Mario López-Pérez, Henk Bolhuis, Francisco Rodriguez-Valera. “Expresión de *Haloquadratum walsbyi*”

11:10 - 11:15

Judith Villamor, Fernando Santos, Loles Ramos, Pepa Antón. “Nuevas estrategias para mejorar la asignación de virus a hospedadores: el caso de *Haloquadratum*”

11:15 - 11:30

Monike Oggerin, Nuria Rodriguez, Ricardo Amils. “Biomíneralización en condiciones extremas”

11:30 - 12:00

Café

12:00 – 13:30

SESIÓN SÁBADO II (Moderadores: *Cristina Sánchez Porro* y *Fernando Martínez-Checa*)

12:00 - 12:15

Ana Beatriz Fernández, María Cecilia Rasuk, Manuel Contreras, Fernando Novoa, Daniel Poiré, Pieter T. Visscher, Antonio Ventosa⁶, María Eugenia Farías. “Diversidad procariota de tapetes microbianos, evaporitas y concreciones asociadas a rizomas de la Laguna Tebenquiche en el Salar de Atacama, Chile”

12:15 - 12:30

Cristina Escudero, Monike Oggerin y Ricardo Amils. "Utilización de técnicas de hibridación *in situ* para el estudio de biopelículas del subsuelo de la FPI"

12:30 - 12:45

Isaac Garrido-Benavent, Sergio Pérez-Ortega, Fernando Fernández-Mendoza y Asunción de los Ríos. "Origen de los líquenes antárticos: aproximación mediante el estudio filogeográfico del hongo liquenizado *Mastodia tessellata* y su fotobionte, *Prasiola (Trebouxiophyceae)*"

12:45 - 13:00

Tomeu Viver, Luis Orellana, Sara Díaz, Mercedes Urdiain, Rudolf Amann, Josefa Antón, Kostantinos T. Konstantinidis, Ramon Rosselló-Móra. "Cambios en la estructura de comunidades microbianas mediadas por presiones ambientales controladas"

13:00 - 13:15

María Cristina Casero, Octavio Artieda, Petr Vitek, Jocelyne DiRuggiero Carmen Ascaso y Jacek Wierzchos. "Diversidad y adaptaciones funcionales de microorganismos litobióticos al ambiente extremo del desierto de Atacama"

13:15 - 13:30

Nuria Rodríguez, Felipe Gómez, Ricardo Amils. "Danakil: El Infierno Sobre la Tierra en Etiopía"

13:30 – 14:00

CLAUSURA Y DESPEDIDA

14:00 – 16:00

Comida

RESÚMENES

Transjugation: beyond conventional models of DNA exchange

Alba Blesa¹, Ignacio Baquedano¹, Nieves García-Quintans¹, Carlos P. Mata², José R. Castón², José Berenguer¹

¹Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM). ²Centro Nacional de Biotecnología (CSIC). Madrid, Spain.

E-mail: ablesa@cbm.csic.es

Thermus thermophilus has been featured as an excellent biological model to study HGT as not only it efficiently uptakes DNA at rates as high as 40 kb/s/cell¹ but also shows a highly efficient cell-to-cell direct DNA transfer¹.

Canonical conjugation models involve the unidirectional transfer of DNA from a donor to a recipient cell, which remains passive in the process. In contrast, in *T. thermophilus*, the cell-to-cell DNA transfer is bidirectional, with both partners acting simultaneously as donors and recipients². Surprisingly, DNA acquisition by the recipient cell depends on the transformation apparatus, thus making it an intermediate process that combines transformation and conjugation that prompted us to name it as *transjugation*.

We have searched for components of DNA donation apparatus through a bioinformatically driven screening, allowing us to identify a protein of the FtsK family of DNA translocases named CptA (Conjugation protein A) as required for the process. CptA has been purified and characterized as a hexameric ATPase with an internal whole capable to host dsDNA. Western blots and fusions to thermostable fluorescent proteins localized CptA to the membrane near or at the cell poles, where the competence apparatus is also concentrated³.

The unravelling of this new HGT process, showing higher efficiency rates than transformation, enforces the proposal of transjugation as a major motor of shared traits among populations of *Thermus* sp and provided light to the implication of frequent lateral transfers in thermal environments.

References

¹ Blesa, A., César, C. E., Averhoff, B., & Berenguer, J. *Non canonical Cell-to-Cell DNA Transfer in Thermus spp. Is Insensitive to Argonaute-Mediated Interference*. 2015. *Journal of bacteriology*, **197(1)**, 138-146.

² César, C. E.; Álvarez, L.; Bricio, C.; van Heerden, E.; Littauer, D. & Berenguer, J. *Unconventional lateral gene transfer in extreme thermophilic bacteria*. 2011. *International Microbiology* **14**. 4:187-199.

³ Gold, V. A.; Salzer, R.; Averhoff, B.; & Kühlbrandt, W. Structure of a type IV pilus machinery in the open and closed state. 2015. *Elife*, **4**, e07380.

Funding: Project BIO2013-44963-R from MINECO and FPI fellowship. Project 324439 from FP7-PEOPLE-2012-IAPP.

Regulación de las rutas de catabolismo de ectoínas en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*: implicación de un regulador de la familia LysR

Lourdes Martínez-Martínez, Montserrat Argandoña, Joaquín J. Nieto, Carmen Vargas

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.

E-mail: loumarmar@alum.us.es

Chromohalobacter salexigens es una bacteria halófila moderada productora natural de compuestos con un alto interés biotecnológico por sus numerosas aplicaciones en Biomedicina y Biotecnología, denominados ectoínas. Nuestro Grupo de investigación está interesado tanto en el estudio de los procesos de osmoadaptación tanto a nivel molecular como en la Ingeniería metabólica de *C. salexigens*, con el fin de optimizar la producción de ectoínas. Para el cumplimiento de este objetivo es esencial el avance en el conocimiento de la regulación de las rutas de síntesis y catabolismo de estos compuestos. Estas últimas, a diferencia de las de síntesis, así como su regulación, no han sido estudiadas en profundidad en *C. salexigens* ni tampoco en bacterias extremófilas, debido entre otros motivos, a su complejidad.

Estudios preliminares *in silico* mostraron la existencia de un regulador transcripcional de tipo LysR en el cluster de los genes de catabolismo. En el presente estudio se ha iniciado la caracterización molecular de este regulador para analizar su implicación en el control de las rutas de catabolismo de ectoínas. De este modo, se ha caracterizado el mutante CHR228, obtenido mediante delección en fase del gen que codifica para dicho regulador (*csa/2729*). Los resultados indican que, aunque no existen diferencias entre el crecimiento de la cepa silvestre y el mutante CHR228 (Δ *lysR*) a diferentes salinidades (0,6 M, 1,5M y 2,5 M de NaCl) y en presencia de diferentes fuentes de carbono (glucosa o ectoína), sí que se observa en la cepa mutante una disminución de la expresión de los genes de catabolismo *doeA*, *doeD* y *eutC* a elevada salinidad (2,5 M) independientemente de la fuente de carbono. Por otro lado, los resultados también sugieren la presencia de un segundo elemento regulador que controla la expresión de dichos genes a baja y óptima salinidad (0,6 M y 1,5 M respectivamente) únicamente cuando la ectoína es la fuente de carbono. El análisis *in silico* junto con experimentos de RT-PCR ha permitido dilucidar de forma preliminar la organización génica de la región y la localización de motivos de unión de LysR en diferentes regiones promotoras de genes implicados en la ruta de catabolismo de las ectoínas, sugiriendo una implicación directa de este regulador en el control de dichos genes.

Financiación: MINECO/FEDER (BIO2015-63949-R) y Junta de Andalucía (P11-CV1-7293 MO).

Viscosidad intracelular en procariotas

Alba Cuecas, Juan M. Gonzalez

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Avda. Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla. España.

E-mail: alba@irnas.csic.es, juan.gonzalez@csic.es

El citoplasma es un sistema altamente complejo donde se lleva a cabo el metabolismo celular. Se considera que el citoplasma presenta una consistencia similar a un gel más que a una solución acuosa diluida. Esto podría influir el comportamiento de distintas biomoléculas. La viscosidad del citoplasma en eucariotas se ha determinado recientemente¹ pero no así en procariotas. Conocer la viscosidad intracelular es necesario para analizar el comportamiento de numerosas biomoléculas. La viscosidad se reduce exponencialmente al aumentar la temperatura lo que conlleva consecuencias críticas para el mantenimiento del metabolismo celular, por ejemplo en termófilos. Previamente² hemos citado el efecto estabilizador que presenta la viscosidad para diversas biomoléculas de pequeño tamaño (por ejemplo, NADH, ATP, etc.). Por tanto, es importante determinar la viscosidad intracelular para estudiar la posible estabilización de biomoléculas en condiciones de baja o alta temperatura y evaluar la capacidad de procariotas para responder a cambios de temperatura.

Utilizando un rotor molecular fluorescente (RY3)^{1,3} se determinó la viscosidad intracelular de distintos procariotas desde 10°C a 100°C. Se analizaron las bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactococcus lactis lactis*, *Geobacillus thermoglucosidasius*, *Fervidobacterium thailandense* y la arquea *Pyrococcus furiosus*. Las cubiertas celulares son permeables a RY3 por lo que la viscosidad intracelular puede determinarse a partir de medidas de fluorescencia realizadas por espectrofluorometría y por FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging)³.

Algunas bacterias son capaces de regular su viscosidad intracelular en función de la temperatura ambiental, como *Lactococcus*. Las bacterias parecen presentar una viscosidad relativamente elevada (superior al agua) aunque *Escherichia* y *Pseudomonas* eran excepciones con viscosidad similar al agua. *Pyrococcus* indicaba que debido a que la viscosidad varía mínimamente por encima de 80°C, cambios de viscosidad celular no serían eficientes. Estos resultados confirman que la regulación de la viscosidad intracelular puede ser un mecanismo para el mantenimiento de las funciones celulares a alta y baja temperatura, incluyendo la estabilización de pequeñas biomoléculas hasta aproximadamente 80°C.

Bibliografía:

¹Peng, X et al. 2011. *Fluorescence ratiometry and fluorescence lifetime imaging: using a single molecular sensor for dual mode imaging of cellular viscosity*. Ap J Am Chem Soc **133**: 6626-6635

²Cuecas, A, Cruces, J, Portillo, MC, Gonzalez, JM. 2013. *Viscosity as a factor controlling thermostability of low-molecular weight biomolecules at elevated temperatures*. RedEx 2013. Granada

³Cuecas, A, Cruces, J, Galisteo-López, JF, Peng, X, Gonzalez, JM. 2016. *Cellular viscosity in prokaryotes and thermal stability of low molecular weight biomolecules*. Biophys J **111**: 875-882

Financiación: Proyecto Junta de Andalucía BIO288

Emisión de gases nitrogenados por parte de halorqueas desnitrificantes: contribución en el cambio climático

Torregrosa-Crespo J¹, Pire C¹, Martínez-Espinosa Rosa María¹, Bergaust L², Bakken LR³, Esclapez J¹, Bautista V¹, Camacho M¹, Bonete MJ¹.

¹Departamento de Agroquímica y Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. ²Department of Chemistry, Biotechnology and Food Science. Faculty of Environmental Science and Technology. Norwegian University of Life Sciences. Fougnerbakken 3 - 1430, Ås, Norway. ³Department of Environmental Sciences. Faculty of Environmental Science and Technology. Norwegian University of Life Sciences. Fougnerbakken 3 - 1430, Ås, Norway.

E-mail: carmen.pire@ua.es

La desnitrificación es una ruta metabólica, principalmente llevada a cabo por microorganismos, que permite la reducción de nitrato hasta dinitrógeno en condiciones de anaerobiosis o microaerofilia. Esta ruta metabólica es la responsable, entre otros, de la pérdida de grandes concentraciones de nitrato en suelos (ocasionando graves pérdidas en agricultura) o de la eliminación de nitratos/nitritos en procesos de tratamientos de aguas residuales (cuando la desnitrificación tiene lugar de forma completa).

Aunque esta ruta metabólica ha sido ampliamente estudiada en bacterias, apenas existen estudios en el dominio *Archaea*. Con el objetivo de dilucidar el potencial real de desnitrificación que tienen las haloarqueas y si esta ruta tiene lugar de forma parcial o total, se han iniciado estudios fisiológicos para cuantificar a tiempo real la producción de gases nitrogenados por parte de haloarqueas desnitrificantes: gases NO_x: óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N₂O), este último considerado un gas con potente efecto invernadero.

Este estudio, realizado con *Haloferax mediterranei* como organismo modelo, recoge los resultados obtenidos hasta la fecha, gracias a los cuales se ha demostrado que esta arquea es un desnitrificante completo. Durante el proceso de desnitrificación se emiten concentraciones significativas de óxido nítrico y óxido nitroso¹. Este análisis preliminar permitirá analizar en un futuro próximo, el impacto que tendría la emisión de gases nitrogenados (producidos por haloarqueas) en ecosistemas abiertos.

Bibliografía:

¹Torregrosa-Crespo J, Martínez-Espinosa RM, Esclapez J, Bautista V, Pire C, Camacho M, Richardson DJ, Bonete MJ. 2016. Anaerobic metabolism in *Haloferax* genus: denitrification as case of study. *Adv Microb Physiol* 68: 41-85.

Financiación: Proyecto CTM2013-43147-R de Mineco.

Novel library of chromogenic substrates for the screening of industrially relevant esterases and lipases

Jelena Rajkovic¹, Jose Manuel Otero², Kamila Knapik³, Jacobo Cruces², María Isabel González-Siso³, Mercedes Sánchez⁴, Aurelio Hidalgo⁴, Ana Torrado¹, María Luisa Rúa¹

¹Grupo de Bioquímica, Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Universidad de Vigo, As Lagoas, 32004 Ourense, Spain. ²GalChimia, Cebreiro s/n, 15823 O Pino, A Coruña, Spain. ³Universidade da Coruña, Grupo EXPRELA, Facultade de Ciencias, Zapateira, 15071 A Coruña, Spain. ⁴Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). 28049-Madrid.

E-mail: jrajkovic@uvigo.es

Industrially interesting reactions many times require elevated temperatures. Enzymes from extreme thermophiles are interesting biocatalysts as, besides thermal stability, they frequently present an unusual resistance towards a number of chemical and physical denaturing agents. Lipases and esterases are one of the most widely used enzymes in biotechnological and industrial processes including food, paper and chemical industries as well as in pharmaceutical applications (reviewed in Borrelli, G. and Torno, D. 2015). The rapid progress of sequencing technologies, accumulation of genomic data and the implementation of high-throughput functional metagenomics screens have led to the identification of novel lipases and esterases of industrial interest (Chow et al., 2012; Leis et al., 2015). Ideally, these enzymes should show activity towards a broad range of substrates under harsh reaction conditions and, at the same time possess desired properties such as a regio- and/or enantioselectivity.

Herein we report a partial characterization of a novel metagenomic-derived lipolytic enzyme LipD11 which has been expressed in the bacteria *Escherichia coli*. Furthermore, we designed and synthesized a novel chromogenic library consisting of p-nitrophenyl reporter group attached to different aromatic, saturated and nonsaturated aliphatic and cycloalkyl esters. This library screening platform gives a quick and reliable information about substrate specificity, size and architecture of binding pockets and the functional classification of novel industrially relevant enzymes.

Literature:

¹Borelli, G., Torn, D. *Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industry applications*. 2015. International Journal of Molecular Sciences, **16**, 20774-20840.

²Cow, J., Kovacic, F., Antonia, Y. D., Krauss, U., Fersini, F., Schmeisser, C., Lauinger, B., Bongen, P., Pietruszka, J., Schmidt, M., Menyes, I., Bornscheuer, U. T., Eckstein, M., Thum, O., Liese, A., Mueller-Dieckmann, J., Jaeger, K. E., Streit, W. *The Metagenome-Derived Enzymes LipS and LipT Increase the Diversity of Known Lipases*. 2012. PLOS One **7**:10.

