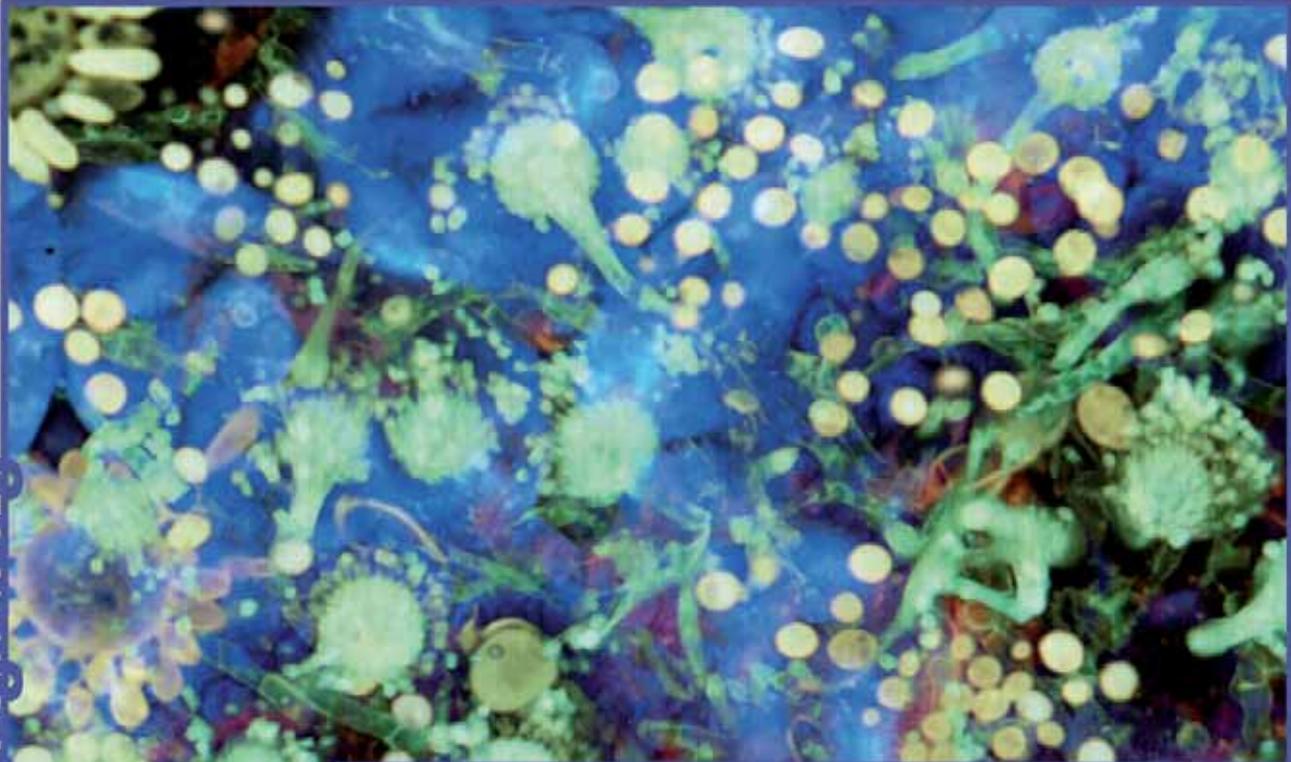


SEM@foro

Revista de la Sociedad Española de Microbiología

JUNIO 2012

N.º 53



**Especial Microbiología
Industrial y Biotecnología
Microbiana**

**Sociedades
hermanas:
CHILE**

Pág. 11

**Lynn Margulis
(1938-2011)**

por Mercè
Piqueras

Pág. 14

Gripe Aviar

por José Manuel
Echevarría

Pág. 26

Junta Directiva de la SEM

Presidente

Ricard Guerrero Moreno

Dpto. Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona.
Avda. Diagonal, 645. 08028 Barcelona.
rguerrero@iec.cat

Vice-Presidente

Francisco García del Portillo

Centro Nacional de Biotecnología. CSIC.
C/Darwin, 3. Campus Universidad Autónoma.
28049 Madrid.
fgportillo@cnb.csic.es

Secretario

Humberto Martín Bréva

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. 28040 Madrid.
humberto@farm.ucm.es

Secretario electo

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC.
C/ Nicolás Cabrera, 1.
Campus Universidad Autónoma. 28049 Madrid.
jayala@cbm.uam.es

Tesorera

Irma Marín Palma

Departamento de Biología Molecular.
Universidad Autónoma de Madrid.
Cantoblanco, 28049 Madrid.
imarina@cbm.uam.es

Editores de publicaciones

International Microbiology

Carlos Pedros-Altó

Centre Mediterrani d'Investigacions Marines i Ambientals (CMIMA). CSIC. Passeig Marítim de la Barceloneta, 37-49.
E-08003 Barcelona.

SEM@foro

Victor Jiménez Cid

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. 28040 Madrid. vicjcid@farm.ucm.es

NoticiaSEM

Emilia Quesada Arroquia

Dpto. Microbiología Molecular Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC.
C/Ramiro de Maeztu, 9. 28040 Madrid.
rgiraldo@cib.csic.es

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Esperanza Garay Auban

Dpto. Microbiología y Ecología.
Edificio de Investigación. C/ Doctor Moliner, 50, 46100 Burjassot (Valencia). esperanza.garay@uv.es

Responsable Cursos de Formación Continua on-line

Diego Alejandro Moreno Gómez

Dpto. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales.
ETS Ingenieros Industriales.
Universidad Politécnica de Madrid.
José Gutiérrez Abascal, 2. E-28006 Madrid.

Vocales

Jordi Barbé García

Dpto. Genética y Microbiología.
Facultad de Biociencias.
Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra,
08290 - Barcelona. Jordi.Barbe@uab.cat

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia. 15706 Santiago de Compostela. (A Coruña). mpromald@usc.es

Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia. Campus de Cartuja,
18071 Granada.
equesada@ugres

Joaquín Moreno Casco

Dpto. Biología Aplicada. E.P.S.
Universidad de Almería.
04120 La Cañada de San Urbano. Almería.
jcasco@ual.es

Diego A. Moreno Gómez

Dpto. Ing. CC. Materiales. E.T.S.
Ingenieros Industriales. UPM.
C/ José Gutiérrez Abascal, 2. 28006 Madrid.
diego.moreno@upm.es

David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria.
ITACYL. Carretera de Burgos, Km.119
47071 Valladolid.
ita-rodiazda@itacyl.es

Presidentes de Grupos

Biodeterioro y Biodegradación

Aurora de los Ríos Murillo

Instituto de Recursos Naturales.
Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC.
Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid.
arios@ccma.csic.es

Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

Amparo Querol Simón

Departamento de Biotecnología de los Alimentos.
Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos.-46100 Burjassot, Valencia
aquerol@iata.csic.es

Biología de Microorganismos Patógenos

Ángel Domínguez Olavarri

Departamento de Microbiología y Genética.
Universidad de Salamanca. E-37007 Salamanca.
ado@usal.es

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Tomás González Villa

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia.
15782 Santiago de Compostela.
tomas.gonzalez@usc.es

Microbiología de los Alimentos

Francisco Javier Carballo García

Área de Tecnología de los Alimentos.
Facultad de Ciencias de Ourense.
Campus Universitario, s/n. Universidad de Vigo.
32004 Vigo.
carbatec@uvigo.es

Microbiología Molecular

María Molina Martín

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense de Madrid.
Plaza de Ramón y Cajal s/n.
28040 Madrid.
molmifa@farm.ucm.es

Microbiología del Medio Acuático

Juan José Borrego García

Dpto. Microbiología. Facultad de Ciencias.
Campus Universitario Teatinos.
29071 Málaga.
jjborrego@uma.es

Microbiología de Plantas

Antonio de Vicente Moreno

Dpto. de Microbiología. Facultad de Ciencias. IHSM-UMA-CSIC.
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.
28071 Málaga.
adevicente@uma.es

Protistología

Ana Martín-González

Dpto. Microbiología-III, Facultad de Biología.
Universidad Complutense (UCM).
C/ José Antonio Novales, 2. 28040 Madrid (Spain).
anamartie@bio.ucm.es

Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Antonio Ventosa Uzcero

Dpto. Biología. Área de Microbiología.
Universidad de les Illes Balears.
Crta. Valldemosa, Km. 7,5.
07071 Palma de Mallorca.
ventosa@us.es

Docencia y Difusión de la Microbiología

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genética i de Microbiología.
Universitat Autònoma de Barcelona. E-08193
Cerdanyola del Vallès (Barcelona).
Montserrat.llagostera@uab.es

Grupo de divulgación D+D

Guillermo Quindós, Universidad del País Vasco.
Ignacio López Goñi, Universidad de Navarra.
Alfonso V. Carrascosa, CSIC.
Hortensia Rico, Universidad de Valencia.
Manuel Sánchez Angulo, Universidad Miguel Hernández.
María del Rosario Espuny Gómez, Universidad de Sevilla.
María Teresa Tejedor Junco, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

SEM@foro es una publicación semestral de la **Sociedad Española de Microbiología (SEM)**

Director: **Victor Jiménez Cid**. E-mail: vicjcid@farm.ucm.es

Departamento de Microbiología II. Facultad de Farmacia. Plaza de Ramón y Cajal, s/n. Universidad Complutense. 28040 Madrid.