³Leis, B., Angelov, A., Mientus, M., Li, H., Pham, V. T. T., Lauinger, B., Bonen, P., Pietruszka, J., Goncalves, L. G., Santos, H., Liebl, W. Identification of novel esterase-active enzymes from hot environments by use of the host bacterium *Thermus thermophilus*. 2015. *Frontiers in Microbiology*, **6**:275.

Financing: HotDrops (FP7-PEOPLE-2012-IAPP, project number: 324439)

Diversidad del género *Spiribacter* en ambientes hipersalinos

María José León, Blanca Vera-Gargallo, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

E-mail: mjl@us.es

Estudios realizados en diversos ambientes hipersalinos en base a técnicas independientes de cultivo han puesto de manifiesto que los microorganismos aislados y estudiados durante años, como son las especies pertenecientes a los géneros *Halomonas*, *Salinivibrio*, *Marinobacter* y *Chromohalobacter*, representan en muchos casos una mínima proporción de la comunidad microbiana presente en estos ambientes naturales.

El género *Spiribacter*, descrito por León y col. en 2014¹, consta actualmente de tres especies: *Spiribacter salinus*, *Spiribacter curvatus* y la especie recientemente descrita, *Spiribacter roseus*. Dicho género integra un grupo de bacterias definidas desde un punto de vista "ecológico" como bacterias halófilas moderadas dada su abundante presencia en las condiciones de salinidad intermedia de los estanques de las salinas solares y la ausencia de las mismas en ambientes con bajas salinidades (6 % o ambientes marinos), así como en los cristalizadores de las salinas². Se caracterizan porque presentan genomas bastante reducidos (1,7-1,9 Mpb), simplificado en cuanto a su versatilidad metabólica, con un único operón ribosómico, ausencia de sistema CRISPR y de flagelos.

Diversos estudios metagenómicos realizados, junto al análisis de los reclutamientos genómicos frente a metagenomas obtenidos de salinas localizadas en la geografía española^{1, 2}, muestran que las especies del género *Spiribacter* constituyen especies dominantes en los estanques concentradores de las salinas. El éxito de estas bacterias en ambientes acuáticos con salinidades intermedias podría recaer en un modo de vida eficiente, con características típicas de microorganismos oligotróficos con genomas reducidos que alcanzan altas densidades de población en ambientes acuáticos, como es el caso de *Pelagibacter* en los océanos de todo el mundo.

Bibliografía:

¹Fernández, AB, Vera-Gargallo, B, Sánchez-Porro, C, Ghai, R, Papke, RT, Rodríguez-Valera, F, Ventosa, A. 2014. *Comparison of prokaryotic community structure from Mediterranean and Atlantic saltern concentrator ponds by a metagenomic approach*. Front Microbiol **5**: 196.

²León, MJ, Fernández, AB, Ghai, R, Sánchez-Porro, C, Rodríguez-Valera, F, Ventosa, A. 2014. *From metagenomics to pure culture: Isolation and characterization of the moderately halophilic bacterium Spiribacter salinus gen. nov., sp. nov.* Appl Environ Microbiol **80**: 3850-3857.

Financiación: Proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad (CGL2013-46941-P).

Selección y caracterización taxonómica de bacterias con actividad frente a *Botrytis cinerea*, aisladas de hábitats hipersalinos

Toral, L^{1,2}., Castro, D^{1,2}., Rodríguez, M^{1,2}., Quesada, E¹., Béjar, V¹

¹Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS). Granada. ²Xtrem Biotech S.L. Centro Europeo de Empresas e Innovación (Edificio BIC) Avenida de la Innovación, 1. 18016 Armilla (Granada).

E-mail: lauratn28@gmail.com

Botrytis cinerea es un hongo filamentoso considerado como uno de los fitopatógenos más importantes en el campo de la agricultura debido a las grandes pérdidas económicas que produce, entre los sectores agrícolas afectados por este patógeno se encuentran el de la vid y el tomate. Es el causante de la podredumbre gris, ampliamente distribuida como consecuencia de su alta ubicuidad y resistencia a los fungicidas ^{1,2}.

En este trabajo se ha seleccionado bacterias fitoprotectoras frente a *B. cinerea* con el objetivo de desarrollar un agente de control biológico. Para ello se estudió la capacidad PGPR de 95 cepas aisladas de hábitats hipersalinos del sur de España. Posteriormente se realizaron técnicas de antibiosis en medio sólido y en medio líquido y se caracterizaron taxonómicamente aquellas que tuvieron mayor actividad. El 25% de las cepas presentaron actividad en medio sólido frente a *B. cinerea* produciendo una inhibición del desarrollo del micelio superior a 40%. En dichas cepas se analizó la actividad antifúngica en medio líquido seleccionándose cuatro cepas pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Brevibacterium*, para estudios posteriores. En el caso de la cepa CR2 se estudió la compatibilidad con productos fitosanitarios, se evaluó la capacidad antifúngica de las diferentes fracciones de un cultivo (células, esporas y sobrenadante) y se demostró que la actividad antimicrobiana es debida a un lipopéptido. En el futuro se profundizará en su caracterización química y en la optimización de la producción con vistas a su aplicación biotecnológica para prevención y tratamiento de plantas afectadas con *B. cinerea*.

Bibliografía:

¹Dean, Ralph y col., 2012. "The Top 10 Fungal Pathogens in Molecular Plant Pathology." *Molecular Plant Pathology* 13 (4): 414–30.

²Lorenzini, M. y Zapparoli, G. 2014. "An Isolate Morphologically and Phylogenetically Distinct from *Botrytis Cinerea* Obtained from Withered Grapes Possibly Represents a New Species of *Botrytis*." *Plant Pathology* 63 (6): 1326–35.

Financiación: Proyecto RETOS-COLABORACION 2015, RTC-2015-4121-2. Biocontrol de patógenos en campo: desarrollo de sistemas de detección precoz y herramientas de lucha integrada (PATBIOCONTROL). Bodegas San Valero, Xtrem Biotech, Universidad de Zaragoza, Parque Científico Aula Dei.

Caracterización de dos nuevas especies del género *Halorubrum*

Ana Durán-Viseras, Blanca Vera-Gargallo, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 41012 Sevilla

E-mail: anaduran@us.es

Los ambientes hipersalinos se encuentran representados principalmente por sistemas acuáticos y por suelos hipersalinos¹. Mientras que los ambientes acuáticos hipersalinos se han estudiado en gran profundidad, los suelos salinos no han recibido tanta atención.

En este trabajo nos hemos centrado en el aislamiento de nuevos microorganismos halófilos a partir de un suelo salino localizado en el Paraje Natural Marismas del Odiel, Huelva. Recientemente, a partir de dicho suelo salino, se han obtenido dos bases de datos metagenómicas en diferentes épocas del año. El análisis de las secuencias metagenómicas relacionadas con el gen ARNr 16S ha revelado que existe una gran diversidad de procariotas, tanto de bacterias como de arqueas en los suelos estudiados.

Por otro lado, se ha aislado un elevado número de cepas, de las cuales, hasta el momento, se ha llevado a cabo la caracterización polifásica de cinco de estas cepas, relacionadas filogenéticamente con el género *Halorubrum*. El género *Halorubrum* fue propuesto por McGenity y Grant² y conforma el género más numeroso dentro de la familia *Halobacteriaceae*, que cuenta actualmente con 32 especies³.

Los resultados de dicha caracterización indican que se trata de dos nuevas especies dentro del género *Halorubrum* para las que se propone las nuevas denominaciones de *Halorubrum humi* sp. nov. y *Halorubrum saliterrae* sp. nov.

Bibliografía:

¹Ventosa, A., Mellado, E., Sánchez-Porro, C. y Marquez, M. C. 2008. *Halophilic and halotolerant micro-organisms from soils*. pp. 87-115 In: P. Dion and C. S. Nautiyal (eds.). *Microbiology of Extreme Soils*. Springer-Verlag, Berlin.

²McGenity, T. J. y Grant, W. D. 1995. *Transfer of Halobacterium saccharovorum, Halobacterium sodomense, Halobacterium trapanicum* NRC 34401 and *Halobacterium lacusprofundi* to the genus *Halorubrum* gen. nov., as *Halorubrum saccharovorum* comb. nov., *Halorubrum sodomense* comb. nov., *Halorubrum trapanicum* comb. nov., and *Halorubrum lacusprofundi* comb. nov. *Syst Appl Microbiol* **18**: 237-243.

³Parte, A. C. 2015. *List of prokaryotic names with standing in nomenclature*. <http://www.bacterio.net>

Financiación: Proyecto financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad CGL 2013-46941-P.

Aplicación en acuicultura de la cepa PQQ-42 de *Alteromonas stellipolaris*

Marta Torres^{1,2}, Esther Rubio-Portillo³, Teik-Min Chong⁴, Kar-Wuai Hong⁴, Kok-Gan Chan⁴, Yves Dessaux⁵, Josefa Antón⁶, Emilia Quesada^{1,2}, Inmaculada Llamas^{1,2}

¹Universidad de Granada, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología, Granada, España. ²Universidad de Granada, Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM), Granada, España. ³Universidad de Alicante, Departamento de Ciencias del Mar y Biología Aplicada, Alicante, España. ⁴University of Kuala Lumpur, Faculty of Medicine, Kuala Lumpur, Malasia. ⁵Centre National de la Recherche Scientifique, Gif-sur-Yvette, Paris, France. ⁶Universidad de Alicante, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Alicante, España.

E-mail: mtorres@ugr.es

Las enfermedades infecciosas bacterianas que afectan a peces, moluscos y corales constituyen un serio problema en la acuicultura y causan enormes pérdidas económicas en el sector¹. Las principales bacterias patógenas implicadas pertenecen al género *Vibrio*, y la mayoría de ellas regulan la producción de factores de virulencia mediante el sistema de comunicación intercelular *quorum sensing* (QS). Éste se basa en la acumulación en el medio extracelular de moléculas señal del tipo *N*-acilhomoserin lactonas (AHLs) que, al alcanzar un valor umbral, controlan numerosos genes. Debido a ello, muchos de los organismos competidores han desarrollado diferentes estrategias con el fin de interrumpir los sistemas QS, como es el caso de la producción de enzimas degradadoras de AHLs, que se conoce como *quorum quenching* (QQ)².

El grupo de investigación BIO 188 de la Universidad de Granada fue el primero en describir la existencia de sistemas QS en bacterias halófilas³. Actualmente trabaja en el desarrollo de una alternativa contra las enfermedades infecciosas que afectan a la acuicultura. Esta estrategia se basa en la búsqueda de bacterias marinas capaces de interferir el QS de las bacterias patógenas para que no puedan activar sus genes de virulencia. A partir de una colección 450 aislados bacterianos obtenidos en la piscifactoría Guadalfeo Ebro (Salobreña, Granada) se han seleccionado 12 cepas con actividad QQ⁴. Entre ellas destaca PQQ-42 que presenta una alta actividad degradadora de las AHLs producidas por especies patógenas de *Vibrio*. La cepa PQQ-42, identificada como *Alteromonas stellipolaris*, fue elegida para realizar ensayos *in vivo*. Se ha demostrado que disminuye la actividad proteasa y la motilidad tipo swimming de *V. mediterranei* VibC-Oc-097, reduciendo así significativamente su patogenicidad en el coral *Oculina patagonica*, donde es responsable de su blanqueamiento⁵. De forma paralela, se ha secuenciado el genoma completo de la cepa PQQ-42 y se ha podido identificar que la enzima responsable de la actividad QQ es una acilasa.

Bibliografía:

¹Lafferty, K.D., Harvell, C.D., Conrad, J.M., Friedman, C.S., Kent, M.L., Kuris, A.M. 2015. *Ann Rev Mar Sci* **7**: 471–496.

²Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., and Bossier, P. 2008. *ISME J* **2**: 19–26.

³Llamas, I., Quesada, E., Martínez-Cánovas, M.J., Gronquist, M., Eberhard, A., and González, J.E. 2005. *Extremophiles* **9**: 333–341.

⁴Torres, M., Rubio-Portillo, E., Antón, J., Ramos-Esplá, A.A., Quesada, E., and Llamas, I. 2016. *Front Microbiol* **7**: 646.

⁵Kushmaro, A., Banin, E., Loya, Y., Stackebrandt, E., and Rosenberg, E. 2001. *Int J Syst Evol Microbiol* **51**: 1383–1388.

Financiación: AGL2015-68806-R, AGL2015-68806-R, BIO2011-12879E, FPU13-0466.

Fungal endophytes isolated from arid plants of Andalucía: Induction of new antitumoral and antifungal activities by the addition adsorptive polymeric resins

Victor González-Menéndez, Gloria Crespo, Nuria de Pedro, Caridad Díaz, Jesus Martin, Clara Toro, Francisca Muñoz, Carlos Justicia, Francisca Vicente, Fernando Reyes, José R. Tormo and Olga Genilloud.

Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, PTS, Granada, Spain.

Arid zones in Andalucía have special edaphological and climatic conditions, with native plant communities possessing distinctive characteristics to survive in these special conditions, which have led to the existence of a large number of poorly studied endemic plants. It is precisely this singularity which turns them into a potential source for the isolation of novel fungal pathogens and/or symbionts as well as host-specific endophytes not described yet. In our study, a total of 346 fungal strains isolated from 54 selected plant species from these ecosystems were characterized morphologically, as well as on the basis of their ITS and 28S ribosomal gene sequences. Fungal strain isolates from these plants were distributed among 18 orders including Basidiomycetes and Ascomycetes. Phylogenetic and morphological analyses evidenced the presence of potential new species within the genera *Kabatiella* and *Selenophoma* (*Dothideales*), as well as a potential new genus.

Addition of adsorptive polymeric resins in fungal fermentations has been described to promote the production of new secondary metabolites providing a tool to consistently generate new compounds with potential biological activities. To evaluate these induction effects on our collection of fungal endophytes, the strains were grown in four different media in the presence and absence of selected resins according our previous results [1]. The fermentation extracts were studied for the production of cytotoxic and antifungal activities against a HepG2 cell line and the human fungal pathogens *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*.

After chemical dereplication of previously known compounds by LCMS database matching the most promising active extracts were classified against a wider panel of antitumoral and antifungal targets looking for specificities and selectivities. Five strains were selected for follow-up and the purification of their active components. Twelve compounds were identified by this approach as active secondary metabolites induced by the presence of adsorptive polymeric resins.

We discuss the suitability of the use of adsorptive polymeric resins as additives during the generation of collections of extracts from fungal fermentations to be applied in Drug Discovery. Our results also confirm the biodiversity richness of the plants of Andalusian deserts as an untapped source of new host-specific fungal strains with the potential to produce new bioactive compounds.

References:

¹González-Menéndez, V.; Asensio, F.; Moreno, C.; de Pedro, N.; Monteiro, M.C.; de la Cruz, M.; Vicente, F.; Bills, G.F.; Reyes, F.; Genilloud, O.; et al. Assessing the effects of adsorptive polymeric resin additions on fungal secondary metabolite chemical diversity. *Mycology* 2014, 5, 179–191

Identificación de nuevos genes de resistencia a radiación ultravioleta de microorganismos de ambientes hipersalinos mediante metagenómica funcional

María Lamprecht-Grandio, Marta Cortesão, Macarena Benguigui, Salvador Mirete, Ramón Rosselló-Móra, José Eduardo González-Pastor

Laboratorio de Adaptación Molecular, Departamento de Evolución Molecular. Centro de Astrobiología (CSIC-INTA). Carretera de Ajalvir km 4, Torrejón de Ardoz. Madrid.

E-mail: gonzalezpje@cab.inta-csic.es

Para averiguar cuales son los límites fisicoquímicos de la vida en nuestro planeta es imprescindible estudiar estrategias moleculares que han desarrollado los microorganismos que habitan ambientes extremos. Aunque la radiación ultravioleta, UVB y UVC son dañinas para la vida, numerosos microorganismos son capaces de sobrevivir en condiciones de elevadas dosis de esa radiación. En nuestro laboratorio estamos empleando técnicas independientes de cultivo, como la metagenómica funcional, para identificar nuevos genes que confieran resistencia a radiación UV en microorganismos de ambientes hipersalinos del altiplano andino (Argentina, lagunas Ojo Seco y Diamante, aproximadamente a 4.000 m de altitud) y de las salinas de Es Trenc (Mallorca). La técnica de metagenómica funcional se basa en la clonación de DNA del medio ambiente en vectores de expresión y su posterior expresión en hospedadores que se pueden manipular en el laboratorio, seguido de pruebas de selección y detección de la actividad que buscamos estudiar.