Editores del Especial Microbiología Industrial: **Jorge Barros Velázquez** y **Tomás González Villa**.

Webmaster de la SEM: **Jordi Urmeneta Masó**. E-mail: jurmeneta@ub.edu

Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. E-08028 Barcelona.

La SEM y el Director no comparten necesariamente las opiniones que puedan aparecer en artículos, informaciones o cartas enviados por los socios, ni se responsabilizan de su veracidad.

ISSN: 2254-4399

Depósito Legal (Actualidad SEM): 36180-1986

Maquetación e Impresión: **Diseño y Control Gráfico, S.L.** Tel.: 91 731 05 13.

E-mail: info.dcg@design2aa.com - www.design-2aa.com

www.semicrobiologia.org/sec/SEM@FORO

SUMARIO

SEM@foro

Anteriormente
Actualidad SEM



Visite la página web
de la SEM:

www.semicrobiologia.org

Encontrará información
actualizada sobre
congresos, reuniones,
cursos y becas

**Socios protectores
de la SEM:**

Francisco Soria Melguizo, S.A.

FRANCISCO
SORIA
MELGUIZO, S.A.

Fundación Medina



VIAJES

El Corte Inglés

Para solicitar más información,
inscripciones o publicidad,
diríjase a la Secretaría de la

**Sociedad Española
de Microbiología**

Vitruvio, 8 - 28006 Madrid
Tel.: 915 613 381
Fax: 915 613 299

secretaria.sem@semicrobiologia.org

Fotografía de la portada

«Estallido Primaveral».

Primer Premio de Fotografía «Federico Uruburu» 2011.

Autora: Maite Corcuera.

Collage de microfotografías procedentes de preparaciones del género *Aspergillus*, captadas con una cámara digital acoplada a un microscopio óptico utilizando distintos aumentos y tratadas con un software implementado en un equipo de análisis de imagen, que evocan sensaciones similares a la eclosión floral al inicio de la primavera. Así el microscopio plasma en nuestra retina un microcosmos fruto de una implosión de vida y naturaleza.

Presentación de la nueva etapa

Luz verde a la Microbiología 2
Víctor J. Cid

Editorial

Microbiología: constancia en la evolución 3
Ricardo Guerrero

Nuestros grupos

Informes de los Grupos Especializados 4

Microrreportajes

Julien Davies recibe en Dublín el premio especial de la SGM 8

Reflexiones sobre la figura de Renato Dulbecco (1914-2012) 9

Vacunas *Made in Spain* 10

Sociedades hermanas

Historia y desarrollo de la Sociedad de Microbiología de Chile 11
Michael Seeger y Mercedes Zaldívar

Artículo especial

Lynn Margulis (1938-2011): *The sense of wonder* 14
Mercè Piqueras

Cursos

XVI Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología 20
Jesús Manuel Cantoral Fernández

X workshop Métodos rápidos en Microbiología alimentaria 23
Josep Yuste

Anuncio destacado

Elecciones para la renovación parcial de la Junta Directiva de la SEM 25

Artículo

Gripe Aviar: La libertad de investigación, a debate 26
José Manuel Echevarría

Número especial «Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana»

Introducción 29

Fundación MEDINA – Investigación en terapias innovadoras a partir
de productos naturales aislados de microorganismos 32

Biotecnología para la biomasa lignocelulósica 36

Degradación de lignocelulosa por estreptomicetos y sus implicaciones
tecnológicas y medioambientales (Grupo BIODEG) 38

Bacterias lácticas del vino y otros alimentos (Grupo BL-URV) 41

Diversidad de actinomicetos y sus aplicaciones biotecnológicas 44

Biotecnología Microbiana para la Industria Agroalimentaria 46

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana (Univ. Santiago) 48

Microbiología Molecular y Biotecnología de Hongos (Univ. Cádiz) 51

Enzimas Microbianas de Aplicación Industrial 53

Microbiología Industrial y Biotecnología Alimentaria (Univ. de Vigo) 55

Microbiología Industrial y Biotecnología (Univ. de León) 57

Biosíntesis de compuestos bioactivos por microorganismos (BIOMIC) 59

Nuestra ciencia

Reseñas de artículos científicos de nuestros socios 61

Tesis doctorales

Resúmenes de tesis doctorales 63

In memoriam

Miguel Sánchez Pérez (1955-2012) 68

Nuevos socios de la SEM 72

www.semicrobiologia.org

Luz verde a la Microbiología

Víctor J. Cid.

Director editorial de SEM@foro



QUERIDOS SOCIOS DE LA SEM

Bienvenidos a **SEM@foro**, una nueva etapa de nuestra revista semestral. Como **Ricardo Guerrero** nos recordaba en su artículo *40 años, 2 medios, 1 mensaje* (NoticiasSEM, nº 51, marzo 2012) y en la Editorial de este número, sin ir más lejos, el ancestro de esta publicación nació de la iniciativa de **Julio Rodríguez Villanueva** y **Federico Uruburu** en 1972, con el título *Boletín Informativo de la Sociedad Española de Microbiología*. Quien escribe estas líneas entonces no sabía lo que era un microbio. Es más, en 1972 yo era un «microbio», empleando el término en sentido figurado, si la comunidad microbiológica me admite la licencia (me preocupa especialmente nuestro Presidente, que es un celoso guardián del uso apropiado del lenguaje, sobre todo en lo que a microbios se refiere). Por lo visto, esta publicación primigenia, una vez mecanografiada cuidadosamente, era reproducida mediante un ciclostil, también conocido como multicopista, mimeógrafo o polígrafo. A hombros de tales gigantes con tan rudimentarios medios, la publicación ha pasado por varias manos a lo largo de 40 años y, paulatinamente, se ha ido modernizando. Si no me fallan las fuentes, la primera en tomar el relevo, en 1980 y tras un lapso de varios años, fue **Rosalina Pomés**, a quien sucederían **Josefina Rodríguez de Lecea**, **Rafael Rotger** y **Federico Navarro**. La SEM ha crecido, los tiempos han cambiado, y con ella su boletín. **SEM@foro**, el título de la publicación en esta nueva etapa ha sido sugerido por el propio Ricardo Guerrero y su equipo. Reciba mi especial agradecimiento a **Nicole Skinner**, quien ha contribuido con valiosas ideas para la cabecera y el diseño. Luz verde pues al **SEM@foro**.

¿Por qué cambiar?, dirán los conservadores. En términos biológicos se evoluciona para adaptarse a la presión selectiva que ejerce el medio ambiente. Se trata simplemente de una pequeña mutación que esperamos nos resulte ventajosa. Como saben, el título de la revista durante los últimos años ha sido **Actualidad SEM**. Pues bien, ahora la SEM tiene **Facebook** y **Twitter** para estar a la última en cuestión de segundos y, por si eso fuera poco, disponemos de una ya consolidada publicación mensual virtual, **NoticiaSEM**, alumbrada con primor por **Rafael Giraldo** y, a partir del número 50, en las manos amables y no menos primorosas de **Emilia Quesada**. Por tanto, quien desee cono-

cer la «actualidad», en el sentido más estricto del término, preferirá estos medios a una publicación semestral.

Sin embargo, la revista semestral de la SEM, lejos de la extinción ante la aparición de medios de comunicación más adaptados al mundo contemporáneo, sigue siendo necesaria. Debe ocupar un nicho en la jerarquía de la transmisión de la información no necesariamente urgente ni inmediata, el que cubre los aspectos divulgativos de la Microbiología y las actividades que desarrollan las diversas ramas de nuestra Sociedad, a la vez que da voz a los socios que quieran proporcionar una labor informativa a la comunidad o, incluso, a voces ajenas a la SEM que tengan algo que aportarnos. Es el nicho que ocupan las revistas *Microbe* o *Microbiology Today* en la ASM norteamericana o la SGM británica, respectivamente. Con esta ambición, **SEM@foro** incluye nuevas secciones a las que todos estáis invitados o más bien casi moralmente obligados a participar. Artículos de opinión, reseñas de Sociedades Microbiológicas de otros países (en este número inauguramos esta sección con Chile) y una novedad importante, que implica destacar la publicación reciente de algunos artículos científicos producidos por nuestros miembros. Para estas nuevas tareas, las publicaciones de la SEM disponen de la ayuda del **grupo D+D SEM**, que ha constituido un equipo interdisciplinar de trabajo especializado en divulgación científica.

De hecho, **SEM@foro** es un título apropiado, pues el valor de esta publicación, al fin y al cabo, es servir de **Foro** a la SEM, un ágora en la que los microbiólogos españoles e hispanohablantes encuentren un espacio para disertar y compartir su Ciencia, un punto de encuentro entre los jóvenes y los más senior, un soporte para el fomento de la dialéctica y un escaparate para la convivencia de disciplinas y perspectivas muy diversas. Y cuando el tráfico de ideas es denso, hay que poner medios para hacerlo fluido. Esa es la labor de **SEM@foro**, dar paso y prioridad a unos u otros, según demande el momento científico y nuestra comunidad. El **SEM@foro** está abierto... ¡Que circule nuestra Ciencia! Pasen y lean.



Microbiología: constancia en la evolución

Ricardo Guerrero
Presidente de la SEM

Puede parecer un oximorón, «constancia en la evolución». Y recuerda la famosa locución latina atribuida al emperador Augusto: «*Festina lente*» («apresurarse calmadamente»). Constancia en la evolución, andadura lenta para llegar antes al trabajo bien hecho. El camino no ha sido precisamente lento, pero sí largo. La SEM nació en 1946, años antes de que hubieran nacido la inmensa mayoría de las personas que están leyendo estas líneas, bien en papel, bien en la pantalla. Uno de sus objetivos fundacionales fue el de promover y fomentar la investigación y la difusión de los conocimientos sobre los microorganismos. Al año siguiente, para cumplir ese objetivo, publicó su primera revista: *Microbiología Española* (1947-1986)¹, de eso hace sesenta y cinco años. La revista oficial ha continuado hasta hoy, en dos etapas más: *Microbiología SEM* (1985-1997), y la actual, *International Microbiology* (desde 1998), que a los objetivos anteriores ha añadido una dedicación especial a fomentar también el progreso de la microbiología en los países latinoamericanos.

Como hemos contado hace poco en *NoticiaSEM*², en diciembre de 1972, dos destacados socios de la SEM, Julio R. Villanueva, y uno de sus más estrechos colaboradores, Federico Uruburu, pusieron en marcha en la Universidad de Salamanca una empresa que hoy todavía perdura. Consistía en un sencillo boletín de noticias «ciclostilado», el *Boletín informativo de la Sociedad Española de Microbiología*, de 11 páginas, que se enviaba por correo postal a los socios de la SEM, repartidos por toda España. Sus objetivos estaban claramente indicados desde la primera página: servir de vehículo de comunicación entre los microbiólogos españoles y mantenerlos informados de las noticias, reuniones, actividades, etc., de interés para los socios de la SEM, tanto las procedentes de España y de la propia Sociedad, como las que pudieran venir del extranjero. El boletín tuvo ocho números más (hasta mayo de 1975), que fueron preparados y enviados siempre por los dos fundadores.

A partir de entonces, otras personas y centros tomaron la antorcha. Para hacer la historia breve, diremos que desde julio de 1980 hasta diciembre de 2011 se han sucedido sin interrupción los directores del boletín, y los centros donde se realizaron. En mayo de 1999 hubo un cambio significativo, en presentación y contenido: el boletín semestral, bajo la dirección de Rafael Rotger, del Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia de la UCM, pasó a llamarse *Actualidad SEM* y tomó la forma que ha llegado hasta nues-

tros días. Métodos distintos, personas y centros diferentes, con el mismo objetivo, la comunicación entre los socios y el fomento de sus actividades. Constancia en la evolución.

A principios del año 2007 se vio la necesidad de implantar un sistema rápido de comunicación, si fuera posible mensual, utilizando la tecnología disponible de Internet. Y, como hicieron sus predecesores, la tarea fue acogida, puesta en práctica y desarrollada con gran entusiasmo y éxito (a pesar de los escasos medios disponibles), por Rafael Giraldo, del Centro de Investigaciones Biológicas-CSIC, de Madrid³. El nuevo boletín electrónico se llamó *NoticiaSEM*. Y continúa hasta hoy, ahora dirigido por Emilia Quesada, de la Universidad de Granada.

Ha llegado un nuevo cambio, una nueva etapa en esa evolución constante. Un nuevo nombre que desde el título anuncia que ofrece un foro de comunicación entre los socios de la SEM, añadiéndole un símbolo ahora universal que refleja la extensión, profundidad y necesidad de la «nueva» —si la comparamos con la historia de la SEM o incluso de este boletín semestral— tecnología⁴. La SEM cuenta ahora con tres publicaciones: la revista oficial internacional, de periodicidad trimestral, que ocupa un lugar destacado entre las revistas científicas españolas indexadas y que ha merecido diversas distinciones; el boletín electrónico mensual, que permite la comunicación rápida e inmediata, y al cual todos los socios debemos enviar noticias e información de actividades próximas; y esta nueva revista semestral que presentará y comentará las actividades de los socios, que será un foro de intercambio de ideas y que espera la colaboración de todos para llegar a ser un vehículo de comunicación destacado entre todos nosotros, y de la propia SEM, con el resto de la comunidad científica española. Y lo haremos *festina lente*, sin prisa pero sin pausa. Es tarea, y compromiso, de todos.

REFERENCIAS

1. Guerrero R, López R (2003) A brief history of the SEM journal(s): staunchly resisting improbability. I. From 1947 to 1997. *Int Microbiol* 6:69-73
2. Guerrero R (2012) 40 años, 2 medios, 1 mensaje. *NoticiaSEM* 50:1-3
3. Giraldo R (2007) Presentación del boletín electrónico mensual. *NoticiaSEM* 1:1
4. Guerrero R (2007) SEM digital: una nueva cultura microbiológica. *Actualidad SEM* 44:1

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



Francisco Javier Carballo.
Presidente.

XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología

El Grupo de Microbiología de los Alimentos tuvo, como ya es habitual, una presencia relevante en el XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología. Se presentaron, con esta temática, un total de 45 comunicaciones de las cuales 8 se expusieron oralmente y las 37 restantes en forma de póster. Fue destacable la elevada calidad científica de todas ellas y lo cuidado de sus presentaciones. La comunicación titulada «Estimación de los criterios de proceso para la inactivación térmica de *Listeria monocytogenes*» de los autores M.J. Serrano, E. Gayán, P. Mañas., I. Álvarez y S. Condón (Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza) recibió el premio a la mejor comunicación de Microbiología de los Alimentos.

El Grupo celebró su asamblea el día 12 de julio. El punto fundamental del orden del día se centró en el debate sobre la temática de las mesas redondas y las actividades a realizar en el próximo Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos que se celebrará, D.m., en Logroño.

El día 12 de julio se celebró el Simposio titulado «Estrategias en Seguridad Alimentaria», moderado por la Prof.^a González Fandos de la Universidad de La Rioja, donde se abordaron los temas más actuales y candentes relacionados con la seguridad alimentaria, desde la perspectiva de científicos, técnicos de la industria alimentaria y miembros de la administración. El simposio contó con una audiencia muy numerosa (en torno a los 150 asistentes) y a su finalización tuvo lugar un interesante debate en el que se profundizó sobre el reto que supone la seguridad alimentaria y sobre la implicación en la misma de consumidores, industrias alimentarias y organismos públicos.

En los prolegómenos del Simposio, se celebró un sencillo y emotivo acto de homenaje a nuestro querido compañero el Prof. Juan Ignacio Reguera Useros (profesor que fue de Microbiología en la Universidad de Burgos), donde brevemente se glosó su figura y se le hizo entrega, por parte del Grupo de Microbiología de los Alimentos, de un pequeño recuerdo a su viuda Doña María Isabel Revilla Giménez.

XVIII Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos

El XVIII Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos tendrá lugar, D.m., durante los días 25, 26, 27 y 28 de septiembre de 2012 en Logroño (Edificio Quintiliano, c/ La Cigüeña 60). Correrá la presidencia de la organización a cargo de la Prof.^a Doña María Elena González Fandos, Catedrática de Tecnología de Alimentos de la Universidad de La Rioja.

Toda la información relacionada con el Congreso (temáticas de la conferencia inaugural y mesas redondas, así como nombres de los ponentes, plazos, etc.) se encuentra disponible en la página web del evento (<http://www.unirioja.es/microalimentos2012/index.shtml>).

GRUPO DE DOCENCIA Y DIFUSIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA



Montserrat Llagostera.
Presidenta del Grupo D+D SEM.

Desde la última reseña sobre el grupo D+D SEM que publicamos en Actualidad SEM, ahora me gustaría destacar algunas de las actividades e iniciativas que los miembros de este grupo especializado han llevado a cabo.

La primera de ellas, sin lugar a dudas, es la preparación de la I Reunión de nuestro grupo, ya que va a representar «nuestra puesta de largo» y va a ser nuestro reto más importante desde la celebración del Simposio del grupo en el marco del congreso de Salamanca del pasado año. La I Reunión del grupo está siendo organizada por un amplio comité formado por diferentes profesores de las distintas facultades de las áreas de Ciencias de la Vida y de la Salud de la Universidad Complutense de Madrid (UCM). Me consta que dicha comisión está trabajando intensamente desde hace ya muchos meses para poder ofrecer un contenido atractivo, interesante y novedoso a los participantes y una cuota de inscripción lo más reducida posible. Probablemente, muchos de vosotros ya sabréis que esta I Reunión se celebrará el 12 y 13 de julio en la Facultad de Veterinaria de la UCM. La conferencia inaugural la impartirá Sara Burton (SGM Education Division), Miguel Vicente la conferencia plenaria y la de clausura la dictará Mercè Piqueras en homenaje a Lynn Margulis. Además, se han programado cinco sesiones centradas en: I) docencia preuniversitaria de la Microbio-

logía, II) aplicación de nuevas tecnologías, III) difusión, IV) metodología docente y EEES y V) retos de la Microbiología. Podéis consultar todos los detalles de esta reunión en la dirección <http://www.ucm.es/info/mfar/ddm/prg.html>. Deseo que encontréis los suficientes motivos para dedicar dos días a nuestro grupo y para compartir con nosotros vuestras experiencias e inquietudes.