Se han construido bibliotecas metagenómicas de los tres ambientes propuestos, empleando como huésped la cepa de *Escherichia coli* DH10B, que tiene una mutación en el gen *recA* y por tanto es más sensible a radiación UV. Muestras de cada biblioteca fueron expuestas a radiación UVB y se aislaron clones resistentes. Se recuperaron los plásmidos de estos clones y se volvieron a transformar en DH10B, para excluir que la resistencia a radiación fuese debida a mutaciones en el cromosoma. Se identificaron cinco clones resistentes: pML5, pML6, pML56 y pML84 de las lagunas hipersalinas andinas, y pML105 de las salinas de Es Trenc. Todos estos clones presentaban una resistencia entre cuatro y cinco veces mayor que la estirpe control. Los fragmentos de DNA ambiental clonados fueron secuenciados y los genes se identificaron y anotaron. Entre ellos, algunos codifican proteínas similares a otras conocidas como RecA y una ribonucleasa y el resto codifican proteínas hipotéticas. Curiosamente, los clones pML6 (Ojo Seco) y pML105 (Es Trenc), de origen geográfico muy distante, codifican proteínas hipotéticas que tienen un 36% de identidad entre ellas, y además presentan posibles dominios de unión a DNA. Para investigar sobre el mecanismo de resistencia de todos los clones, se trataron con el compuesto 4-nitroquinolina 1-óxido, que induce lesiones en el DNA idénticas a las que produce la radiación UV. En presencia de este compuesto, todos los clones exhiben una tasa de supervivencia superior que la del control, lo que sugiere que el mecanismo de resistencia estaría relacionado con la reparación del DNA. La futura caracterización de estos genes y otros estudios de metatranscriptómica nos permitirán tener un mayor conocimiento sobre las estrategias moleculares que emplean los microorganismos de estos ambientes para resistir a dosis elevadas de radiación UV.

Financiación: MEDIDAS DE DIVERSIDAD, CONTROL DE POBLACION Y ADAPTACION MOLECULAR A LO LARGO DEL GRADIENTE DE SALINIDAD (Plan Nacional, Ref CGL2015-66686-C3-2-P. Duración: 1/1/2016 a 31/12/2018). METAFUIDICS, Advanced toolbox for rapid and cost-effective functional metagenomic screening - microbiology meets microfluidics. (Proyecto de la UE, Call: H2020-LEIT-BIO-2015-1, Topic BIOTEC-6-2015: Grant Agreement No: 685474. Duración: 1/6/2016 a 1/6/2020)

Actividad respiratoria de microorganismos termófilos en suelos

José A. Delgado, Enrique Gómez, Juan M. González

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, IRNAS-CSIC, Avda. Reina Mercedes 10, E-41012, Sevilla, España

E-mai: jadelgado@irnas.csic.es, juan.gonzalez@csic.es

La descomposición de la materia orgánica del suelo por microorganismos es un aspecto esencial en el estudio del balance de carbono suelo-atmósfera. La biomineralización a temperaturas altas en la superficie del suelo no ha recibido la importancia que se merece. Recientes investigaciones han demostrado la presencia de termofilos en suelos¹ y que la actividad enzimática extracelular (paso inicial en la descomposición de la materia orgánica) en suelos es máxima a temperaturas de 60 y 70°C². Hemos de considerar que eventos de altas temperaturas son cada vez más frecuente en latitudes medias y bajas³.

La actividad microbiana se evaluará midiendo la respiración aeróbica, medida directa de la mineralización de carbono orgánico. Se utilizará un sistema de microrespiración (Unisense) con electrodos de O₂ a temperaturas controladas de 30 y 60°C.

Las tasas de respiración a 60°C en todos los suelos estudiados de época estival han sido bastante notorias, incluso llegando a ser superiores a la tasa de respiración a 30°C en uno de los casos estudiados. Ello indica que los microorganismos termófilos pueden desempeñar un papel importante en la mineralización de la materia orgánica en suelos.

Estos estudios se complementarán con comparaciones de respiración a distintas temperaturas y contenido hídrico. De este modo podremos evaluar la relevancia de procesos termofílicos en los balances de carbono suelo-atmósfera y sus implicaciones sobre el cambio climático⁴.

Bibliografía:

¹Portillo, MC, Santana, MM, González, JM. 2012. *Presence and potencial role of thermophilic bacteria in temperate terrestrial environments*. *Naturwissenschaften* **99**: 43-53

²González, JM, Portillo, MC, Piñeiro-Vidal, M. 2015. *Latitude dependent underestimation of microbial extracellular enzyme activity in soils*. *International Journal of Environmental Science and Technology* **12**: 2427-2434

³Santana, MM, González, JM. 2015. *Hight temperature microbial activity in upper soil layers*. *FEMS Microbiology Letters* **362**: 1-4

⁴Davidson, EA, Janssens, LA. 2006. *Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change*. *Nature* **440**: 165-173

Financiación: Proyectos CGL2014-58762-P del MINECO y RNM2529 de la Junta de Andalucía

Ecología Microbiana del Aire

Susana Osuna-Esteban, Ángeles Aguilera, Marina Postigo, Elena González-Toril

Centro de Astrobiología. INTA. Ctra. Torrejón-Ajalvir Km.4 28850. Torrejón de Ardoz. Madrid.

E-mail: osunaes@cab.inta-csic.es

Se sabe desde hace años, que una gran variedad de organismos a lo largo de su ciclo vital, cambian su localización geográfica a través de la atmósfera. Las partículas biológicas están siempre presentes en la atmósfera, aunque su número y viabilidad cambien con las horas del día, las condiciones meteorológicas, las estaciones del año o la ubicación geográfica¹. El tamaño de la biota que fluye en la atmósfera varía desde micras, como en el caso de virus, bacterias, esporas y polen, hasta milímetros, como las semillas y los insectos sin alas. Se calcula que el número de bacterias en la atmósfera varía entre 10^3 y 10^6 cel/m³ de aire². Lo normal es que los microorganismos alcancen la atmósfera al ser arrastrados por el viento, por ello, son más numerosos en las capas más cercanas al suelo, situadas sobre bosques, ciudades, depuradoras o zonas de compostaje¹, así como en la troposfera. Sin embargo, han sido detectados microorganismos también a grandes alturas³. Lo que no se tiene claro es si considerar la atmósfera como un hábitat en sí mismo, pues parece ser que sólo algunas especies son capaces de reproducirse allí, mientras que la mayoría transcurren por este medio de forma pasiva^{1,4}. En todo caso, la presencia de microorganismos en la atmósfera, ya sea de forma pasiva o activa, tiene una gran repercusión económica y en el ámbito la salud.

El objetivo principal de este proyecto es el estudio de la diversidad microbiana de la atmósfera, tanto en las capas bajas cercanas a la superficie, como a diferentes alturas. Para ello, contamos con el apoyo de un equipo técnico que nos permite la adaptación y diseño de la tecnología necesaria para la obtención de muestras aéreas. La gran novedad de este proyecto, está en realizar el muestreo desde las Plataformas Aéreas de Investigación de las que dispone en INTA. Hacer la toma de muestra desde una aeronave nos permitirá realizar perfiles verticales, desplazarnos a lugares de muestreo de distinta naturaleza (mar, costa, bosques, ciudades, zonas contaminadas, etc.) lo que nos puede ayudar a entender la biogeografía los microorganismos en la atmósfera y a obtener patrones de dispersión.

Nos acercaremos al estudio de la atmósfera considerando que se trata de un ambiente extremo. En muchos momentos, los microorganismos presentes en dicho ambiente se ven sometidos a altas radiaciones, a bajas temperaturas, a la exposición a sustancias contaminantes, etc., pero a nuestro entender, la característica más extrema de este ecosistema es que es tremendamente cambiante. Los microorganismos que en él se desarrollan, tienen que adaptarse a condiciones muy diferentes y de forma muy rápida⁵.

Bibliografía:

¹Womack, AM, Bohannan, BJM, Green, JL. 2010. *Biodiversity and biogeography of the atmosphere*. Pil. Trns. R. Soc. B 365:3645-53. ²Bowers, RM, McLetchie, S, Knight, R, Fierer, N. 2011. *Spatial variability in airborne bacterial communities across land-use types and their relationship to the bacterial communities of potential source environments*. ISME J. 5:601-12. ³Wainwright, M, Wickramasinghe, NC, Narlikar, JV, Rajaratnam, P. 2003. *Microorganisms cultured from stratospheric air samples obtained at 41 km*. FEMS Microb Lett 218:161-5. ⁴Hurst, CJ et al. 2007. *Manual of Environmental Microbiology* (3rd Ed.) ASM Press. ISBN: 9781555813796. ⁵Canganella, F, Wiegel, J. 2011. *Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond*. Naturwissenschaften. 98:253-79

Financiación: Proyecto CGL2015-69758-P (MINECO/FEDER)

Identificación de los microorganismos psicrófilos sensibles al efecto "antifouling" de invertebrados bentónicos antárticos

Carlos Angulo-Preckler¹, Marina Postigo², Cristina Cid²

¹Departamento de Biología Animal, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Diagonal, 643. 08028 Barcelona. ²Centro de Astrobiología (INTA-CSIC). Carretera de Ajalvir Km 4, Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid.

E-mail: cidsc@inta.es

Algunos invertebrados bentónicos tales como las esponjas, los corales, o las ascidias, contienen en su superficie compuestos antimicrobianos o "antifouling" que les permiten reducir su colonización por microorganismos. Aunque un gran número de productos naturales pueden inhibir el crecimiento microbiano en condiciones de laboratorio, no se conoce en profundidad este efecto en las condiciones del ambiente marino¹. Desde un punto de vista ecológico, es importante conocer si estos compuestos se producen "in situ" y si se producen en cantidad suficiente para disparar una respuesta en los microorganismos². Con el objetivo de profundizar en el conocimiento de estos efectos antimicrobianos y cuales son las comunidades vulnerables, se han utilizado técnicas microscópicas y genéticas que permitan identificar y cuantificar a los microorganismos afectados. Se diseñaron diversos experimentos, en los que se realizaron: 1) obtención de los extractos con potenciales propiedades "antifouling" a partir de los invertebrados bentónicos; 2) preparación de placas en las que se inmovilizaron los extractos sobre un sustrato de "phytagel"; 3) exposición al ambiente de estos extractos inmovilizados en placas sumergidas en aguas antárticas; 4) observación por microscopía confocal de fluorescencia de los microorganismos que colonizaron las placas; 5) identificación de los microorganismos por técnicas de secuenciación del DNA ribosómico.

En este estudio, comprobamos que los extractos de algunos invertebrados marinos presentan "in situ" actividad "antifouling". Aunque no se ha llegado a identificar la estructura de las moléculas responsables de este efecto, los compuestos con actividad "antifouling" aislados podrían tener un interés en aplicaciones biomédicas e industriales sobre las comunidades de microorganismos identificadas.

Bibliografía:

¹Clare, A., 1996. *Marine natural product antifoulants: status and potential*. Biofouling. **9:211-229**

²Angulo-Preckler C, Cid C, Oliva F, Avila C. 2015. *Antifouling activity in some benthic Antarctic invertebrates by "in situ" experiments at Deception Island, Antarctica*. Marine Environmental Research **105:30-38**

Financiación: Proyectos POLAR-BIOSENSOR (CTM2011-16003) y Paleo-ICE (CGL2015-72167), MINECO.

Regulación a nivel transcripcional de la nitrato reductasa asimilativa de *Haloferax mediterranei*

Pastor-Soler, S., Esclapez, J., Bautista, V., Pire, C., Martínez-Espinosa, R.M., Camacho, M., Bonete, M.J.

Dpto. Agroquímica y Bioquímica. Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. España.

E-mail: sps31@alu.ua.es

En los últimos años, se ha ampliado mucho el conocimiento sobre la regulación de genes a nivel transcripcional en haloarqueas, identificándose reguladores transcripcionales que reconocen secuencias específicas del DNA, que en muchos casos se corresponden con secuencias palindrómicas conservadas¹.

La vía asimilativa del nitrato en *Haloferax mediterranei* se encuentra muy regulada a nivel transcripcional por un control específico dependiente de la disponibilidad de amonio². En concreto, estudios previos de *Northern blot*, qPCR y *microarrays* han determinado que la expresión del gen de la nitrato reductasa asimilativa (*nasA*) se da en presencia de nitrato, glutamato, aspartato y nitrito. Por el contrario, en presencia de amonio, glutamina, asparagina y extracto de levadura, su expresión se ve inhibida^{3,4}. Sin embargo, hasta la fecha no se ha descrito ningún regulador directamente relacionado con la expresión de este gen en haloarqueas.

En este trabajo, se describe el estudio realizado para identificar posibles zonas de unión de reguladores transcripcionales relacionados con la regulación del gen *nasA* de *Hfx. mediterranei*. Para ello, se han realizado modificaciones de las regiones palindrómicas (probablemente implicadas en la unión de reguladores transcripcionales) presentes en la región promotora del gen *nasA*, que posteriormente fueron caracterizadas en presencia de diferentes fuentes de nitrógeno mediante la fusión de éstas con el gen de la β -galactosidasa de *Haloferax lucentense* (*bgaH*) como gen reportero. Por otro lado, se han realizado ensayos de cromatografía de afinidad frente a la región promotora del gen *nasA* marcada con biotina y unida a una matriz de estreptavidina, con el fin de identificar posibles reguladores de este gen.

Bibliografía:

¹Keese, A.M., Schut, G.J., Ouhammouch, M., Adams, M.W.W. and Thomm, M. 2010. *Genome-wide identification of targets for the archaeal heat shock regulator Phr by cell-free transcription of genomic DNA*. Journal of Bacteriology **192**: 1292–1298.

²Martínez-Espinosa, R.M., Lledó, B., Marhuenda-Egea, F.C., Díaz, S., Bonete, M.J. 2009. *NO₃⁻/NO₂⁻ assimilation in halophilic archaea: physiological analysis, nasA and nasD expressions*. Extremophiles **13**: 785–792.

³Esclapez, J., Bravo-Barrales, G., Bautista, V., Pire, C., Camacho, M., Bonete, M.J. 2014. *Effects of nitrogen sources on the nitrate assimilation in Haloferax mediterranei: growth kinetics and transcriptomic analysis*. FEMS Microbiology Letters **350**: 168–174.

⁴Esclapez, J., Pire, C., Camacho, M., Bautista, V., Martínez-Espinosa, R. M., Zafrilla, B., Vegara, A., Alcaraz, L.A., Bonete, M.J. 2015. *Transcriptional profiles of Haloferax mediterranei based on nitrogen availability*. Journal of Biotechnology **193**: 100-107.

Financiación: Proyecto BIO-2013–42921–P de MINECO y Fondos FEDER de la Unión Europea.

Estudio del papel de los reguladores Fur y del hierro en el control de la síntesis de ectoínas en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*

Emilia Naranjo, Montserrat Argandoña, Joaquín J. Nieto y Carmen Vargas

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.

E-mail: eminaranjo@us.es

Chromohalobacter salexigens es un microorganismo extremófilo modelo de máximo interés y aplicabilidad en Biotecnología, ya que sintetiza los solutos compatibles ectoína e hidroxiectoína, compuestos bioestabilizadores con potenciales aplicaciones en el campo de la biomedicina, entre otros. Se sabe que la homeostasis del hierro en esta bacteria está directamente relacionada con su capacidad de adaptación al estrés osmótico y por lo tanto, con la síntesis de ectoínas, a través del regulador global Fur. En el genoma de *C. salexigens* se han encontrado dos parálogos pertenecientes a la superfamilia Fur, Fur1, descrito anteriormente como activador de los genes de síntesis de ectoína¹, y un segundo regulador denominado Fur2, que por resultados anteriores se sabe que interviene en la osmoadaptación. Ambos intervienen en la homeostasis del hierro mediante el control de la síntesis de sideróforos.