En un segundo punto quiero destacar los cambios que se han introducido en la web (<http://www.semicrobiologia.org/ddm/index.php>) de nuestro grupo para dar cabida a las aportaciones de todos vosotros. Como podréis ver se han creado nuevos grupos de trabajo que ya han comenzado a funcionar y, es de esperar que progresivamente sean una fuente continua de alimentación de dicha web. Para ello, debemos pedir vuestra colaboración, ya sea a través de vuestros comentarios como de la cesión de todo tipo de material (vídeos, películas, fotografías, etc.). En este sentido, abrimos hace poco una campaña de recopilación de material gráfico, la cual está anunciada en la sección de noticias de la web de la SEM. Os agradeceremos enormemente vuestra colaboración.

En tercer lugar, deseo referirme a la actividad del grupo de trabajo «Microbiología en la web» ya que es el responsable del facebook y del twitter de la SEM. Poco a poco ambos recursos van afianzándose entre los miembros de la SEM y es de esperar que progresivamente se conviertan en elementos muy útiles para todos nosotros. Además, os animo a todos a subscribiros a <http://www.scoop.it/t/microbiologia-sem> ya que así recibiréis un mensaje en vuestra cuenta de correo electrónico de las noticias y demás información que se va comentando en diferentes blogs y podcast que dependen de este grupo de trabajo.

También deseo hacer una mención especial a los nuevos grupos de trabajo que han comenzado su andadura con posterioridad al Congreso de Salamanca. Además del mencionado grupo «Microbiología en la web», se trata de los grupos «Historia de la microbiología española», «Microbiología y televisión» y «Microbiología en los niveles educativos preuniversitarios». Podéis consultar en nuestra web sus objetivos y, si estáis interesados en colaborar de alguna manera con alguno de ellos, no tenéis más que poneros en contacto con su responsable.

Finalmente mencionamos la reciente creación de un nuevo grupo de trabajo, a petición de la Junta Directiva de la SEM. Se trata del grupo «Divulgación Científica de la SEM». El objetivo central del grupo es identificar los logros científicos más destacados de los miembros de los grupos especializados de la SEM y promover su difusión a través de los medios con los que actualmente cuenta nuestra sociedad (Actualidad SEM, NoticiaSEM, Facebook, Twitter), así como a través de otros futuros canales, ya sean propios o externos. Como veis se trata de dar la máxima difusión a nuestra actividad científica y no se descarta que este grupo de trabajo pueda contactar con medios de comunicación externos a la SEM para aumentar al máximo dicha difusión. En este momento, el grupo cuenta ya con siete personas y, en cuanto se estructuran y perfilen más sus objetivos podréis encontrarlo en nuestra web. Si queréis

formar parte de este grupo, por favor, contactad directamente conmigo (Montserrat.llagostera@uab.cat).

Desde estas líneas, agradezco de todo corazón el esfuerzo y el tiempo que dedican todos los miembros de los grupos de trabajo al grupo especializado D+D SEM. Sin ellos, la existencia de este grupo no sería posible. Somos conscientes de que sólo hemos empezado a caminar y que para que nuestra actividad se vaya consolidando y podamos ofrecer un servicio a la SEM y a todos sus miembros, necesitamos que todos los miembros de la SEM colaboréis con nosotros en la medida de vuestras posibilidades. Estoy segura que este mensaje no se disipará. Por ello, de antemano, os doy las gracias a todos.

HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS



Amparo Querol.
Presidenta.

El grupo de Hongos Filamentosos y Levaduras de la SEM ha inaugurado este año la página web del grupo, en la que podréis encontrar toda la información de los socios que formamos este grupo, las noticias más destacadas, las reuniones que nos parecen más interesantes. Os animamos a que entréis en la página y nos aportéis las sugerencias que tengáis de cómo mejorarla o cualquier información sobre congresos o reuniones que queráis difundir a través de nuestra web.

Por otra parte, el grupo organiza este año, junto a la Asociación Española de Micología (AEM), el XI Congreso Nacional de Micología (<http://xicongresomicologiacadiz2012.com/>). Este congreso se celebrará en Cádiz del 20 al 22 de septiembre. Este año la organización recae sobre nuestro grupo, siendo el presidente del Comité Organizador el Dr. Jesús M. Cantoral (Universidad de Cádiz).

Las ponencias seleccionadas intentan cubrir la mayor parte de las investigaciones desarrolladas tanto en hongos filamentosos como en levaduras, así como los resultados más novedosos de las investigaciones básicas y las aplicaciones clínicas, biomédicas o biotecnológicas de los hongos. La conferencia inaugural (organizada por el grupo), la impartirá el Dr. Carlos Gancedo («Las levaduras en la Biología actual») y la de clausura por Dr. Guillermo Quindós («Micosis, ambiente y cambio climático»). El programa científico constará de dos Conferen-

cias Plenarias compartidas y diferentes Mesas Redondas organizadas por cada uno de los grupos:

Conferencias plenarias

- Bases fisiológicas y moleculares de la Micosis (SEM-AEM)
- Diagnóstico y tratamiento de las micosis. Interacción patógeno-hospedador(AEM-SEM)

Mesas redondas

- «Ómicas en el mundo de los hongos»(SEM)
- «Micosis invasoras: aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos» (AEM)
- «Biotecnología fúngica» (SEM)
- «Aportaciones del laboratorio al diagnóstico y tratamiento de las micosis» (AEM)
- «Avances en el control de hongos toxigénicos y fitopatógenos» (SEM)
- «Zoonosis y micosis ambientales» (AEM)

Conferencia «Premio Fleming»

Cabe destacar que, desde hace seis años nuestro grupo convoca periódicamente el Premio «Fleming», dirigido a jóvenes investigadores que destacan en el campo de la Micología, cuyo trabajo esté realizado preferentemente en España y por personas vinculadas a este grupo especializado de la SEM y el ganador (se están evaluando las solicitudes en este momento) será el que imparta la última conferencia del congreso organizada por el grupo.

TAXONOMÍA



Jorge Lalucat.
Ex-presidente.

En 2012 la Junta Directiva del grupo de Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad tenía pendiente una renovación parcial, concretamente en los cargos de Presidente, Tesorero y Vocal 1º, ocupados por Jorge Lalucat (Universitat de les Illes Balears), M^a Carmen Fusté (Universitat de Barcelona) y Victoria Béjar (Universidad de Granada), respectivamente. Puesto que todos ellos fueron re-electos en 2008, procedía elevar nuevas candidaturas ya fuera a propuesta de diez miembros o por la Junta Directiva del grupo como recogen los estatutos de la SEM. Agotados

los plazos fijados en la XXVII Asamblea (Salamanca, 12 de julio de 2011) desde la Junta Directiva se proponen de forma unánime los siguientes candidatos: Antonio Ventoza (Universidad de Sevilla) para el cargo de Presidente, Maribel Farfán (Universitat de Barcelona) como Tesorera, y Fernando Martínez-Checa (Universidad de Granada) como Vocal 1º. Siguiendo también lo acordado en la XXVII Asamblea la votación se hizo vía internet, contando para ello con la valiosa ayuda de Jordi Urmeneta quien puso a punto el sistema desinteresadamente. Con una buena cifra de participación los tres candidatos fueron plenamente respaldados para ocupar los cargos propuestos.

Mientras se prepara el número de junio de Actualidad SEM (ahora SEM@foro), muchos de nosotros estamos pendientes y haciendo preparativos para asistir a la XIV Reunión de Taxonomía, Filogenia y Diversidad Microbiana que se celebrará en Granada durante los días 10 a 12 de mayo de 2012. Tanto el formato de la reunión, como los simposios que ya se anuncian, deberían ser un poderoso reclamo para todas aquellas personas interesadas en nuestra área de trabajo, y de forma muy particular para los jóvenes investigadores que se están iniciando en la Microbiología (<http://www.ugr.es/~congresotaxon2012/index.htm>). A ello habría que unir el atractivo del enclave y unas cuotas muy ajustadas, por lo que auguramos que la reunión será todo un éxito de asistencia y participación.

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR



Maria Molina.
Presidenta.

El grupo especializado de Microbiología Molecular celebrará su IX Reunión en Palma de Mallorca del 14 al 16 de noviembre de 2012, organizada por José Antonio Bengoechea. En ella se tratarán los avances más importantes desarrollados por miembros de nuestro grupo en el conocimiento molecular de la patogénesis microbiana y su aplicación al desarrollo de nuevos antimicrobianos y vacunas, en el campo de la biología sintética y de sistemas o en otras aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos mediante su manipulación molecular, entre otros temas. Como en anteriores reuniones, la intención fundamental es dar oportunidades a los jóvenes investigadores para que expongan su trabajo en forma de comunicación oral y que exista también tiempo suficiente para que se discutan aquellos trabajos presentados en forma de póster. Además, los Profesores Jean-Pierre Gorvel y Miguel Valvano pronunciarán sendas conferencias magistrales en

el área de la biología de las infecciones, y la conferencia de clausura estará a cargo del ganador del II Premio de Investigación BIOMEDAL.

La sede de la Reunión será el Auditorium de Palma, ubicado en el Paseo Marítimo. La información detallada se puede obtener en la página web de la Reunión a la que se puede acceder a través de la web del grupo especializado (<http://www.ucm.es/info/mmol/>) o directamente (<https://sites.google.com/site/micromoleculas2012/home>).

Esperamos vuestra asistencia y animamos especialmente a los investigadores más jóvenes a presentar su trabajo de investigación.

PROTISTOLOGÍA



Ana Martín González.
Presidenta.

Nuestra página web

Hace pocos meses que la página web de nuestro Grupo especializado de Protistología (GP) está activa y, al igual que el resto de los grupos especializados se acoge en la página web de la SEM. La página del GP consta de cinco secciones; 1) la página principal o de cabecera, en donde se incluye la más reciente información o noticias relativa al mundo de los protistas y de interés general para todos los miembros del grupo, con vínculos a otras secciones de la misma página u otras páginas web. 2) la composición de la directiva actual del GP, con las correspondientes direcciones y correos-electrónicos de cada miembro. 3) miembros del GP en donde se muestra un listado de todos los miembros con su correo electrónico correspondiente e información sobre el grupo de investigación al que pertenece. Para completar y/o actualizar esta información, solicitamos a los diferentes miembros de GP que nos envíen la información correspondiente de su grupo para incluirla. 4) información actualizada sobre reuniones y congresos, tanto nacionales como internacionales, junto con los vínculos para acceder a las páginas web de los mismos, y 5) enlaces y noticias de interés para los protistólogos. Nuestra página web se renueva aproximadamente cada mes, y como se tra-

ta de que sea algo activo o vivo, os pedimos que la visitéis asiduamente y nos enviéis cualquier tipo de información que deseéis aparezca o sea divulgada en nuestra página, para lo que podéis contactar con el webmaster (e-mail: juancar@bio.ucm.es) de la misma.

Acción COST entre ciliatólogos europeos

Durante el pasado mes de Abril, se celebró en la Universidad de Sevilla (Dpto. Microbiología, Facultad de Biología) la 1ª reunión científica de la acción BM1102 (European Cooperation in Science and Technology, COST): «Ciliates as model systems to study genome evolution, mechanism of non-Mendelian inheritance, and their roles in environmental adaptation». Esta acción reúne a distintos grupos de investigación, procedentes de 11 países europeos (dos grupos españoles, que igualmente pertenecen al grupo especializado de Protistología (GP) de la SEM; Universidad de Sevilla y Complutense de Madrid), más 6 grupos de fuera de la Unión Europea. El principal cometido de esta acción COST es crear una red entre grupos europeos que trabajen con ciliados en aspectos relacionados con la genómica, epigenética y adaptación al ambiente. Esta acción tendrá una duración de cuatro años.

MICROORGANISMOS PATÓGENOS



Ángel Domínguez.
Presidente.

El grupo de Biología de los Microorganismos Patógenos a través de su Junta Directiva está organizando dos congresos: el IV Congreso de Biología de Microorganismos Patógenos Badajoz 5-7 julio 2012. (Primero si nos atenemos al nuevo nombre del grupo especializado) <http://www1.unex.es/eweb/SEMBiopatogenos/IndexSEMBio.html>; y el 30 Congreso sobre transportadores en levaduras en Salamanca del 9 al 12 de Julio de 2012. (Small Meeting on Yeast Transport and Energetic. <http://www.smyte30.es/>)

A veces tenemos la suerte y privilegio de vivir en primera persona páginas irrepetibles de la Historia de la Microbiología. Congresos internacionales, premios, grandes momentos, anécdotas... ¿Estuviste allí? Cuéntanoslo a los socios de la SEM. Todos los investigadores llevamos un reportero dentro.

Notas para esta sección a semaforo@semicrobiologia.org

«Estamos en la mejor etapa de la historia de la Microbiología»

Julien Davies recibe en Dublín el premio especial de la SGM

Victor J. Cid. SEM@foro.

En el «Spring meeting» de la británica SGM (*Society for General Microbiology*) se otorga anualmente el «premio SGM» a un microbiólogo que ha realizado aportaciones clave al campo a lo largo de su carrera. Este año en Dublín, el galardón fue para Julien Davies, profesor emérito en la Universidad de British Columbia (Canadá), uno de los microbiólogos más carismáticos de las seis últimas décadas, bien conocido y querido también en nuestro país, que visita a menudo.

En su conferencia plenaria conmemorativa, el Prof. Davies regaló a un auditorio abarrotado y entregado una serie de reflexiones bajo el título autobiográfico «*Microbes, Molecules and... Me*». Su oratoria cercana y apasionada nos convenció de que en dichas reflexiones se encierran las bases de la Microbiología en el s. XXI.

En primer lugar contextualizó la «edad de oro de los antibióticos», que él vivió en primera persona durante su formación y sus primeros proyectos, para poner de manifiesto que hace ya décadas que prácticamente no se han generado nuevas moléculas de interés terapéutico, mientras las bacterias por su parte ya han aprendido a escapar de los que surgieron en su día.

A continuación llamó la atención sobre lo ciega que ha sido la comunidad científica al no haber caído en la cuenta de que las moléculas producidas por los microorganismos probablemente no son armas letales sino mensajes, señales, algo así como las hormonas de las comunidades microbianas. «*Hemos estudiado durante décadas a los antibióticos en fermentadores industriales. A nadie le ha interesado jamás qué hacen en realidad los antibióticos en la naturaleza. Hemos estudiado sus efectos microbicidas a concentraciones en las que estas moléculas nunca se hallaron ni se hallarán en los ecosistemas*» –dijo. Julien mostró algunos datos que prueban que, a concentraciones subletales, algunos inhibidores de la síntesis proteica, como la rifampicina, en realidad potencian la actividad

ribosomal... ¿Cuál es entonces su verdadera función? «*Estoy convencido de que los antibióticos son algo más que antibióticos*» –sentenció. En este contexto, introdujo en la galaxia «-ómica» que nos invade el término «parvoma» (conjunto de moléculas bioactivas de pequeño tamaño producidas por organismos vivos). Extendiendo el concepto a la señalización que se produce no sólo entre especies microbianas, sino entre hospedadores y comunidades microbianas, habló de una «Endocrinología Microbiana», digna de estudiarse a fondo para entender las complejas relaciones en los microbiomas.

Para terminar, Julien quiso destacar el enorme impacto que tendrá el estudio del microbioma humano y su «parvoma» asociado. «*Estoy seguro de que el estudio de la biología del microbioma va a cambiar la manera en la que hacemos Biología y la manera en la que hacemos Medicina. Estamos en la mejor etapa de la historia de la Microbiología*».



¿Pero tiene sentido hoy en día dedicar dinero a la ciencia?

Reflexiones sobre la figura de Renato Dulbecco (1914-2012)

Ignacio López-Goñi. Universidad de Navarra. <http://microbioun.blogspot.com.es>

Hace unos meses (el 19 de febrero) falleció en su casa en La Jolla (California), **Renato Dulbecco**, tres días antes de celebrar su 98 cumpleaños. Una vida dedicada a la ciencia (y a la música, una de sus grandes aficiones), y un ejemplo de la «fuga de cerebros» que siguió a la Segunda Guerra Mundial, y que todavía hoy continúa (y desgraciadamente continuará) en nuestro país.

Renato nació y se educó en Italia, y poco después de la guerra se fue a Estados Unidos. Comenzó a trabajar con el también italiano **Salvador Luria**, en la Universidad de Indiana, con **bacteriófagos**. Descubrió el fenómeno de la fotorreactivación de los bacteriófagos inactivados con luz ultravioleta. ¿Qué sentido puede tener después de una guerra mundial dedicarse a estudiar cómo funcionan los virus que infectan la bacteria *Escherichia coli*? Ciencia básica que muchos podrían considerar una pérdida de tiempo y dinero. Allí conoció y se hizo amigo de **James Watson**, que entonces era estudiante en el laboratorio de Luria. Unos años después, invitado por **Max Delbrück**, se incorporó al *California Institute of Technology (Caltech)*. Allí, gracias a lo que había aprendido trabajando con bacteriófagos, desarrolló la técnica del cultivo celular para cultivar y aislar virus que infectan células animales. Empleando esa técnica pudo estudiar las propiedades biológicas del virus de la polio. Esta técnica de cultivo celular que él desarrolló permitió la investigación de la biología y genética de muchos otros virus, y ha sido una técnica esencial para el desarrollo de la virología. En 1963, se incorporó al *Institute Salk* (del que llegó a ser Presidente) para investigar los mecanismos por los cuales algunos virus pueden transformar las células en tumores. Durante esos años, demostró que el ADN del virus SV40 (un virus que infecta a los monos) es capaz de integrarse en el genoma de la célula huésped, transformando la célula normal en una célula maligna o cancerosa. En 1975, junto con **David Baltimore** y **Howard Temin**, recibió el Premio Nobel por sus descubrimientos que demuestran la relación entre los virus, el material genético de la célula y el cáncer.

Con gran visión de futuro, en 1986 escribió un artículo en la revista *Science* en el que sugería la necesidad de secuenciar y catalogar todos los genes humanos. El artículo tuvo una gran resonancia, al principio negativa, pero muy pronto se reconoció su propuesta y ayudó al diseño y puesta en marcha del Proyecto Genoma Humano.