En este estudio se ha profundizado en el papel que juegan ambos reguladores Fur en el control transcripcional de los genes implicados en la síntesis de ectoína (*ectABC*) e hidroxiectoína (*ectD* y *ectE*), en condiciones limitantes o con aporte de hierro, y a diferentes salinidades. Para ello se obtuvieron diferentes cepas mutantes en dichos reguladores y se llevaron a cabo estudios de expresión mediante qPCR de los genes de síntesis de ectoínas. Además se cuantificó el contenido intra y extracelular de ectoínas mediante HPLC-MS así como el contenido intracelular de hierro de las diferentes cepas mediante ICP-OES.

Los resultados obtenidos indican que ambos reguladores están involucrados en el control de la expresión de los genes tanto de ectoína como de hidroxiectoína, aunque se observa un papel diferente de cada regulador (activador o inhibidor) dependiendo de las condiciones de ensayo. Cabe destacar la influencia del hierro tanto en la expresión de los genes de síntesis de ectoínas como en el contenido intracelular de las mismas. Además se observa que existe un mecanismo de control adicional dependiente de hierro pero independiente de Fur. Estos resultados muestran la compleja regulación de los genes de síntesis de ectoínas y la importancia del hierro en la osmoadaptación de esta bacteria.

Bibliografía:

¹Argandoña et al. (2010). *Appl Environ Microbiol.* 76(11):3575-89.

Financiación: MINECO/FEDER (BIO2015-63949-R) y la Junta de Andalucía (P11-CV1-7293 MO).

Comprobando modelos evolutivos que expliquen el proceso de sustitución nucleotídica en RNA 16S de ambientes ácidos extremos

José Jordán Soria^{1,2}, Ricardo Amils Pibernat^{1,2}, Felipe Gómez Gómez²

¹Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM) Nicolás Cabrera 1, 28049 Madrid. ² Centro de Astrobiología (CSIC-INTA) Ctra. Ajalvir-Torrejón Km.4, 28850 Madrid.

E-mail: planetologia4@cab.inta-csic.es

El uso de métodos moleculares para la caracterización microbiana son actualmente esenciales para la ecología microbiana, y el gen ribosomal 16S se ha utilizado y se utiliza ampliamente como marcador de diversidad y para la elaboración de filogenias¹.

Muchas herramientas bioinformáticas se han desarrollado desde que aparecieran los primeros algoritmos². Sin embargo no conocemos bien los modelos de evolución que mejor puedan explicar el proceso de sustitución nucleotídica en microorganismos, en particular de extremófilos. Esto es algo fundamental cuando se quieren realizar análisis filogenéticos y entender los procesos biológicos que dan forma al proceso evolutivo de los organismos, ya que la presión ambiental determina la dinámica evolutiva de las poblaciones microbianas³.

Actualmente no hay estudios publicados en los que se observe el proceso de sustitución en el ribosomal 16S dentro y entre taxones bacterianos probando diferentes modelos evolutivos para explicar las diferencias en composición nucleotídica entre genes de 16S de microorganismos, salvo estudios en los que se centran en este aspecto en genes 16S de bacterias intestinales de numerosos artículos publicados³.

Se expondrá un primer análisis preliminar realizado con conjuntos de secuencias de ribosomal 16S recolectados de publicaciones diversas correspondientes a ambientes ácidos y ricos en metales distribuidos en diferentes regiones del mundo en los que, usando métodos de alineamiento diferentes, se identifique con mayor probabilidad el mejor modelo evolutivo que describa los datos de las secuencias utilizadas.

Bibliografía:

¹ Weisburg, WG, Barns, SM, Pelletier DA, Lane DJ. 1991. *16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study*. Journal of Bacteriology. **173(2): 697-703**

² Smith, TF, Waterman MS. 1981. *Identification of common molecular subsequences*. J. Mol. Biol. **147(1): 195-197**

³ García-Mazcorro, J. 2013. *Testing evolutionary models to explain the process of nucleotide substitution in gut bacterial 16S rRNA gene sequences*. FEMS Microbiol. Lett. **346: 97-104**

Financiación: Proyecto MASE FP7-Space-2013 Grant Agreement 607297

An enhanced folding reporter to select thermostable protein variants

Sandra Bosch, José Berenguer, Aurelio Hidalgo

*Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Universidad Autónoma de Madrid
(Madrid, Spain)*

E-mail: sbosch@cbm.csic.es, ahidalgo@cbm.csic.es

The folding interference principle¹ enables an activity-independent method for the selection of thermostable mutants of any protein². This method consists in the expression of a fusion of two proteins, the protein of interest at N terminus and a thermostable antibiotic reporter at C terminus. If the protein of interest is not correctly folded, the reporter will not fold properly, thus the clone will not survive in the presence of the antibiotic. Candidate thermostable reporters used to correlate protein stability with host survival are the engineered kanamycin nucleotidyltransferase from *Staphylococcus aureus* (Kat), bleomycin binding protein from *Streptoalioitechus hindustanus* (ShBle) and the engineered hygromycin B phosphotransferase from *Escherichia coli* (Hph5)³. Kat exhibited positive but weak correlation likely due to its dimeric nature. ShBle did not provide selection due to the overstabilization caused by its tetrameric nature. Hph5 seemed a better candidate as it has a monomeric structure, but is not stable enough for selection. Therefore, we tried to obtain a more thermostable variant of Hph5 by error-prone PCR (epPCR) and selection in *Thermus thermophilus*.

After selection at 70 °C using *Thermus thermophilus* as host, the thermostability of 20 selected clones was verified using a serial dilution assay on plates. The clone that showed the highest relative thermostability, named Hph17, was characterized structurally. Hph17 has 5 amino acid substitutions with respect to the parental Hph5, but only 1 of them could explain stabilization according to bioinformatics simulations on the Hph17 structure

Finally, Hph17 was tested as a folding reporter to screen for thermostable variants of industrially relevant enzymes.

References:

¹Waldo, G. S., Standish, B. M., Berendzen, J., & Terwilliger, T. C. (1999). Rapid protein-folding assay using green fluorescent protein. *Nature biotechnology*, 17(7), 691- 695.

²Chautard, H., Blas-Galindo, E., Menguy, T., Grand'Moursel, L., Cava, F., Berenguer, J., & Delcourt, M. (2007). An activity-independent selection system of thermostable protein variants. *Nature methods*, 4(11), 919-921.

³Nakamura, A., Takakura, Y., Kobayashi, H., & Hoshino, T. (2005). In vivo directed evolution for thermostabilization of *Escherichia coli* hygromycin B phosphotransferase and the use of the gene as a selection marker in the host-vector system of *Thermus thermophilus*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 100(2), 158-163.

Funding: This work has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement 635595 "CarbaZymes" and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness under grant BIO2013-44963-R.

Avances sobre la desnitrificación en haloarqueas: de la bioquímica/biología molecular al cambio climático

Martínez-Espinosa Rosa María¹, Torregrosa-Crespo J¹, Pire C¹, Bautista V¹, Esclapez J¹, González-Torres P², Richardson DJ³, Camacho M¹, Bonete MJ¹.

¹Departamento de Agroquímica y Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. ²IMEGEN, Instituto de Medicina Genómica, Parc Científic de Valencia. ³School of Biological Sciences. Faculty of Science. University of East Anglia, Norwich (UK)

E-mail: rosa.martinez@ua.es

Aunque la desnitrificación es una ruta metabólica ampliamente estudiada (y principalmente llevada a cabo por microorganismos), apenas se tienen estudios sobre la misma en el dominio *Archaea* en general, y en el grupo de haloarqueas en particular. Las caracterizaciones microbiológicas de los taxones incluyen entre sus pruebas la reducción de nitrato a nitrito en anaerobiosis para determinar si un microorganismo puede ser o no caracterizado como desnitrificante. Sin embargo, la diversidad de rutas metabólicas que implican en alguno de sus pasos la reducción de nitrato a nitrito en anaerobiosis o microaerofilia, hace confusa esta descripción y no aclara el potencial real que como desnitrificantes tienen las especies caracterizadas o en vías de caracterización. Con el objetivo de dilucidar el potencial real de desnitrificación que tienen las haloarqueas, se iniciaron estudios de bioquímica y biología molecular (purificación y caracterización de enzimas de la desnitrificación), así como estudios de naturaleza fisiológica. Prácticamente todos estos estudios han sido realizados con especies de los géneros *Haloferax* y *Haloarcula*, siendo *Haloferax mediterranei* una de las especies mejor analizadas¹⁻³.

Este trabajo recoge de forma completa e integrada un análisis bioquímico y fisiológico junto con un estudio bioinformático con los siguientes objetivos: i) determinar qué especies de haloarqueas disponen de la maquinaria molecular completa para catalizar la desnitrificación; ii) caracterizar bioquímicamente la ruta metabólica y iii) analizar el potencial de las haloarqueas desnitrificantes como agentes biorremediadores.

Bibliografía:

¹Torregrosa-Crespo J, Martínez-Espinosa RM, Esclapez J, Bautista V, Pire C, Camacho M, Richardson DJ, Bonete MJ. 2016. Anaerobic metabolism in *Haloferax* genus: denitrification as case of study. *Adv Microb Physiol* 68: 41-85.

²Martínez-Espinosa RM, Dridge EJ, Bonete MJ, Butt JN, Butler CS, Sargent F, Richardson DJ. Look on the positive side! 2007. The orientation, identification and bioenergetics of 'Archaeal' membrane-bound nitrate reductases. *FEMS Microbiol Lett.* 276: 129-39.

³Esclapez J, Zafrilla B, Martínez-Espinosa RM, Bonete MJ. 2013. Cu-NirK from *Haloferax mediterranei* as an example of metalloprotein maturation and exportation via Tat system. *Biochim Biophys Acta.* 1834: 1003-9.

Financiación: Proyecto CTM2013-43147-R de Mineco.

X-DNA extraction kit: un nuevo kit de extracción de ADN de alta eficacia

Torres, S.¹, Martínez-Bueno, M.², Martín-Platero, A. M.², Quesada, E.^{3,4}, Béjar, V.^{3,4}, Martínez-Checa, F.^{3,4}

¹Instituto Universitario de Investigación de Biopatología y Medicina Regenerativa. Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS). Granada.²Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada.³Instituto de Biotecnología. Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS). Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.⁴Xtrem Biotech SL. Centro Europeo de Empresas e Innovación (Edificio BIC). Avenida de la Innovación, 1. 18016 Armilla (Granada).

E-mail: fmcheca@ugr.es. info@xtrembiotech.com

Xtrem Biotech S.L ha comenzado a comercializar un kit de extracción de ADN (X-DNA extraction kit) diseñado por el grupo de investigación del Dr. Martínez-Bueno de la Universidad de Granada y transferido para su explotación a Xtrem Biotech (<http://www.xtrembiotech.com>).

El kit está basado, aunque con numerosas modificaciones, en la publicación realizada por dicho equipo en 2007 ¹.

Hemos probado nuestro kit en muestras biológicas diversas: sangre, saliva, heces, células humanas, etc., así como en alimentos, plantas y microorganismos: bacterias, levaduras y hongos filamentosos. Para demostrar su eficacia, el kit se ha comparado con otros kits que actualmente están en el mercado: Zymo Research, Realpure y Qiagen.

X-DNA extraction kit ha mostrado ser más eficaz que los kits ensayados mostrando las siguientes ventajas: a) Obtención de mayor concentración y pureza de ADN. b) Menor tiempo de realización de la técnica y mayor sencillez c) Menor coste económico. d) Menor utilización de envases y material de plástico. e) Eliminación del uso de solventes orgánicos como el fenol y/o cloroformo, o sales fuertemente corrosivas como las derivadas del guanidinio.

Bibliografía:

¹ Martín-Platero, A. M., Valdivia, E., Maqueda, M. y Martínez-Bueno, M. 2007. *Fast, convenient, and economical method for isolating genomic DNA from lactic acid bacteria using a modification of the protein "salting-out" procedure*. Analytical biochemistry **366**: 102-104.

Financiación: Proyecto CEI-Biotic-Universidad de Granada BS45-2015. Optimización y desarrollo de un método rápido, sencillo y económico de aislamiento de ADN genómico procedente de distintas muestras biológicas. Agregado del proyecto: Xtrem Biotech S. L.

Nueva especie de *Blastomonas* aislada del suelo salino de Rambla Salada (Murcia)

Castro, D.^{1,2}, Quesada E.¹, Béjar, V.¹, Llamas, I.¹, Rodríguez, M.¹ y Martínez-Checa, F¹.

¹Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS). Granada. ²Xtrem Biotech S.L. Centro Europeo de Empresas e Innovación (Edificio BIC) Avenida de la Innovación, 1. 18016 Armilla (Granada).

E-mail: castro david@correo.ugr.es

Rambla Salada es un espacio de especial protección para las aves (ZEPA) de la comunidad de Murcia. La diversidad procariota de este hábitat ha sido estudiada desde el año 2005 por el grupo de investigación "Exopolisacáridos Microbianos" (BIO 188) tanto por técnicas clásicas como moleculares. Utilizando la técnica de Dilución a Extinción¹ en muestras de suelos tomadas en las coordenadas 38°12'40.41"N, 1°11'69.92"W fue aislado un bacilo Gram negativo de 1 a 1,5 micras de longitud, móvil, no formador de esporas, aeróbico, catalasa y oxidasa positivo, designado como RS912. Se trata de una bacteria halófila débil que crece en concentraciones de NaCl comprendidas entre 0 y 7% (p/v) siendo su crecimiento óptimo a 3% (p/v) de sales y una temperatura de 30°C. Sus colonias en agar marino así como en medio R2A son puntiformes, con una pigmentación amarilla, convexas, circulares y lisas. A concentraciones superiores al 5% de NaCl (p/v) las colonias pierden la pigmentación. El contenido de G+C es 64 moles%. El aislado RS912 es amilasa negativo, ADNasa positivo, fosfatasa ácida positivo, tween 80 positivo, nitrato reductasa débil y no hidroliza la gelatina. El análisis filogenético basado en la secuencia del gen ARNr 16S indicó que el aislado pertenece al género *Blastomonas* mostrando una identidad del 95,85% con *Blastomonas natatoria*² DSM3183^T y <95% con los integrantes de otros géneros de la familia *Sphingomonadaceae*.

Bibliografía:

¹ Button, D. K., Schut, F., Quang, P., Martin, R. y Robertson, B. R. 1993. *Viability and isolation of marine bacteria by dilution culture: theory, procedures, and initial results*. [Appl Environ Microbiol](#) **59** (3): 881-891.

² Sly, L y Cahill, M. 1997. *Transfer of Blastobacter natatorius (Sly 1985) to the Genus Blastomonas gen. Nov. as Blastomonas natatoria comb. nov.* *Int J Syst Bacteriol* **47** (2): 566-568.

² Hiraishi, A., Kuraishi, H. y Kawahara, K. 2000. *Emendation of the description of Blastomonas natatoria (Sly, 1985) Sly and Cahill 1997 as an aerobic photosynthetic bacterium and reclassification of Erythromonas ursinicola Yurkov et al. 1997 as Blastomonas ursinicola comb. nov.* *INT J SYMBOL* **50**: 1113-1118.

Financiación:

Proyecto: Nuevas estrategias para el cultivo y la caracterización de las bacterias que pueblan Rambla Salada (Murcia) y que no han podido ser aun cultivadas por métodos clásicos del Ministerio de Ciencia e innovación, Plan Nacional I+D+I (CGL2011-25748).

Proyecto: Desarrollo de microorganismos para el control biológico de plagas en el olivar del Ministerio de Economía y Competitividad DI-14-06868. Beca de Doctorado Industrial, Entidad beneficiaria: Xtrem Biotech SL.