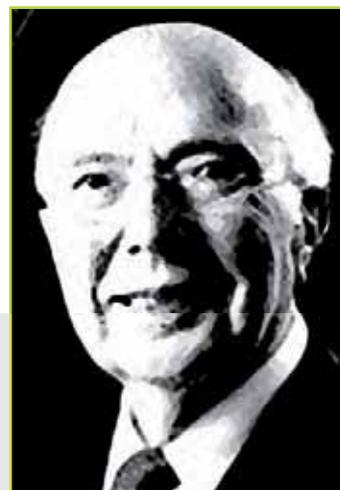
Durante unos años volvió a su Italia natal para dirigir el Proyecto Genoma Italiano, pero decepcionado por

la falta de apoyo y financiación (¿les suena?), se volvió definitivamente a Estados Unidos. Una historia que se repite de forma sistemática en muchos países europeos, y que demuestra una vez más la política cortoplacista de muchos dirigentes que no ven que invertir en ciencia es siempre sinónimo de desarrollo y futuro.

Renato Dulbecco comenzó trabajando con bacteriófagos y logró demostrar la relación entre virus, genes y cáncer: cómo algunos virus son capaces de causar cáncer al insertar sus propios genes en el cromosoma de la célula que infectan. Un ejemplo de que invertir en ciencia, en ciencia básica, es invertir en futuro, progreso y desarrollo. Personalmente, me gusta imaginar que Renato Dulbecco también habría firmado la Carta abierta por la ciencia en España. Descanse en paz.

BIBLIOGRAFÍA

- Eckhart, W. (2012) Renato Dulbecco: Viruses, genes, and cancer. PNAS, 109:4713-4714. doi: 110.1073/pnas.1203513109
<http://www.pnas.org/content/109/13/4713.long>
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1969/
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1975/
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1962/
<http://www.salk.edu/>
<http://www.caltech.edu/>
<http://www.investigaciondigna.es/wordpress/firma>



Renato Dulbecco (22 de febrero de 1914, Catanzaro, Italia – 19 de febrero de 2012, La Jolla, CA, USA).

Vacunas Made in Spain

La microbiología española es competitiva en el desarrollo de vacunas

Victor J. Cid. SEM@foro.

Quienes sigan el interés de los medios de comunicación por temas microbiológicos (consultando, por ejemplo, el blog de [La Microbiología en los Medios](#) del grupo D+D SEM) habrán constatado un interés de la opinión pública en los últimos meses sobre vacunas preventivas. En primer lugar, el rechazo a la inmunoprofilaxis por parte de ciertos colectivos mal informados, especialmente en Estados Unidos, y la propagación de estas ideas a través de internet ha sido objeto de documentales y artículos de prensa. Por otra parte, el desarrollo de nuevas vacunas en España goza de una salud espléndida gracias al éxito de algunos de nuestros grupos de investigación.

El pasado año, prensa y televisión destacaban los buenos resultados de la fase I de los ensayos clínicos sobre la estrategia vacunal contra el VIH fruto del trabajo del Prof. Mariano Esteban y su equipo en el Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) de Madrid. Como sabrán, la vacuna se basa en una vacuna viva recombinante basada en un *Poxvirus* que expresa cuatro antígenos retrovirales.

Unos meses más tarde, con un impacto mediático más limitado por razones obvias, la prensa reseñaba el reconocimiento de la Conferencia de Rectores (CRUE) a la vacuna *Colidex-C* desarrollada por el grupo del Prof. Jorge Blanco en la Universidad de Santiago hace unos años frente a la colibacilosis del ganado porcino, causada por estirpes

enterotoxigénicas de *E. coli*. El Prof. Blanco ha atendido a los medios durante el brote alemán de infección alimentaria hace ahora un año, erróneamente atribuido a hortalizas españolas, pero la labor de su equipo merece un reconocimiento también en el campo de la innovación en el desarrollo de vacunas.

Más recientemente hemos visto en los medios, incluso en el informativo más decano de la televisión pública, Informe Semanal, a nuestro compañero el Prof. Carlos Martín-Montañés de la Universidad de Zaragoza, a raíz de la entrada en ensayos clínicos de MTBVAC, la vacuna viva frente a la tuberculosis desarrollada mediante atenuación dirigida. El interés de Bill Gates por la vacuna, producida en Galicia por la empresa Biofabri, en este punto de su desarrollo ha sido lo que ha atraído a los medios. Sin embargo, es difícil trasladar a la opinión pública el auténtico mérito de Carlos desde la base científica de la estrategia: la genial idea de vislumbrar que la delección de un gen cuya sobreexpresión aumenta la transmisibilidad y virulencia de la micobacteria podría ser la base de un candidato vacunal tan prometedor.

Podríamos citar más ejemplos, pero basta una muestra para entender que la crisis en nuestro país radica en la miopía institucional y la errática gestión de los recursos, no en la calidad de nuestros investigadores. La vacuna contra la recesión económica es la inversión en I+D.



De izquierda a derecha, Mariano Esteban, Jorge Blanco y Carlos Martín-Montañés, en fotografías aparecidas en la prensa en los últimos meses. (fuentes: EFE, Europa Press/Progreso y Julio Foster/El País).

Historia y desarrollo de la Sociedad de Microbiología de Chile

Michael Seeger¹ y Mercedes Zaldivar². ¹Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. ²Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.



INTRODUCCIÓN

La *Sociedad de Microbiología de Chile* (SOMICH) es una asociación activa y multidisciplinaria de microbiólogos que trabajan en diversos campos como la microbiología general, clínica, ambiental, industrial, alimentaria, agrícola y veterinaria. SOMICH tiene más de 260 miembros activos y en sus congresos anuales ha congregado 450 participantes en los últimos años. Esta sociedad fue fundada como Asociación Chilena de Microbiología (ACHM) en el año 1964. Nuestra Sociedad integra la *Asociación Latinoamericana de Microbiología* (ALAM) y la *International Union of Microbiology Societies* (IUMS).

HISTORIA DE LA MICROBIOLOGÍA EN CHILE

La microbiología experimental tiene una dilatada historia en Chile. Comenzó durante el desarrollo de la sanidad pública, en especial de la Medicina, la Farmacia y la

Odontología. En la década de 1880, los médicos Vicente Izquierdo y Francisco Puelma fundaron respectivamente los Laboratorios de Histología y Anatomía Patológica, ambos en la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile en Santiago^{1,2}. El primer artículo de la bacteriología en Chile fue publicado en 1884 por V. Izquierdo, describiendo al patógeno *Neisseria gonorrhoeae*³. Un año antes ya había descrito el papel crucial del patógeno «*Bacillus Kochii*» (*Mycobacterium tuberculosis*) en la tuberculosis. Alejandro del Río, un discípulo de F. Puelma describió el microorganismo causante de la disentería en 1888⁴. En Concepción, Osvaldo Figueroa fue contratado en 1920 como el primer Catedrático de Bacteriología y Anatomía Patológica por la Universidad de Concepción para impartir docencia a los estudiantes de Odontología y Farmacia⁵. Liborio Moraga inauguró en 1924 la Cátedra de Bacteriología y fundó el primer laboratorio clínico de la universidad y del Sur de Chile. Más adelante, el alemán Edwin Zimmermann (1936-1938) y el italiano Agostino Castelli

(1938-1943) dirigieron el Departamento de Bacteriología. Su trabajo tuvo continuidad en la labor de Adolfo Vivanco y Rafael Darricarrere, uno de los fundadores de la ACHM. En Valdivia, Adolfo Vivanco fue el pionero de la docencia en Microbiología en la Facultad de Medicina y Tecnología Médica de la Universidad Austral en 1960. Desde entonces, la microbiología ha estado en manos de microbiólogos locales, como Heriberto Fernández, Luis Zaror, Luigi Ciampi y Stella Riedemann. En Valparaíso, la Microbiología comenzó en 1954 en la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile impulsada por los médicos Armando Honorato (micología) y Fernando Lara (microbiología oral) y, más tarde, en la Facultad de Medicina liderada por Alicia Vera¹. En las últimas décadas, una comunidad microbiológica local activa se ha establecido en Antofagasta. En años más recientes, otras ciudades con universidades y centros de investigación a lo largo de nuestra geografía han desarrollado actividades en el campo, como en La Serena, Coquimbo, Talca, Chillán, Temuco, Osorno y Puerto Montt.

HISTORIA DE LA SOCIEDAD DE MICROBIOLOGÍA

La «Asociación Chilena de Microbiología» (ACHM) fue fundada en 1964 por microbiólogos del Instituto Bacteriológico de Chile (IBCH, renombrado en 1979 como Instituto de Salud Pública de Chile, ISP), la Universidad de Chile, la Pontificia Universidad Católica de Chile y la Universidad de Concepción. Su predecesora fue la Sociedad Chilena de Microbiología e Higiene formada en 1928 al alero del IBCH y liderada por el médico Eduardo Suarez. La primera Junta Directiva de la ACHM estaba formada por Eduardo Dussert (Presidente), Hugo Vaccaro (Vice-presidente), Manuel Rodríguez (Secretario), Rafael Virgilio (Tesorero), Oscar Avendaño (Co-tesorero), Rafael Darricarrere (Director), Leonardo Paredes (Director), Carlos Flores y Fernando Lara. La ACHM agrupaba entonces a 88 profesionales de la disciplina. Los principales objetivos de esta nueva Sociedad Científica eran «Promover el conocimiento y el desarrollo de la Microbiología y la Inmunología a través de congresos científicos y publicaciones; estimular la investigación científica en los campos de la Microbiología e Inmunología, así como contribuir a otros campos relacionados a través de reuniones científicas; participar activamente en la enseñanza en los campos de la Microbiología e Inmunología en Chile; Observar y realizar los objetivos de la Asociación Latinoamericana de Microbiología; Estimular la formación de filiales en otras ciudades chilenas». En aquel momento, los microbiólogos trabajaban sobre todo en el ámbito clínico. El Presidente fundador de la ACHM Eduardo Dussert era médico y director del IBCH (1962-1969).

En 2004, se aprobaron los nuevos estatutos de la Sociedad y la ACHM pasó a llamarse Sociedad de Microbiología de Chile (SOMICH). Su logotipo se ilustra en la Figura 1. ACHM y SOMICH han sido presididas en las últimas décadas por Manuel Rodríguez, Valeria Prado, María Eugenia Pinto, Fidel Avendaño, Guido Mora, Eugenio Spencer, Guillermo



Figuroa, Inés Contreras, Michael Seeger y Omar Orellana, su actual Presidente desde 2009.

EL CONGRESO CHILENO DE MICROBIOLOGÍA

SOMICH organiza Congresos Nacionales de Microbiología con periodicidad anual. En los últimos 30 años dicho Congreso ha tenido lugar en Viña del Mar (1982, 1990, 1997, 2007), Valdivia (1984, 1992, 1999), Santiago (1985, 1993, 1996, 1998), Talca (1991), Concepción (1995, 2008), Punta de Tralca (2000, 2002), Tomé (2001), Antofagasta (2003, 2010), Valparaíso (2004), Pucón (2005, 2006), Santa Cruz (2009) y Omué (2011). Los Congresos anuales de la última década han convocado cada año a 450 participantes. Microbiólogos internacionales destacados han sido invitados a las sesiones plenarias, incluyendo a Kenneth Nealson, Karl Heinz Schleifer, Sydney Altman (Premio Nobel), Roberto Kolter, Ralf Conrad, Pascal Cossart, Víctor de Lorenzo, Jill Banfield, Ricardo Guerrero, Stanley Maloy, Linda Kenney, Nelson Duran, Barry Wanner, Edward Moore, Edmundo Calva y Jorge Galán.

COLOQUIOS DE MICROBIOLOGÍA

Guido Mora y Eliana Canelo organizaron en 1991 el primer Coloquio de Microbiología en Santiago. Ambos microbiólogos se mantuvieron a cargo de la organización hasta el año 2003, en el que fueron relevados primero por Marcela Wilkens y luego por Nicolas Giuliani. Los Coloquios de Microbiología en Valparaíso comenzaron en 2004, organizados por James Robeson, Juan Kuznar y Michael Seeger. Los Coloquios son reuniones mensuales en los cuales los microbiólogos jóvenes y «experimentados» exponen las novedades y resultados recientes en sus respectivas investigaciones. Reúnen a un gran número de estudiantes, constituyendo una de las actividades científicas más importantes y duraderas desarrolladas en Chile.

REVISTAS

Los primeros microbiólogos chilenos publicaron sus contribuciones en revistas nacionales como la Revista Médica de Chile (fundada en 1872 por la Sociedad Médica de Chile), la Revista Chilena de Historia Natural (fundada en 1897), el Boletín de la Sociedad de Biología de Chile (fundada en 1964; renombrado luego como Biological

Research), así como en revistas internacionales. Los microbiólogos Eduardo Piontelli y Raúl Zemelman fundaron las revistas «Boletín Micológico» y «Acta Microbiológica», respectivamente. Desafortunadamente, estas últimas dos revistas ya no se publican. SOMICH tiene una página web www.somich.cl y publica el Boletín de la Sociedad de Microbiología de Chile.

ALAM

SOMICH es un miembro activo de la Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM)⁶⁻⁸. ALAM es una Federación de Sociedades de Microbiología de distintas naciones de América Latina. El propósito de ALAM es «unir a los Microbiólogos en todo lo que sea de interés para el ejercicio y el progreso de su disciplina y la investigación científica» según se cita en sus estatutos. La ALAM organiza Congresos Latinoamericanos bienales, promueve la cooperación internacional y publica la Revista Latinoamericana de Microbiología. Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Cuba, Ecuador, México, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela son miembros nacionales de la ALAM. Recientemente, dos países de fuera del ámbito Americano, España (2008) y Portugal (2010), se incorporaron como miembros a ALAM. El Presidente de la SEM, Ricardo Guerrero, ha desempeñado un papel esencial en la incorporación de ambos países. Los congresos de la ALAM son útiles para el intercambio de información científica y la promoción de la cooperación científica y tecnológica en Microbiología entre los países latinoamericanos y con otras regiones. Asimismo, los congresos de la ALAM han ayudado a mejorar las políticas de salud pública y ambientales y sus normativas. En las últimas décadas, la creciente democratización de los países latinoamericanos ha impulsado un importante desarrollo en esta región.

En 1961, microbiólogos chilenos participaron en el 2º Congreso Latinoamericano de Microbiología, celebrado en San José de Costa Rica. El primer Congreso de la ALAM en Chile tuvo lugar en Viña del Mar en octubre de 1978, organizado por Manuel Rodríguez. Un segundo Congreso ALAM en Chile fue el XVIII Congreso Latinoamericano de Microbiología, celebrado en Pucón en octubre de 2006, el cual fue liderado por Michael Seeger y convocó a más de 600 científicos de 16 países⁶.

El afiche del último congreso ALAM en Chile se ilustra en la Figura 3. El XIX Congreso Latinoamericano de Microbiología se celebró en Quito, Ecuador, en octubre de 2008, presidido por María Fernanda Espinoza⁷. El XX Congreso Latinoamericano de Microbiología, organizado por Matilde Soubes tuvo lugar en Montevideo en septiembre de 2010⁸. Del 28 de octubre al 1 de Noviembre de 2012 se celebrará el XXI Congreso Latinoamericano de Microbiología, dirigido por Adalberto Pessoa en Santos, Brasil.

PERSPECTIVAS

La Microbiología en Chile ha experimentado un importante desarrollo desde el nacimiento de la ACHM en 1964.



Hemos sido testigos de cómo nuestro campo ha crecido y madurado a lo largo de las últimas décadas. La Microbiología se ha convertido en una de las principales áreas de investigación en Chile, con un número creciente de investigadores, estudiantes de posgrado y proyectos de investigación. Es un campo que atrae a estudiantes brillantes y motivados, en parte debido al entusiasmo y dedicación constante de la SOMICH, la cual, fiel a sus fundadores y presidentes y de acuerdo con los objetivos propuestos por ellos hace casi 50 años, ha sido capaz de propiciar el conocimiento y desarrollar el campo tanto desde la actividad docente como la actividad de investigación. La SOMICH es una de las sociedades científicas más activas de Chile. Confiamos en que este crecimiento continuará y que la nueva generación de microbiólogos chilenos seguirá contribuyendo a expandir las fronteras de esta disciplina y al desarrollo de esta región austral.

REFERENCIAS

1. **Rodríguez M (1992)**. La microbiología en Chile: su desarrollo a la luz de un siglo de existencia. *Rev Med Chile* 120:463-470.
2. **Osorio CG (2010)** The history of microbiology in Chile: About the origin of experimental bacteriology. *Rev Med Chile* 138:913-919.
3. **Izquierdo V (1884)** El microbio de la blenorragia. *Rev Med Chile* 13:16-21.
4. **Del Río A (1888)** El micro-organismo de la disentería. *Rev Med Chile* 17:267-269.
5. **Herrera VR (2008)** Los cazadores de microbios de la Universidad de Concepción. Universidad de Concepción, Concepción, 69 pp
6. **Holmes DS, Mora G (2006)** Taking the pulse of Latin American microbiology: the 18th ALAM congress (Pucón, 23-26 October 2006). *Int Microbiol* 9:306-308
7. **Seeger M, Espinoza MF (2008)** Highlights of Latin American microbiology: the 19th ALAM Congress. *Int Microbiol* 11:289-292
8. **Seeger M, Soubes M (2010)** Latin American microbiology at the independence bicentenary: the 20th ALAM Congress (Montevideo, 27-30 September 2010). *Int Microbiol* 13:289-292

Lynn Margulis (1938-2011): *The sense of wonder*

Mercè Piqueras. Associate Editor, International Microbiology.

La fisiología y la ecología microbianas son esenciales para la comprensión del proceso evolutivo. El comportamiento de los microorganismos dentro de sus propias poblaciones y en sus interacciones con otros determinó el curso de la evolución de la vida. El mundo vivo subvisible en último término es el fundamento del comportamiento, desarrollo, ecología y evolución del mundo visible del cual formamos parte y con el cual evolucionamos.

Lynn Margulis

(de la *Lectio* pronunciada con motivo de su investidura como doctora Honoris Causa por la Universidad de Valencia en 2001).