Rhodothermaeota* phyl. nov.; un filo de carácter extremófilo que se distingue de los *Bacteroidetes

Raul Munoz^{1,2}, Rudolf Amann², Ramon Rosselló-Móra¹

¹Grupo de Microbiología Marina (MMG), Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA, UIB-CSIC). Esporles, Isla Baleares. ²Department of Molecular Ecology, Max Planck Institute for Marine Microbiology. Bremen, Alemania.

E-mail: raul@imedea.uib-csic.es

Iniciamos el estudio filogenómico de *Bacteroidetes* revisando la filogenia y taxonomía de éste filo al que pertenecen algunas bacterias extremófilas. La reconstrucción filogenética mediante genes ribosomales y *multi-locus* de 29 secuencias aminoacídicas ortólogas permitió, entre otras, la clasificación de una clase nueva, un orden nuevo, y cinco nuevas familias en una taxonomía que llevaba sin ser revisada^{1, 2} desde 2010. Los géneros *Rhodothermus* y *Balneola*, que habían sido clasificadas como *Incertae Sedis*, han sido circunscritas como un nuevo filo con origen próximo a la bifurcación que separa *Chlorobi* de *Bacteroidetes*. Este nuevo filo, *Rhodothermaeota*, se ha dividido en las clases *Balneolia* y *Rhodothermia* con sus órdenes *Balneolales* y *Rhodothermales* respectivamente. El orden *Balneolales* contiene la familia *Balneolaceae*, mientras que el orden *Rhodothermales* contiene tres familias; *Rhodothermaceae*, *Rubricoccaceae* y *Salinibacteraceae*. Esta última alberga a los géneros *Salinibacter*, *Salinivenus* y *Salisaeta*, halófilos extremos. El género *Salinivenus* también se describe en este trabajo que aporta pruebas para reclasificar *Salinibacter iranicus* y *Salinibacter luteus* como *Salinivenus iranica*^(T) y *S. lutea*.

Rhodothermaeota aparece como un filo de procariotas mesófilos o extremófilos de distinta índole. *Balneolaceae* necesita pH básicos (6-10) para su crecimiento. *Rhodothermaceae* son termófilos con temperaturas óptimas de crecimiento entre 65 y 80°C. *Rubricoccaceae* (*Rubricoccus marinus*) tiene su temperatura óptima de crecimiento en 20°C pero puede crecer hasta a 5°C. Por último *Salinibacteraceae* es una familia de halófilos extremos que necesitan NaCl 0.9 a 6.0M para crecer.

Bibliografía:

¹Krieg, N.R., Ludwig, W., Euzéby, J., Whitman, W.B. (2010) *Phylum XIV, Bacteroidetes phyl. nov.* In; Krieg, N.R., Staley, J.T., Brown, D.R., Hedlund, B.P., Paster, B.J., Ward, N.L., Ludwig, W., Whitman, W.B. (Eds), *Bergey's Manual* ® of Systematic Bacteriology, Springer, New York, **pp. 25-469**.

²Munoz, R., Amann, R., Rosselló-Móra, R. (2016) *Revised phylogeny of Bacteroidetes and proposal of sixteen new taxa and two new combinations including Rhodothermaeota phyl. nov.* *Syst Appl Microbiol* **39(5)**; 281-296.

Financiación: Beca de doctorado del Instituto Max Planck para Microbiología Marina.

Filogenómica y biodiversidad del género *Salinivibrio*

Clara López-Hermoso, Rafael R. de la Haba, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 41012 Sevilla

E-mail: claralh@us.es

El género *Salinivibrio* está constituido por bacterias halófilas moderadas pertenecientes a la familia *Vibrionaceae* dentro de la clase *Gammaproteobacteria*. Este género lo conforman un total de cuatro especies, una de ellas con tres subespecies. Los miembros de este género son comúnmente aislados de carnes en salazón, salmueras y ambientes acuáticos hipersalinos.

Debido a las limitaciones del uso del gen ARNr 16S con fines taxonómicos en la familia *Vibrionaceae*¹, se ha propuesto como alternativa el Análisis por Secuenciación Multilócica (MLSA) para resolver algunas incongruencias encontradas en la taxonomía de *Salinivibrio*, tales como que las tres subespecies de *S. costicola* no forman un grupo monofilético. Además, con el objetivo de realizar un estudio biogeográfico, se aislaron un total de 80 cepas de este género de diferentes ambientes acuáticos hipersalinos y en distintas épocas del año. Para completar este trabajo se llevó a cabo la secuenciación de 35 genomas de cepas de *Salinivibrio* mediante tecnología *Illumina*.

Los datos obtenidos mediante el análisis MLSA y estudios filogenómicos han permitido distinguir cinco filogrupos, confirmando que las tres subespecies de *S. costicola* no forman un grupo monofilético; además otras especies podrían reclasificarse bajo un mismo taxón ya que aparecen muy cercanas filogenéticamente. Por otro lado, se observó la existencia de un filogrupo claramente separado del resto y con alto soporte de rama, el cual, podría constituir una nueva especie de *Salinivibrio*.

Por otro lado, hemos estudiado las características generales de los genomas (tamaño, contenido en G+C, porcentaje de contaminación...), hemos confirmado su posición taxonómica de las cepas objeto de estudio mediante estudios *in silico* (cálculo de ANI, orthoANI, AAI)² y hemos analizado posibles eventos de transferencia génica horizontal, su abundancia en ambientes salinos e hipersalinos y sus principales rutas metabólicas.

Bibliografía:

¹Sawabe, T, Ogura, Y, Matsumura, Y, Feng, G, Rohul Amil, AKM, Mino, S, Nakagawa, S, Sawabe, T, Kumar, R, Fukui, Y, Satomi, M, Matsushima, R, Thompson, FL, Gómez-Gil, B, Christen, R, Maruyama, F, Kurokawa, K, Hayashi, T. (2013). *Updating the Vibrio clades defined by multilocus sequence phylogeny: proposal of eight new clades, and the description of Vibrio tritoniensis sp. nov.* Front Microbiol 4: 414

²Goris, J, Konstantinidis, KT, Klappenbach, JA, Coenye, T, Vandamme, P, Tiedje, JM. (2007). *DNA-DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities.* Int J Syst Evol Microbiol 57: 81–91

Financiación: Proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad (CGL2013-46941-P).

Influencia de la quimiotaxis en la colonización de plantas de *Salicornia* por bacterias halófilas

Inmaculada Sampedro^{1,2}, Inmaculada Llamas^{1,2}, Marta Torres^{1,2}, Emilia Quesada^{1,2}.

¹Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, España. ²Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM), Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada, España.

E-mail: isampedro@ugr.es

Alrededor de 800 millones de hectáreas de suelo en el mundo están afectadas por la sal (FAO 2008: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/>). De acuerdo con el escenario de cambio climático, la subida del nivel del mar aumentará el área de humedales salinos y amenazará la producción agrícola mediante el incremento de la salinidad del suelo. Por lo tanto, la promoción del crecimiento y/o cultivo de plantas halófilas es una de las principales estrategias en las que se está investigando¹.

La planta halófila *Salicornia* está considerada como uno de los más prometedores recursos bióticos para la explotación y desarrollo económico en las regiones semiáridas en el mundo². El objetivo de este trabajo consiste en caracterizar la microbiota asociada a esta planta y promover su posible efecto “*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*” (PGPR) mediante el análisis de la quimiotaxis bacteriana y los sistemas de comunicación quorum sensing (QS). En la bibliografía existen exhaustivos estudios de quimiotaxis hechos con bacterias modelo, tales como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*³, sin embargo, hasta la fecha, y para nuestro conocimiento, no existe ningún estudio que analice la quimiotaxis de las bacterias halófilas. Los estudios de quimiotaxis realizados en este trabajo de investigación mostraron el efecto quimioatrayente de los exudados de plantas de *Salicornia* para la bacteria *Halomonas anticariensis* FP35^T. La construcción del mutante de quimiotaxis *H. anticariensis* FP35^T *cheA* utilizado como control negativo confirmó estos resultados. Los ensayos de colonización de semillas de *Salicornia* mostraron un mayor incremento del porcentaje de germinación así como del índice de vigor en semillas inoculadas con *H. anticariensis* FP35^T en relación a las inoculadas con la bacteria mutante en quimiotaxis. Por otra parte, se pudo observar mediante análisis TLC la menor producción de AHLs en la bacteria *H. anticariensis* FP35^T *cheA* (mutante en quimiotaxis) respecto a la bacteria original demostrando así la relación quimiotaxis-QS. Los resultados obtenidos indicarían que la quimiotaxis tiene una clara influencia en el proceso de colonización de las plantas de *Salicornia* por bacterias halófilas.

Bibliografía:

¹Mayak, S., T. Tirosh, and B.R. Glick, Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004. **42**(6): p. 565-572.

²Ellison, A.M., Density-Dependent Dynamics of *Salicornia-Europaea* Monocultures. *Ecology*, 1987. **68**(3): p. 737-741.

³Sampedro, I., Parales, R., Krell, T., and Hill, J.E. *Pseudomonas* chemotaxis. *FEMS Microbiology Reviews*, 2015. 39: 17-46.

Financiación: RYC-2014-15532

La microbiota marina extrema: Un recurso de nuevos antimicrobianos contra bacterias multirresistentes a fármacos (MDR)

Paulina Corral Villa

Consejo Nacional de Investigación (CNR) Instituto de Bioquímica de las proteínas. Via Pietro Castellino 111, 80131 Nápoles, Italia.

E-mail: p.corral@ibp.cnr.it

Los ecosistemas marinos extremos representan un recurso prometedor para la obtención de nuevos compuestos bioactivos de interés farmacéutico. La creciente resistencia a los antibióticos constituye una amenaza para la salud pública siendo necesario reponer el arsenal terapéutico en la era postantibiótica. Una de las esperanzas se focaliza en la explotación de la microbiota marina para el desarrollo de nuevos compuestos antimicrobianos y así combatir las infecciones recalcitrantes causadas por bacterias multirresistentes a antibióticos (MDR)¹.

En este trabajo se realizó un screening de un total de 500 microorganismos entre bacterias, actinobacterias y hongos aislados del mar Ártico y del Antártico contra un panel de patógenos humanos MDR: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia metallica* and *Francisella tularensis*.

Se identificó la cepa AP8, un hongo halófilo aislado del sedimento abisal marino en la Antártida capaz de inhibir eficazmente in vitro el crecimiento del target de patógenos utilizados. Para la producción del compuesto activo se utilizó el enfoque OSMAC (One Strain Many Compounds) induciendo al estrés abiótico por medio de variaciones de salinidad y pH para propiciar diversas condiciones del metabolismo secundario. De este modo se pudo obtener un mayor rendimiento y cantidad del compuesto activo responsable de la actividad antimicrobiana. El extracto crudo fue capaz de inhibir el crecimiento del target de patógenos MDR a una concentración inhibitoria mínima (MIC) de 0.06 mg/ml. Después del fraccionamiento y extracción en fase sólida (SPE), la eficacia inhibitoria de AP8 contra los patógenos se incrementó a concentraciones mínimas inferiores a 0.03 mg/ml. La purificación del compuesto activo se realizó por UHPLC cuyo pico responsable de toda la actividad ha sido detectado. La caracterización química de la molécula se está llevando a cabo por resonancia magnética nuclear NMR para determinar su estructura y posteriormente llevar a cabo pruebas de citotoxicidad.

Bibliografía:

¹Giudice, A. L., & Fani, R. 2016. *Antimicrobial Potential of Cold-Adapted Bacteria and Fungi from Polar Regions*. *Biotechnology of Extremophile* **1**: 83-115

Financiación: Proyecto **15012690**. HaloDrugs. Ministerio de Asuntos exteriores Italia a Paulina Corral 2015-2016

Tratamiento y revalorización de residuos. Ejemplo de aplicación: relaves

Bravo, G.¹, Esclapez, J.^{1,2}, Marín, I.³, Bonete, M.J.²

¹*Biotechnológica Arauco Spa., Arauco, Chile.* ²*Dpto. Agroquímica y Bioquímica. Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. España.* ³*Dpto. Biología Molecular. Universidad Autónoma de Madrid. España.*

E-mail: gloria.bravo@biotecnologicarauco.cl

Producto de la histórica e intensa actividad minera desarrollada en Chile, existe una cantidad significativa de residuos identificados como pasivos ambientales de la minería (PAM). En la actualidad se reconoce un significativo valor económico en estos PAM, lo cual se asocia a la presencia de elementos estratégicos para el desarrollo tecnológico de las próximas décadas.

En este contexto, actualmente en Chile existe un gran interés por desarrollar tecnología que permita recuperar elementos de valor, particularmente desde relaves, como por ejemplo los generados a partir de procesos hidrometalúrgicos.

Dentro de esta iniciativa estamos trabajando (UAM, UA y Biotechnológica Arauco SpA) en un primer prototipo para evaluar la factibilidad técnica para llevar a cabo la recuperación de elementos de interés mediante biotecnología con extremófilos. Paralelamente Biotechnológica Arauco SpA, está trabajando en la identificación de otros PAM con potencial valor económico y evaluando alternativas de aplicaciones biotecnológicas para estos microorganismos.

Financiación: Fondo de Innovación Tecnológica de la región del Biobío (Chile)

Demostración *in-situ* del modelo presa-depredador “Kill the winner”: Estudio del mesocosmos de las Salinas de Campos (Mallorca)

Ramos-Barbero, MD¹, Viver, B², Martínez-García, M¹, Santos, F¹, T, Villamor, J¹, Rosselló-Móra, R², Konstantinidis, K³, Antón, J¹.

¹Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología Universidad de Alicante. Apartado 99 03080. Alicante. España. ²Grupo de Microbiología Marina Grupo Microbiología Marina (MMG), Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA – CSIC- UIB), Mallorca España. ³School of Biology, Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA.

E-mail: loles@ua.es

Los virus son las entidades biológicas más abundantes de la biosfera y están implicados en la regulación de los ecosistemas, en el control del número, diversidad y evolución de sus hospedadores e influyen en los ciclos biogeoquímicos.

Este trabajo trata de demostrar *in-situ* la hipótesis presa-depredador “Kill the winner” la cual describe la interacción virus-hospedador en ambientes naturales (Thingstad et al., 1997)¹ (Rodríguez-Valera et al., 2009)².

El presente experimento se llevó a cabo en las Salinas de Campos (Mallorca) en la que se seleccionaron tres estanques, uno de ellos control al que no se le aplicó modificación alguna y otros dos estanques de similares características, los cuales se inocularon con aproximadamente un 10% de dos *Salinibacter* spp. Las cepas elegidas para el experimento fueron *Salinibacter ruber* M8 (aislada diez años antes de estas salinas) para uno de los estanques y PHIII cepa alóctona, procedente de las salinas de Argentina para el otro. Tras ello, se procedió a la monitorización de la abundancia de virus y células en cada uno de los estanques. Por otro lado se realizó un estudio metagenómico y metatranscriptómico vírico y celular de puntos estratégicamente elegidos. Los resultados preliminares mostraron fluctuaciones en la dinámica de la comunidad microbina (virus y células) a lo largo del experimento en el estanque inoculado con *Salinibacter ruber* M8 que podrían ajustarse al modelo “Kill the winner”.

Bibliografía:

¹Thingstad TF, Lignell R. *Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand*. Aquat Microb Ecol J **13:19-27 (1997)**

²Rodríguez-Valera, F. Martín Cuadrado, AB, Rodríguez-Brito, B, Pasic, L, Thingstad, TF, Rohwer, F, AND Mira, A. *Explaining microbial population genomics through phage predation*. Nat Rev microbial **7: 828-36 (2009)**

Financiación: Proyectos CGL2012-39627-C03-01 y CGL2015-66686-C3-3-P del MINECO

Persistencia de Enzimas Extracelulares de Microorganismos Termófilos en Suelos

Enrique J. Gómez, José A. Delgado, Juan M. González

*Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC).
Avda. Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla. España.*

E-mail: enrique.gomez@irnas.csic.es, juan.gonzalez@csic.es

El papel de los microorganismos en los procesos biogeoquímicos del suelo es, hoy en día, incuestionable. En contra de lo establecido, en los últimos años se ha demostrado la presencia de microorganismos termófilos en suelos así como su relevancia¹, además se ha observado la existencia de picos de máxima actividad enzimática en suelos correspondientes a las temperaturas óptimas de termófilos². Sin embargo, queda por demostrar si dicha actividad se debe a alta producción de enzimas por los termófilos de suelos durante periodos cálidos o a la acumulación de sus enzimas debido a su mayor resistencia. Nuestro objetivo es determinar la persistencia de enzimas extracelulares de termófilos en comparación con mesófilos y evaluar su relevancia.

La metodología utilizada se basa en *Renella et al.*³ con modificaciones introducidas durante este estudio. Muestras de suelo se suplementan con nutrientes para potenciar el crecimiento de los microorganismos y producir suficiente cantidad de enzimas. Una vez alcanzada la máxima producción de enzimas se monitoriza su descenso a 20 y 60° C el cual sigue una cinética de primer orden.

Los resultados obtenidos muestran que la persistencia de las enzimas termófilicas es muy superior a la de mesófilos. Esto implica que las enzimas extracelulares de los termófilos podrían acumularse a lo largo del tiempo y formar un reservorio enzimático preparado para actuar tan pronto como la temperatura de la superficie del suelo aumente. Los microorganismos termófilos del suelo podrían beneficiarse de esta estrategia para aprovechar inmediatamente los periodos de temperaturas altas que limitan su desarrollo. Estos datos permitirían comprender y evaluar el papel de los microorganismos en sistemas áridos y procesos de desertización.

Bibliografía:

¹Portillo, MC, Santana M, González JM. 2012 *Presence and potential role of thermophilic bacteria in temperate terrestrial environments*. *Naturwissenschaften*. **99**: 43-53

²González, JM, Portillo MC, Piñero-Vidal M. 2014. *Latitude-dependent underestimation of microbial extracellular enzyme activity in soils*. *International Journal of Environmental Science and Technology* **12**: 2427-2434

³Renella G, Szukics U, Landi L, Nannipieri P. 2007. *Quantitative assessment of hydrolase production and persistence in soil*. *Biology and Fertility of Soils*. **44**: 321-329

Financiación: Proyectos RNM2529 de la Junta de Andalucía y CGL2014-58762-P del MINECO

Evaluación de dos cepas de *Psychrobacillus* aisladas en las Tablas de Daimiel como promotoras del crecimiento vegetal

Rodríguez M^{1,2}, Castro D^{1,2}, Béjar V^{1,2}, Quesada E^{1,2}

¹Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS). Granada. ²Xtrem Biotech S.L. Centro Europeo de Empresas e Innovación (Edificio BIC) Avenida de la Innovación, 1. 18016 Armilla (Granada).

E-mail: miguelrg@correo.ugr.es

El género *Psychrobacillus*¹ está compuesto por cuatro especies de bacterias Gram positivas, formadoras de endosporas y psicrótrofas, con rangos de temperatura de crecimiento desde -2°C a 40°C. En este estudio se seleccionaron dos cepas de bacilos, relacionadas taxonómicamente con este género, procedentes del análisis microbiológico de las heces de un zorro rojo (*Vulpes vulpes*) que vive en el Parque Nacional de las Tablas de Daimiel alimentándose de cangrejos, crustáceos con un caparazón rico en quitina.

Las cepas se sometieron a un *screening* de pruebas bioquímicas y metabólicas relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal², como producción de sideróforos, ACC desaminasa, fijación de nitrógeno, presencia de fosfatasas, quitinasa, proteasas, lipasas, celulasas y amilasas. Se evaluó también la actividad desnitrificante, así como la producción de surfactantes y de exopolisacárido (EPS). Ambas cepas son prometedoras por sus características relacionadas con la actividad fitoestimulante. Actualmente continuamos con el análisis de los surfactantes y del EPS producido por la cepa Z8. Así mismo, se está realizando un análisis taxonómico más profundo puesto que ambos microorganismos tienen porcentajes de identidad del gen ARNr 16S en torno al 98% con la especie del género *Psychrobacillus*.

Bibliografía:

¹Pham V, Jeong S-W, Kim J. 2015. *Psychrobacillus soli* sp. nov., capable of degrading oil, isolated from oil-contaminated soil. *Int J Syst Evol Microbiol* **65**: 3046-3052.

²Parvatha, P. 2014. Plant growth promoting rhizobacteria for horticultural crop protection. Ed. Springer.

Financiación: Máster en Investigación y Avances en Microbiología. 2015. Financiación para el desarrollo de los Trabajos Fin de Máster.

Exploring the microbial and viral diversity in extreme acidic environments

Antonio García Moyano, António Pagarete, Anders Lanzén, Ángeles Aguilera, Elena González Toril, Lise Øvreås

UniResearch Environment. Centro de Astrobiología. Neiker-Teknalia. University of Bergen.

E-mail: antonio.moyano@uib.no

Extreme acidic environments are of great interest, not only because they serve as model systems for understanding the biochemistry and molecular biology required for life at highly acidic conditions, but they also offer a plethora of potential biotechnological applications. We have been studying different acidic drainages, both from natural as well as impacted origin. Namely, Svalbard in the high Arctic, an important coal mining area, as well as the natural-occurring drainages linked to the glacier retreat in the Andes. These two areas offer a unique opportunity for studying the biological control over the weathering of sulphide rocks. Although the extension and impact of acid drainage in some of them are known, the native microbial communities involved in this process are still scarcely studied. Particularly the viral diversity in extreme acidic environments remains vastly unknown. Several abandoned mining areas were explored around Longyearbyen in Svalbard, in the search for active acid drainage and a culture-independent approach for the identification and quantification of the native microbial communities was applied¹. Moreover we have carried out a preliminary characterization of the viral populations from some of these sites. Flow-cytometry analyses show not only the existence of abundant viral populations, but also a significant correlation between them and the pH of the environment where they were collected. These environments appear as a highly interesting field of potential novelty in terms of both phylogenetic/taxonomic and functional diversity.

Bibliografía:

¹ García-Moyano A, Erling-Austnes A, Lanzén A, González-Toril E, Aguilera-Bazán A, Øvreås L. 2015. *Novel and unexpected microbial diversity in acid mine drainage in Salbard (78N), revealed by culture-independe approaches*. *Microorganisms* **3**: 667-694

Financiación: EEA NILS Science and Sustainability, University of Bergen, UniResearch Environment.

ICEth1, a new mobile element of *Thermus thermophilus*

Ignacio Baquedano, Alba Blesa, José Berenguer

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). 28049-Madrid.

E-mail: ibaquedano@cbm.csic.es

Integrative conjugative elements (ICEs) are self-transmissible genetic mobile elements that integrate into the chromosome of its bacterial hosts. They encode the capability to excise from the chromosome under specific metabolic conditions, an origin of transference (*oriT*) and, in many cases, the mobilization genes required for their conjugative transfer to a recipient cell through a type IV secretion system (T4SS)¹.

We observed that the *CptA*² protein required for the DNA donation in transjugation (transformation dependent conjugation) was encoded within a DNA region of the chromosome of *T. thermophilus* HB27 that was absent from its closely related strain HB8. An in depth analysis revealed that the 14Kbp region was flanked by 46 bp direct repeats corresponding to 3' end of isoleucine tRNA and that its G+C content was much lower (59%) than that of the genome (69%). Moreover, the analysis of the genes encoded by this region revealed the presence of a putative site-specific DNA recombinase of the XerC family, suggesting its putative capacity to excise from the chromosome. To demonstrate this, molecular and biological assays have been carried out showing that the region is able to excise from the chromosome leading to an apparently non-replicative circular form. Transfer of the whole element and specific integration are being checked.

References

¹Bellanger X, Payot S, Leblond-Bourget N, Guédon G. 2004. Conjugative and mobilizable genomic islands in bacteria: evolution and diversity. *FEMS Microbiol Reviews* **38**: 720-760

²Blesa Esteban A. 2016. Horizontal gene transfer in *Thermus thermophilus*: mechanisms and barriers. PhD. Universidad Autónoma de Madrid

Funding: Project BIO2013-44963-R from MINECO and FPI fellowship. Project 324439 from FP7-PEOPLE-2012-IAPP.

Identificación de *small* RNAs implicados en la regulación de la asimilación del nitrato en *Haloferax mediterranei*

Esclapez, J., Bautista, V., Pire, C., Martínez-Espinosa, R.M., Camacho, M., Bonete, M.J.

Dpto. Agroquímica y Bioquímica. Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. España.

E-mail: julia.esclapez@ua.es

La fisiología, bioquímica y regulación de la asimilación del nitrógeno en los dominios *Bacteria* y *Eukarya* se encuentran muy bien descritas; sin embargo, se dispone de poca información sobre esta vía metabólica en el dominio *Archaea*. En los últimos años, *Haloferax mediterranei* se ha utilizado como organismo modelo para estudiar la asimilación de nitrógeno en arqueas, se han purificado y caracterizado las enzimas de dicha vía y más recientemente se han realizado estudios de transcriptómica para analizar la expresión de diferentes genes e identificar posibles reguladores transcripcionales¹.

Con el fin de avanzar en el estudio de la regulación de la asimilación del nitrógeno en arqueas, no sólo a nivel transcripcional sino también a nivel post-transcripcional, se ha realizado un estudio para identificar posibles *small* RNAs (sRNAs) en *Hfx. mediterranei*. Los sRNAs participan en procesos específicos de regulación en los tres Dominios de la vida, están muy bien estudiados en *Bacteria* y *Eukarya* pero no así en *Archaea*. En este trabajo se describen los resultados preliminares obtenidos, en los cuales se han conseguido identificar 116 posibles secuencias correspondientes a sRNAs en *Hfx. mediterranei*, algunas de las cuales además muestran diferentes patrones de expresión en función de la fuente de nitrógeno utilizada por el microorganismo.

Bibliografía:

¹Esclapez, J., Pire, C., Camacho, M., Bautista, V., Martínez-Espinosa, R. M., Zafrilla, B., Vegara, A., Alcaraz, L.A., Bonete, M.J. 2015. *Transcriptional profiles of Haloferax mediterranei based on nitrogen availability*. Journal of Biotechnology **193**: 100- 107.

Financiación: Proyecto BIO-2013-42921-P de MINECO y Fondos FEDER de la Unión Europea.

Mutante de delección de glutamina sintetasa en *Haloferax mediterranei*: optimización del método y caracterización

Payá, G., Bautista, V., Vegara A., Esclapez, J., Camacho, M., Pire, C., Martínez-Espinosa, R.M., Bonete, M.J.

Dpto. Agroquímica y Bioquímica. Área de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. España.

E-mail: gpc12@alu.ua

Haloferax mediterranei se ha empleado como organismo modelo en numerosos estudios relacionados con la comprensión del ciclo del nitrógeno. A pesar de que este ciclo ha sido estudiado y sigue estudiándose ampliamente en el dominio *Bacteria*, los datos disponibles en *Archaea* son muy escasos. La asimilación de nitrato, llevada a cabo por gran diversidad de especies, es uno de los principales procesos implicados. Este proceso consiste en la síntesis de amonio, a partir de nitrato, que se incorporará en los esqueletos de carbono para sintetizar aminoácidos¹.

En este estudio se muestra la optimización del método *pop-in pop-out* para la generación de mutantes de delección en marco y la caracterización de un mutante de delección del gen *glnA* que codifica una glutamina sintetasa (GS). Esta enzima desempeña un papel fundamental en la asimilación de amonio y la síntesis de glutamina. Estudios previos indican que la enzima GS puede ser esencial en *Hfx. mediterranei*, dada la incapacidad de obtener mutantes de delección de la misma mediante el método *pop-in pop-out* habitual². Por otra parte, existen dos ORFs con homología de secuencia a la GS de diferentes organismos, denominados GS1 y GS2³. Si, como parece, GS es una enzima esencial, estos resultados implicarían que las secuencias GS1 y GS2 no codificarían enzimas con función homóloga a GS.

Cabe destacar que *Hfx. mediterranei* es un microorganismo poliploide, en el que el número de copias del cromosoma varía en función de la fase de crecimiento. La poliploidia supone una serie de ventajas en haloarqueas, entre las que destacan: la redundancia génica, menor ratio de mutación, resistencia a la radiación y desecación, supervivencia a largo plazo, conversión génica y DNA como polímero de almacenamiento de fosfato⁴. Sin embargo, supone una desventaja para la obtención de mutantes de delección homocigotos, cuya problemática ha sido tratada en el presente trabajo.

Bibliografía:

¹ Bonete, M.J., Martínez-Espinosa, R.M., Pire, C., Zafrilla, B., Richardson, D.J. 2008. *Nitrogen metabolism in haloarchaea*. *Saline system* **4**: 1-12

² Bitan-Banin, G., Ortenberg, R., Mevarech, M. 2003. *Development of a gene knockout system for the halophilic archaeon Haloferax volcanii by use of the pyrE gene*. *Journal of Bacteriology* **185**: 772-778

³ Pedro-Roig, L., Camacho, M., Bonete, M.J. 2013. *Regulation of ammonium assimilation in Haloferax mediterranei: Interaction between glutamine synthetase and two GlnK proteins*. *Biochimica et Biophysica Acta – Proteins and Proteomics* **1834**: 16-23

⁴ Soppa, J. 2013. *Evolutionary advantages of polyploidy in halophilic Archaea*. *Biochemical Society Transactions* **41**: 339-343

Financiación: Proyecto BIO-2013-42921-P de MINECO

Exploring the biocatalytic potential of the recombinant esterase KLEST-3S from *Thermus thermophilus* HB27

Elisa Beneventi¹, Jacobo Cruces¹, Olalla López-López², Isabel González-Siso², Jelena Rajkovic³, Ana Torrado³, María Luisa Rúa³

¹GalChimia, Cebreiro s/n, 15823 O Pino, A Coruña. ²Universidade da Coruña, Grupo EXPRELA, Facultade de Ciencias, Zapateira, 15071 A Coruña. ³Grupo de Bioquímica, Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Universidad de Vigo, As Lagoas, 32004 Ourense.

E-mail: elisa.beneventi@galchimia.com

Esterases are hydrolytic enzymes able to catalyze not only the hydrolysis of triacylglycerides in aqueous solutions but also selective reactions in organic media and those that are stable in organic solvents could be very useful for biocatalytic applications. Moreover, esterases from extremophilic organisms can provide special feature making them potential biocatalysts used under harsh conditions for many industrial applications.

KLEST-3S is a N-terminally truncated variant of the 34-KDa membrane-associate esterase (E34Tt) from the thermophilic microorganism *Thermus thermophilus* HB27 successfully produced in the mesophilic yeast *Kluyveromyces lactis* (Fuciños et al 2011). Optimal conditions for activity and stability for temperature and pH were found to be 47,5 °C and pH 7,5 derived from response surface model (RSM).

In the present work KLEST-3S catalyzed acetylation and hydrolysis reactions were performed in order to investigate its enzymatic biocatalytic potential. A wide range of substrate was examined as well as other important factors such as solvent tolerance, water content, temperature and pH.

Bibliografía:

Fuciños P, Pastrana L, Sanromán A, Longo M, Hermoso J, Rúa M. An esterase from *Thermus thermophilus* HB27 with hyper-thermoalkalophilic properties: Purification, characterisation and structural modelling. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*; 2011 vol: 70 (3-4) pp: 127-137

Financiación: HotDrops (FP7-PEOPLE-2012-IAPP, project number: 324439)

Actividad insecticida de cepas bacterianas aisladas de medios hipersalinos

Marín, A¹., Fernández, L²., Torres, M¹., Campos, M²., Béjar, V¹.

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada. Instituto de Biotecnología. Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (Granada). ²Departamento de Protección Ambiental. Estación Experimental del Zaidín – CSIC. Granada

E-mail: anamarin@correo.ugr.es

Los pulgones constituyen una de las plagas más importantes en agricultura estando su control basado principalmente en pesticidas químicos, por lo que es interesante el estudio de alternativas basadas en el control microbiológico. El género *Bacillus* incluye especies con actividad insecticida debido a la producción de surfactantes, toxinas y/o enzimas, como las proteasas y quitinasas^{1,2}. En este trabajo se estudia la actividad insecticida frente a *Rhopalosiphum padi* (pulgón de la cebada) de seis cepas seleccionadas de la colección del grupo BIO 188 de la Universidad de Granada por la producción de surfactante y por su actividad proteolítica y quitinolítica.

Las cepas se caracterizaron taxonómicamente por pruebas fenotípicas y genotípicas. Pertenecen a los géneros *Bacillus* e *Isoptericola*. Dos de las cepas, L9 y la L181, son nuevas taxa relacionados con el género *Bacillus*, presentando porcentajes de identidad del 94 y 96%, respectivamente, con especies válidamente descritas en este género. Las cepas Mal 62 y L193 pertenecientes a *B. atrophaeus* presentaron la mayor actividad insecticida frente a *R. padi*, produciendo una mortalidad, estadísticamente significativa, superior a la del control. En la cepa L193 dicha actividad insecticida está relacionada con la producción de surfactantes, mientras que en la cepa Mal 62 intervienen además otros factores, probablemente las proteasas y quitinasas.

Bibliografía:

¹Pacwa-Plociniczak, M, Plaza, GA, Piotrowska-Seget Z, Cameotra SS. 2011. *Environmental applications of biosurfactants: Recent advances*. Int J Mol Sci 12:633–654.

²Támez P, Iracheta M, Pereira B, Galán L, Gómez R, Támez R, Rodríguez C. 2005. *Caracterización de cepas mexicanas de Bacillus thuringiensis tóxicas para larvas de lepidópteros y coleópteros*. Ciencia UANL 8: 477-482.

Financiación: Máster en Investigación y Avances en Microbiología. 2016. Financiación para el desarrollo de los Trabajos Fin de Máster.

Diversidad de microorganismos halófilos propios de la comunidad endófito de propágulos de mangle

Sara Díaz Moyá, Merit del Rocío Mora Ruíz, Mercedes Urdiain Asensio, Ramon Rosselló-Móra

Grupo Microbiología Marina (MMG), Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA – CSIC- UIB)

E-mail: sdiaz@imedea.uib-csic.es

Los manglares constituyen ecosistemas caracterizados por una inundación intermitente que genera episodios temporales de anoxia. Éstos, junto con la salinidad moderada propia del ambiente, condicionan la aparición de grupos microbianos microaerófilos y anaerobios facultativos y/o halotolerantes y halófilos moderados en los sedimentos y aguas. Dentro de las diferentes especies de mangles, el género *Avicennia* es aquel con mayor resistencia a la salinidad y en el presente trabajo se ha explorado la diversidad microbiana halófila y mesohalófila de microorganismos endófitos en propágulos del mangle negro *Avicennia germinans* con origen en la reserva de La Cigüeña, en el municipio de Tapachula, Chiapas. Los estudios se realizaron mediante técnicas dependientes e independientes de cultivo. Para ello, se aislaron un total de 720 cepas procedentes de 8 propágulos que se fenotiparon mediante el uso de whole cell MALDI-TOF MS en tandem con su identificación por secuenciación y análisis del gen ARNr 16S. De forma paralela se amplificó y secuenció por 454 el mismo gen para revelar la presencia endófito de microorganismos.

La diversidad dependiente e independiente de cultivo no se correspondió, no obstante ambos enfoques mostraron que las muestras estaban colonizadas por microorganismos halófilos moderados. Dentro de la fracción no cultivable destacaron como grupos mayoritarios organismos pertenecientes a la familia *Halomonadaceae* (*Kushneria* sp., *Salinicola* sp., *Larsenimonas* sp.), de la que se identificaron un potencial género y una potencial especie nuevos. Sin embargo, entre los cultivables los halófilos moderados fueron minoría (tales como *Paracoccus marinus*), mientras que los más abundantes fueron especialmente miembros del género *Kocuria*. Finalmente, *Kushneria avicenniae* destacó, por su abundancia en amplicones, como organismo más dominante de la comunidad endófito de los propágulos objeto de estudio.

Financiación: Proyecto CGL2012-39627-C03-03 y CGL2015_66686-C3-1-P del Ministerio de Economía de España.

Sistemas de inhibición de la comunicación celular tipo quorum sensing presentes en la microbiota de animales pertenecientes a los filos *Cnidaria* y *Echinodermata*

José Carlos Reina^{1,2}, Elisabeth León-Palmero³, Isabel Reche³, Emilia Quesada^{1,2}, Inmaculada Llamas^{1,2}

¹Universidad de Granada, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología, Granada, España. ²Universidad de Granada, Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM), Granada, España. ³Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Ecología, Granada, España.

E-mail: josecarlosreina@correo.ugr.es

La incipiente relevancia de la acuicultura se está viendo afectada por la incidencia cada vez mayor de las infecciones producidas por bacterias que afectan a la misma. Además, el incremento de la aparición de resistencias a los antimicrobianos hace que sea imprescindible la búsqueda de nuevos tratamientos. Una de las estrategias en las que se está investigando en los últimos años se centra en la interrupción de los sistemas de comunicación celular quorum sensing (QS) ya que se ha demostrado que controlan la expresión de muchos de los factores de virulencia en las bacterias que provocan estas infecciones^{1,2}.

Los animales invertebrados marinos pertenecientes a los filos *Cnidaria* y *Echinodermata*, entre los que se encuentran holoturias y anémonas, ya se están produciendo mediante acuicultura y constituyen holobiontes que contienen bacterias simbióticas productoras de metabolitos secundarios, en los que la capacidad de inhibición de los sistemas QS no se ha estudiado hasta la fecha.

En este trabajo se presenta un análisis de la capacidad de inhibición de los sistemas QS de una colección de 856 bacterias aisladas de la microbiota de animales invertebrados marinos pertenecientes a diferentes especies de anémonas y holoturias, para su potencial uso en el control de las enfermedades en acuicultura. Entre ellas, se han seleccionado 31 cepas capaces de inhibir el sistema QS del biosensor *Chromobacterium violaceum*. En 6 de ellas se ha identificado que el mecanismo de inhibición es enzimático, lo que se conoce como quorum quenching. Una aproximación taxonómica basada en el análisis de la secuencia de una región parcial del gen ribosomal 16S indica que los géneros *Vibrio* y *Stenotrophomonas* son los más representados entre las cepas seleccionadas este estudio.

Bibliografía:

¹Natrah F.M., Defoirdt T, Sorgeloos P. y Bossier P. 2011. Disruption of bacterial cell-to-cell communication by marine organisms and its relevance to aquaculture. *Mar Biotechnol* (NY). **13**: 109-126.

²Torres M., Romero M., Prado S., Dubert J., Tahrioui A., Otero A. y Llamas I. 2013 N-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from hatchery bivalve larval cultures. *Microbiol Res.* **168**: 547-554.

Financiación: Proyectos CEI 2014-PBS46 y AGL2015-68806-R.

Expresión de *Haloquadratum walsbyi*

Ana-Belen Martin-Cuadrado, Riccardo Rosselli, Mario López-Pérez, Henk Bolhuis, Francisco Rodriguez-Valera

Universidad Miguel Hernández. Evolutionary Genomics Group (EGG). Campus de San Juan. Edificio Muhammad Al-shafra. Microbiología. 03550. San Juan de Alicante. Alicante.

E-mail: amartin@umh.es

La archaea *Haloquadratum walsbyi* es uno de los componentes mayoritarios de la comunidad procariota de muchas salinas solares, donde puede suponer hasta el 80% del total de las células. Se han secuenciado dos muestras de RNAseq de la biomasa recogida en el cristalizador CR30 de la salina de Santa Pola (Alicante), la primera de ellas en Enero 2012 y la segunda en Julio 2014. En paralelo, se obtuvo el transcriptoma de la cepa *H. walsbyi* HSBQ001 (aislada en el 2002 en el mismo cristalizador), creciendo en dos condiciones de iluminación diferentes.

El análisis de los transcritos de la cepa creciendo en el laboratorio mostraron que no existen diferencias de expresión entre crecimiento en oscuridad y con luz. Los dos genes que más se expresan en estas condiciones son para dos glicoproteínas situadas en la isla genómica IG1, la “capa S” y una adyacente a esta que participa también en la envoltura celular. Además, se encontraron altamente expresados genes para una superóxido dismutasa, la proteína implicada en división celular FtsZ, el factor de elongación 1-alpha, genes del cluster de síntesis de vesículas de gas, y para una de las dos rodopsinas existentes, Squarebop I. Se analizaron también espaciadores intergénicos altamente expresados donde, además de repeticiones, se han encontrado posibles sRNA reguladores. Tomando como referencia la cepa HSBQ001, se calcularon los transcritos correspondientes en ambos metatranscriptomas y se compararon con los datos del transcriptoma. Notoriamente, tanto la expresión de las dos glicoproteínas anteriores como la expresión de Squarebop I, disminuyó a niveles basales. En su lugar, se encontraron genes altamente expresados para transportadores ABC implicados en el ensamblaje del cluster Fe-S y genes de la familia CopG/RHH de unión a DNA.

Los resultados preliminares muestran diferencias significativas de expresión entre un cultivo puro de *H. walsbyi* creciendo en el laboratorio y en la comunidad del cristalizador. La disminución de expresión de genes tan importantes como los que codifican la envoltura celular puede ser el producto de dilución de cada uno de los diferentes linajes clonales existentes de *H. walsbyi* en la comunidad, indicando por tanto la especificidad de linaje.

Nuevas estrategias para mejorar la asignación de virus a hospedadores: el caso de *Haloquadratum*

Judith Villamor¹, Fernando Santos¹, Loles Ramos¹, Pepa Antón¹

¹*Dpto Fisiología, Genética y Microbiología. Universidad de Alicante*

E-mail: juditvillamor@ua.es

En los ambientes hipersalinos, generalmente dominados por arqueas halófilas extremas, *Haloquadratum walsbyi* es uno de los organismos más abundantes. A pesar de haber sido aislado, su crecimiento en laboratorio resulta complicado por lo que para identificar virus que la infecten son necesarios métodos indirectos (Santos *et al.*, 2012)¹ como el %GC, la frecuencia de uso de di- o tetranucleótidos o la búsqueda de secuencias CRISPR (García-Heredia *et al.*, 2012)².

Una posible estrategia para mejorar la asignación de virus no cultivados a sus hospedadores es incubar una muestra ambiental con un cultivo del hospedador aumentando así la proporción de virus de dicho cultivo presentes en la muestra. En esta comunicación presentamos los resultados de la aplicación de esta estrategia al estudio de los virus que infectan *Hq. walsbyi*

En una muestra del cristalizador CR30 tomada en febrero de 2014 (Bras del Port, Santa Pola, Alicante) se realizó una incubación con un cultivo de *Hq. walsbyi* (concretamente, las cepas C23 y HBSQ001) tras la cual se observó por TEM una proporción de morfologías víricas distinta a la de la muestra natural y a los controles. Se extrajo y secuenció el DNA de la muestra natural (MN) y de la muestra incubada (iHq). Del metaviroma de iHq se ensamblaron 23 contigs de más de 5Kb con un %GC inferior al 50% y con una frecuencia de tetranucleótidos cercana a *Hq. walsbyi*. El reclutamiento de estos contigs aumentó tras la incubación; en cambio, los contigs conteniendo terminasas (posibles Caudovirales) ensamblados de MN se vieron notablemente reducidos tras la inducción. Además una hibridación de iHq contra un microarray de una muestra de CR30 de 2011 (Santos *et al.*, 2011)³ dio resultados positivos con 27 de los fósmidos clonados. Una vez analizados se vio que dichos fósmidos contienen genomas de bajo %GC y secuencias similares a virus ambientales asignados tentativamente a *Hq. walsbyi*.

Bibliografía:

¹Santos F, Yarza P, Parro V, Meseguer I, Rosselló-Móra R, Antón J. (2012). Culture-independent approaches for studying viruses from hypersaline environments. *Appl Environ Microbiol* **78**:1635–43.

²García-Heredia I, Martín-Cuadrado A-B, Mojica FJM, Santos F, Mira A, Antón J, *et al.* (2012). Reconstructing viral genomes from the environment using fosmid clones: the case of haloviruses. *PLoS One* **7**:e33802.

³Santos F, Moreno-Paz M, Meseguer I, López C, Rosselló-Mora R, Parro V, *et al.* (2011). Metatranscriptomic analysis of extremely halophilic viral communities. *ISME J* **5**:1621–33.

Financiación: Proyectos CGL2012-39627-C03-01 y CGL2015-66686-C3-3-P del MINECO.

Biom mineralización en condiciones extremas

Monike Oggerin¹, Nuria Rodríguez², Ricardo Amils^{1,2}

¹Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM). Campus UAM, Nicolás Cabrera 1, 28049 Madrid. ²Centro de Astrobiología (CSIC-INTA), Ctra. de Ajalvir a Torrejón km 4, Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid.

E-mail: moggerin@cbm.csic.es

Un ambiente como Río Tinto, considerado como el mayor ecosistema natural extremo ácido en la Tierra, con una elevada concentración de metales pesados en solución gracias a su pH extremo ácido a lo largo de su cauce (pH 2.8 de media)¹, podría resultar el escenario ideal para procesos de biom mineralización.

Pero, ¿qué es la biom mineralización?. Es lo que se conoce como formación de minerales por parte de los organismos, y los microorganismos están involucrados activamente en los ciclos biogeoquímicos a través de la formación y la descomposición de minerales². Dentro de este concepto se distinguen dos modelos bien definidos, el conocido como biom mineralización biológicamente controlada (BCM), y el proceso de biom mineralización biológicamente inducida (BIM)³, dependiendo del grado de control que el organismo ejerce sobre la nucleación, composición, localización y crecimiento de los minerales, como ocurre en el caso de la BCM⁴, y solo podrá ser llevada a cabo por células vivas y activas. Mientras que en el caso de una biom mineralización inducida, ésta tiene lugar cuando el organismo modifica microambientes localmente como resultado de su actividad metabólica, o por la mera existencia de paredes celulares, sustancias poliméricas extracelulares (EPS) e incluso esporas, promoviendo la nucleación de minerales y su crecimiento³ mediante interacciones electrostáticas, de forma que las células no tienen por qué ser viables⁵ (Ferris et al 1988).

Atendiendo a lo anterior, ¿qué situaciones nos encontramos en Río Tinto?, y sobre todo, ¿qué microorganismos están involucrados mayoritariamente?

Bibliografía:

¹Amils, R, González-Toril, E, Fernández-Remolar, D, Gómez, F, Rodríguez, N, Durán, C. 2002. *Interaction of the sulfur and iron cycles in the Tinto River ecosystem*. Rev Environ Sci Biotechnol: **1**, 299–309

²Gadd, GM. 2010. *Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation*. Microbiol **156**: 609-643

³Lowenstam HA. 1981. *Minerals formed by organisms*. Science **211**:1126-113

⁴Mann, S. 1988. *Molecular recognition in biom mineralization*. Nature **332**: 119-12

⁵Ferris, FG, Fyfe, WS, Beveridge, TJ. 1988. *Metallic ion binding by Bacillus subtilis: Implications for the fossilization of microorganisms*. Geology **16**: 149–152

Financiación: European research project ERC-250350/IPBSL

Diversidad procariota de tapetes microbianos, evaporitas y concreciones asociadas a rizomas de la Laguna Tebenquiche en el Salar de Atacama, Chile

Ana Beatriz Fernández¹, María Cecilia Rasuk¹, Manuel Contreras², Fernando Novoa², Daniel Poiré³, Pieter T. Visscher^{4, 5}, Antonio Ventosa⁶, María Eugenia Farías¹

¹PROIMI-CONICET, Argentina; ²Centro de Ecología Aplicada, Chile; ³UNLP-CONICET, Argentina; ⁴University of Connecticut, USA; ⁵University of New South Wales, Australia; ⁶Universidad de Sevilla, España

E-mail: anabfg82@gmail.com

El Salar de Atacama es un enorme sistema evaporítico formado por un gran número de lagunas hipersalinas que se localiza en la Puna Andina en el norte de Chile. La Laguna Tebenquiche es una de las más grandes de este ecosistema y los microorganismos que la habitan están sometidos a condiciones ambientales severas como alta radiación solar debido a una baja presión barométrica por la altura, extremas fluctuaciones diarias de temperatura, cambios notables en la salinidad debidos a la evaporación neta, concentraciones de metales pesados y metaloides en el agua debido a eventos volcánicos, entre otras. Por esta razón, se decidió analizar la diversidad procariota de distintos ecosistemas asociados a minerales por pirosecuenciación de la región hipervariable V4 del gen ARNr 16S. Se extrajo ADN metagenómico de muestras de dos tapetes microbianos (MA1 y MA2), dos concreciones asociadas a rizomas (RAC1 y RAC2) y una endoevaporita (EVD). Mediante pirosecuenciación se amplificó la región hipervariable V4 del gen ARNr 16S del ADN metagenómico y los amplicones de ARNr 16S obtenidos se analizaron utilizando el software QIIME. *Euryarchaeota* fue uno de los phyla más abundante en todas las muestras estudiadas, especialmente en EVD que estuvo representado por un 97% de las secuencias de ARNr 16S. La mayoría de los OTUs de *Euryarchaeota* se clasificaron dentro de la clase *Halobacteria* o como arqueas anaeróbicas metanógenas. Esto sugiere que un importante papel de heterotrofia (an)aeróbica y potencialmente metanogénesis se lleva a cabo por representantes del phylum *Euryarchaeota* en estos ecosistemas. También probablemente *Planctomycetes* juega un papel clave en tapetes microbianos y concreciones asociadas a rizomas, particularmente miembros organoheterotrofos aeróbicos de la clase *Phycisphaerae*. Además de la producción primaria cianobacteriana, la fotosíntesis anoxigénica realizada por miembros de *Chromatiales* y posiblemente *Chloroflexi* y la familia candidata *Chlorotrichaceae* pudieron estar contribuyendo a la fijación de CO₂. Algunos de los miembros del phylum *Proteobacteria* pudieron estar llevando a cabo la reducción de sulfato y del phylum no cultivable *Acetothermia* contribuir a la fijación de CO₂ a través de la vía reductiva del acetyl-CoA.

Financiación: Subvencionado por la Sociedad Química y Minera de Chile, por el Centro de Ecología Aplicada y el proyecto # OCE1052974 de NSF.

Utilización de técnicas de hibridación *in situ* para el estudio de biopelículas del subsuelo de la FPI

Cristina Escudero¹, Monike Oggerin¹ y Ricardo Amils^{1,2}

¹Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. España. ²Centro de Astrobiología (CSIC-INTA), Ctra de Ajalvir km 4, Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid. España.

E-mail: cescudero@cbm.csic.es

Las comunidades naturales microbianas se caracterizan por la coexistencia de una o más especies de microorganismos en matrices compuestas por sustancias poliméricas extracelulares (EPS) denominadas biopelículas. Esta estructura crea un microambiente ideal en el cual los microorganismos pueden sobrevivir y crecer aunque las condiciones externas sean adversas¹.

El subsuelo es considerado como un ambiente extremo caracterizado por una continua oscuridad, anaerobiosis y oligotrofia donde la vida se limita a procesos anaerobios de baja energía que, en un principio, debe ser mantenida por la geoquímica mineral del sistema. Por tanto, se cree que los microorganismos presentan una tasa de metabolismo muy bajo o permanecen en un estado metabólico latente y, consecuentemente, que en el subsuelo no se producen biopelículas debido al coste energético que supone².

IPBSL es un proyecto de perforación dedicado a la caracterización del ecosistema del subsuelo de la Faja Pirítica Ibérica (FPI), responsable de las condiciones extremas de acidez de la cuenca del Río Tinto³ (<http://auditore.cab.inta-csic.es/ipbsl/>). Mediante el uso de técnicas de hibridación *in situ* fluorescente, que permiten la identificación de microorganismos debido al uso de sondas específicas así como el estudio de sus interacciones mediante dobles hibridaciones, se ha demostrado la presencia de una gran diversidad de microorganismos activos en este sistema. Además, mediante el uso de lectinas fluorescentes, hemos podido comprobar que estos microorganismos conviven en biopelículas mixtas en el subsuelo, a pesar del coste energético que supone, creando así un microambiente ideal para los mismos.

Bibliografía:

¹Costerton, J.W. and Lewandowski, Z. 1995. *Microbial Biofilms*. Annual Reviews in Microbiology, **49**, 1: 711-745

² Hoehler, T. M. 2004. *Biological energy requirements as quantitative boundary conditions for life in the subsurface*. Geobiology, **2**, 4: 205-215

³ Gómez-Ortiz, D., Fernández-Remolar, D. C., Granda, Á., Quesada, C., Granda, T., Prieto-Ballesteros, O., Molina, A., and Amils, R. 2014. *Identification of the subsurface sulfide bodies responsible for acidity in Río Tinto source water, Spain*. Earth and Planetary Science Letters, **391**: 36-41

Financiación: Proyecto ERC 250-350

Origen de los líquenes antárticos: aproximación mediante el estudio filogeográfico del hongo liquenizado *Mastodia tessellata* y su fotobionte, *Prasiola* (*Trebouxiophyceae*)

Isaac Garrido-Benavent¹, Sergio Pérez-Ortega², Fernando Fernández-Mendoza³ y Asunción de los Ríos¹

¹Depto. Biogeoquímica y Ecología Microbiana, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). C/ Serrano 115 bis. 28002 Madrid. España. ² Real Jardín Botánico (CSIC), Plaza Murillo 2, 28014 Madrid. España. ³ Institute of Plant Sciences, Karl-Franzens-Universität, A-8010, Graz. Austria.

E-mail: igbenavent@mncn.csic.es

Los líquenes constituyen el componente más conspicuo de la biota antártica. Alrededor de un 40% de las cerca de 500 especies conocidas¹ presenta una distribución geográfica bipolar. Dicha distribución disyunta fue entendida por algunos autores como resultado de dispersión a larga distancia², aunque todavía existe un debate sobre si estas especies bien se originaron en la Antártida o llegaron a ella en determinados periodos históricos favorables. El líquen *Mastodia tessellata* (*Verrucariaceae*) constituye un ejemplo paradigmático de organismo con distribución bipolar³, con poblaciones conocidas en la costa noroeste de Norte América en el Hemisferio Norte, y en las costas de Tierra del Fuego, Antártida, Tasmania y Nueva Zelanda en el Hemisferio Sur. En base a estudios de genética de poblaciones pretendemos comprobar la hipótesis de un origen antártico para los dos componentes de este líquen, hongo y alga, así como determinar qué procesos históricos pudieron ser responsables de su distribución geográfica actual.

Se obtuvieron datos genéticos de tres marcadores moleculares para el hongo (*nrITS*, *EFA* y *mcm7*) y cuatro para el alga (*nrITS*, *rbcL*, *RPL10A* y *tufA*) a partir de más de 250 individuos provenientes de 16 poblaciones de ambos hemisferios. Los análisis de estos datos incluyeron la inferencia de clústeres genéticos en base a modelos de *mixture* y *admixture*, la exploración de las relaciones genealógicas entre haplotipos, la estimación temporal de divergencia entre clados, y la evaluación de distintos modelos de migración bajo un marco Bayesiano.

Los resultados sugieren que la evolución tanto en el espacio como en el tiempo de ambos componentes del líquen *Mastodia tessellata* sería consecuencia de un evento de vicariancia seguido de un evento de dispersión a larga distancia que tuvieron lugar entre el Mioceno y el Pleistoceno. La coincidencia entre los resultados del hongo y del alga hacen suponer que la dispersión fue conjunta, a través de fragmentos de talo liquénico probablemente adheridos a las extremidades y/o plumas de aves migratorias.

Bibliografía:

¹ Øvstedal, DO and RI. Lewis-Smith. 2001. *Lichens of Antarctica and South Georgia: A Guide to their Identification and Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge. ²Raven, PH. 1963. *Amphitropical relationships in the Floras of the North and South America*. The Quarterly Review of Biology **38**:151-177. ³Kohlmeyer, J., Hawksworth, DL. and B. Volkmann-Kohlmeyer. 2004. *Observations on two marine and maritime "borderline" lichens: Mastodia tessellata and Collemopsis pelvetiae*. Mycological Progress **3**:51-56.

Financiación: Proyecto de MINECO CTM2012-38222-C02-02.

Cambios en la estructura de comunidades microbianas mediadas por presiones ambientales controladas

Tomeu Viver¹, Luis Orellana², Sara Díaz¹, Mercedes Urdiain¹, Rudolf Amann³, Josefa Antón⁴, Kostantinos T. Konstantinidis², Ramon Rosselló-Móra¹

¹*Grupo Microbiología Marina (MMG), Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA – CSIC- UIB).* ²*School of Biology, Georgia Institute of Technology, Atlanta.* ³*Department of Molecular Ecology, Max Planck Institute.* ⁴*Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante*

E-mail: tviver@imedea.uib-csic.es

El estudio que se presenta consiste en el análisis de los cambios acontecidos en las comunidades microbianas en 5 cristalizadores de las Salinas de Levante, localizadas en Es Trenc – Mallorca, consecuencia de la aplicación de una serie de presiones ambientales, controladas en forma de mesocosmos, relacionadas con la dilución de la salmuera, aislamiento del sedimento e intensidad lumínica. El estudio de la comunidad inherente a los cristalizadores se efectuó mediante la realización de muestreos en una serie temporal a lo largo de 2 años. Se aplicaron tanto técnicas clásicas en microbiología como el cultivo y su análisis mediante la espectrometría de masas MALDI-TOF, recuentos por microscopia de fluorescencia CARD-FISH, además de la aplicación de técnicas moleculares como la para evaluar los cambios en la estructura de las comunidades.

La secuenciación de metagenomas en suficiente profundidad permite la separación de secuencias que representan distintos genomas de las distintas poblaciones microbianas (denominados bins). Este enfoque, combinado con la información derivada de los genomas disponibles en las bases de datos permite la discriminación de nuevas poblaciones presentes en los metagenomas. Al someter los cristalizadores a presiones ambientales susceptibles de modificar las características ambientales, también pueden detectarse mediante el análisis de fragmentos de 16S ARNr y “binning” los cambios en la estructura de las comunidades.

Financiación: Proyecto CGL2012-39627-C03-03 y CGL2015_66686-C3-1-P del Ministerio de Economía de España

Diversidad y adaptaciones funcionales de microorganismos litobióticos al ambiente extremo del desierto de Atacama

María Cristina Casero, Octavio Artieda, Petr Vitek, Jocelyne DiRuggiero Carmen Ascaso y Jacek Wierzchos

Grupo de Ecología y Geomicrobiología, Dept. Biogeoquímica y Ecología Microbiana, Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC. C/Serrano 115 dpdo. 28006, Madrid

E-mail: mcristina.casero@mncn.csic.es

Bajo condiciones de extremo déficit hídrico, presentes en los desiertos hiperáridos fríos y cálidos, los ecosistemas microbianos endolíticos, dentro de las rocas, son considerados los últimos refugios ambientales para la vida. Pese a los recientes avances en ecología de las comunidades microbianas endolíticas, la diversidad y adaptaciones funcionales de estas comunidades siguen siendo bastante desconocidas. El sustrato rocoso ofrece protección frente a la radiación ultravioleta incidente, el exceso de radiación solar PAR, los ciclos de congelación-descongelación y aumenta la retención de agua otorgando un espacio físico estable. Las comunidades microbianas endolíticas tienen como base productores primarios fotosintéticos que sustentan la diversidad de microorganismos heterótrofos y pueden observarse en sustratos tan variados como areniscas, granitos, yesos, halitas, calcitas o rocas volcánicas. El desierto de Atacama, en el norte de Chile, es el más árido de la Tierra y como tal, constituye un laboratorio natural idóneo para poder explorar los límites de la vida y las estrategias desarrolladas por los microorganismos para adaptarse a los ambientes de extrema aridez, radiación solar y en algunos casos salinidad. El estudio de la estructura y la biodiversidad de las comunidades microbianas endolíticas abarcado desde el punto de vista micromorfológico y molecular está dando luz a la cuestión de qué factores son los que determinan la composición y el funcionamiento de estas comunidades. El aislamiento y cultivo de los productores primarios de las distintas comunidades está permitiendo la exploración de la maquinaria molecular y los mecanismos fisiológicos que posibilitan la supervivencia de estos microorganismos. La suma de estos conocimientos está facilitando el trabajo en la inducción de la producción de metabolitos secundarios relacionados con esta adaptación al ambiente hiperárido y altamente irradiado del desierto de Atacama. La pregunta sobre las estrategias de adaptación de los microorganismos que forman parte de estas comunidades está en proceso de ser respondida desde muy distintas aproximaciones metodológicas y estrategias de investigación incluyendo variedad de técnicas de microscopía y microanálisis, secuenciación masiva y métodos analíticos espectroscópicos y de cromatografía, de manera que se pueda comprender de una manera completa y multidisciplinar el funcionamiento de estas comunidades microbianas endolíticas.

Financiación: Proyecto CGL2013-42509-P del Ministerio de Economía y Competitividad, convocatoria de 2014

Danakil: El Infierno Sobre la Tierra en Etiopía

Nuria Rodríguez¹, Felipe Gómez¹, Ricardo Amils^{1,2}.

¹*Centro de Astrobiología (INTA-CSIC), E-28850, Torrejón de Ardoz, Madrid, Spain.* ²*Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC), Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, E-28049 Madrid, Spain.*

E-mail: nrodriguez@cbm.uam.es

El lago Dallol en la depresión de Danakil (Etiopía), es uno de los análogos terrestres marcianos en los que se está trabajando actualmente. Esta depresión es un área volcánica que se prolonga desde el volcán Dallol hasta el lago Assal, próximo a la frontera de Etiopía con Eritrea. Allí el magma fluye muy próximo a la superficie y a consecuencia de ello, las aguas filtradas son calentadas hasta casi el punto de ebullición y cuando emergen, lo hacen con grandes cantidades de sales disueltas. Dallol es un paisaje singular que cuenta con todo el tipo de fenómenos que se puede esperar encontrar en una zona de alta actividad geotérmica, como géiseres, fumarolas, etc.

La campaña en este enclave de la Depresión de Danakil se realizó en colaboración con la Universidad de Bolonia (Italia) y el Centro Ibn Battuta (Marruecos). Esta zona del noreste de Etiopía tiene un gran interés astrobiológico, ya que está catalogada como el lugar no habitado más caluroso del planeta. Asimismo, es una de las áreas más inaccesibles de la Tierra.

Las características del lugar donde se desarrolló la campaña evidencian su gran interés científico, dado que las condiciones para la actividad de microorganismos extremófilos son óptimas. Se trata de una zona geológicamente activa debido al volcán Dallol, un cráter volcánico que se formó por la intrusión de magma basáltico en los depósitos de sal del Mioceno. Los surgimientos de aguas térmicas presentan precipitación de diferentes sales que forman estructuras coloridas de gran interés científico y que recuerdan los parajes de Yellowstone. Además, erupciones freáticas ocurridas en 1926 formaron cráteres que se sitúan por debajo del nivel del mar y numerosas fuentes termales están descargando salmuera y líquidos ácidos formando estanques verdes y ácidos (pH inferior a 1), con alta presencia de óxido de hierro y azufre en las llanuras dominadas por la sal.

La búsqueda de señales de existencia de vida microbiana en estas condiciones extremas de acidez, salinidad y temperatura, es uno de nuestros principales objetivos. Se realizó un estudio geomicrobiológico con la determinación de las condiciones ambientales extremas para la vida que se dan en la zona, el análisis de la biodiversidad presente bajo estas condiciones tan extremas y el ensayo de prototipos de análisis meteorológico.

Financiación: Proyecto Europlanet 2020 Research Infrastructure to Felipe Gómez.