El 5 de marzo de 2013, la bióloga estadounidense Lynn Margulis, fallecida el 22 de noviembre de 2011, habría cumplido setenta y cuatro años. Era la semana en la que se celebra el Día Internacional de la Mujer y en la Sala de Actos del Instituto de Estudios Catalanes de Barcelona, donde ella había impartido tantas conferencias, fue una vez más la protagonista, pero no para exponer sus ideas a un público numeroso, sino para que hablasen de ella. Quince mujeres de diferentes campos de la ciencia y de generaciones distintas fueron desgranando sus recuerdos de la relación mantenida con Lynn, que, en muchos casos no fue solo profesional, sino también de profunda amistad. Todas coincidieron en elogiar el entusiasmo que ponía Lynn en su trabajo y su capacidad de maravillarse, lo que los anglosajones llaman «*the sense of wonder*». Y lo que más la entusiasmaba y maravillaba era el mundo microbiano.

El nombre de Lynn Margulis (1938-2011) está ya inscrito en la historia de la biología del siglo xx. Un siglo en el que la presencia de las mujeres científicas empieza a hacerse notar. La microbiología ha contado con investigadoras tan destacadas como Alice Evans (1881-1975), que en 1928 fue la primera presidenta de la American Society for Microbiology (entonces Society of American Bacteriologists), Rebecca Lancefield (1895-1981), a quien se debe la clasificación serológica de los estreptococos, o Esther Lederberg (1922-2006), descubridora del fago lambda y de la técnica de replicación en placa. Otros campos de la biología han tenido también protagonistas femeninas y cada vez son más las mujeres que se dedican a la investigación. Zoología, genética, microbiología, geobiología, ecología son sectores en los que investigó Lynn Margulis a lo largo de su carrera profesional. Fue una mujer polifacética, que hizo incursiones también en otros campos de la ciencia e incluso más allá: en la antropología, la literatura, la filosofía o la comunicación. Un artículo en una revista



Lynn Margulis en Barcelona (2009).

es insuficiente para describir su trabajo y sus logros. Me limitaré, por tanto, a algunos aspectos de su relación con la microbiología, con la SEM, con España y Latinoamérica. Sin embargo, no es posible hablar de Margulis sin mencionar algunas de sus ideas que cambiaron el paradigma imperante hasta 1970 sobre los mecanismos de la evolución.

En el libro *Mon dernier soupir* (Mi último suspiro), las memorias que Luis Buñuel (1900-1983) dictó en francés a su amigo y guionista preferido Jean-Claude Carrière el año

antes de su muerte, el cineasta expresó su opinión sobre la ciencia así: «La ciencia no me interesa. Me parece presuntuosa, analítica y superficial. Ignora el azar, la risa, el sentimiento y la contradicción, cosas que me son preciosas.» Cuando leí esta cita en un monográfico de *El Correo de la Unesco* dedicado a la ciencia, además de extrañarme de que Buñuel considerase negativo que la ciencia fuese analítica cuando algunas de sus películas son también tremendamente analíticas, pensé en Lynn Margulis e imaginé que un encuentro entre estos dos grandes personajes seguramente habría hecho cambiar de opinión a Buñuel. Si la ciencia fuese presuntuosa, no hubiese aceptado nunca las ideas de Lynn. El error es una constante en la historia de la ciencia y su reconocimiento y rectificación es uno de los motores que la hacen avanzar. Y los errores que han cometido grandes científicos no desmerecen los logros que hayan podido alcanzar. Quizas haya quien considere superficial estudiar el origen y la evolución o historia de la vida, como hizo Lynn, pero es algo que los humanos han hecho desde la antigüedad y que ha preocupado a muchos filósofos. La imaginación de Lynn y el azar que la llevó a conocer algunas personas que influyeron mucho en su vida son ingredientes fundamentales de sus logros en ciencia. Quizás Buñuel trató a científicos aburridos, tristes o amargados. Si hubiese conocido a Lynn, el director de cine aragonés habría disfrutado de su risa o, como mínimo, de su sonrisa, siempre a flor de labios. Habría visto que, en Lynn, sentimiento y ciencia eran inseparables y habría conocido también sus contradicciones.

LA COOPERACIÓN COMO MOTOR DE LA EVOLUCIÓN

Desde la época de Darwin, la evolución se consideraba como una carrera en la que las especies competían para permanecer en ella (como en «la carrera de la reina roja», de *Alicia a través del espejo*, que rige un país que está siempre en movimiento y en donde sus habitantes han de moverse también para quedarse en el sitio que están) y en la que todo valía para ganar. Algunas aportaciones de Lynn Margulis a la biología han mostrado una visión distinta de la evolución: una carrera en la que los organismos que más avanzan no són los que compiten entre sí, sino los que se unen para colaborar con un mismo fin. Su curiosidad sin límites la llevó a investigar autores olvidados o desconocidos en la literatura científica, y rescató algunas ideas sobre la simbiosis que varios científicos rusos habían esbozado pero que habían pasado desapercibidas. No cejó hasta demostrar que la evolución tiene también una cara amable, la de un mundo en el que triunfa la cooperación.

Muchos científicos realizan el gran descubrimiento de su vida después de años de experimentación. No fue el caso de Lynn Margulis, a quien la teoría —entonces solo una hipótesis— de la endosimbiosis seriada que la hizo famosa se le ocurrió a principios de la década de 1960, cuando era estudiante de doctorado. Su libro *Symbiosis in Cell Evolution*, publicado en 1981 y puesto al día en una segunda edición de 1993, es un compendio de su teoría

y se considera un clásico de la biología contemporánea, citado repetidamente por muchos autores

El concepto de simbiosis o hipótesis dual se conocía desde el siglo XIX, cuando Simon Schwendener (1829-1919) y Anton de Bary (1831-1888) estudiaron la naturaleza dual de los líquenes, constituidos por la unión de un hongo y una alga. Una idea que fue recibida primero con escepticismo, pero tuvo que aceptarse ante la evidencia proporcionada por muchos botánicos que aislaron las algas que se asocian con varios tipos de hongos para formar las diferentes «especies» de líquenes. Schwendener describió aquella asociación como una de dominancia de un organismo sobre otro. Pero en realidad se trataba de una unión de la que ambos miembros salían beneficiados. Albert Bernard Frank (1839-1900) acuñó el término *symbiotism* (simbiosis), que era neutro, para dejar claro que no se trataba de un caso de parasitismo, en el que uno de los organismos sale perjudicado. Y Anton de Bary fue el primero que usó públicamente ese término (en una conferencia que impartió en 1878), por lo que es frecuente que se le atribuya a él su acuñación¹.

Siendo estudiante de doctorado, Lynn Margulis quedó intrigada por los casos de herencia no mendeliana que se daban en la naturaleza, por ejemplo, los mutantes de la fotosíntesis en las plantas y en las algas, las mutaciones *petite* de las levaduras o la herencia cortical de *Paramecium*. En las células eucariotas no había genes desnudos; es evidente que debían tener en su interior sistemas genéticos bacterianos. Revisó la literatura científica sobre la herencia citoplasmática, que la llevó a predecir la existencia de otro tipo de DNA que no era el del genoma de la célula eucariota. En 1965 escribió por primera vez sobre su hipótesis del origen de la célula eucariota (o mitótica) a partir de asociaciones simbióticas bacterianas. Aquel artículo fue rechazado por quince publicaciones, hasta que James Danielli (coautor con Hugh Davson del modelo de sándwich de la membrana celular) lo aceptó para publicarlo en la revista *Journal of Theoretical Biology*, en 1967^{2,3}. Escribió luego una versión ampliada, en forma de libro, de la teoría del origen simbiótico de los orgánulos de la célula eucariota (mitocondrias, plastos, centriolos y el nucleocitoplasma). A pesar de ser un encargo que recibió de Academic Press, con los que ya había firmado un contrato, la editorial se retractó y lo canceló. Finalmente, Yale University Press publicó el libro en 1970 con el título *The Origin of the Eukaryotic Cell* y un prólogo del eminente ecólogo G. Evelyn Hutchinson. El desarrollo de la biología molecular y la aplicación de nuevas técnicas para el estudio de la ultraestructura celular aportaron pruebas suficientes para que la hipótesis de Lynn Margulis fuese aceptada. El investigador canadiense F.J.R. Taylor fue quien, en 1974, propuso el nombre de *teoría de la endosimbiosis seriada* (SET, *serial endosymbiotic theory*) para la teoría que explica el origen de las células con núcleo a partir de una serie de simbiosis bacterianas⁴. Luego vino la publicación del mencionado libro *Symbiosis in Cell Evolution*.

Lynn intuyó que, si hay orgánulos celulares que se originaron a partir de bacterias que tuvieron una vida inde-



Lynn Margulis y Mercè Piqueras en la Universidad de Valencia (2003).

pendiente, es posible que en la actualidad siga habiendo bacterias como aquellas que lleven una vida independiente. Ahora nadie duda de que los cloroplastos, que captan la energía para la célula vegetal, o las mitocondrias, que son las centrales productoras de energía y reguladoras del metabolismo celular, fueron en otro tiempo células independientes. Prueba de ello es que conservan todavía material genético y se dividen independientemente de la célula que las cobija. Además, el análisis de sus genomas ha demostrado que estos orgánulos tienen parientes que son células que han seguido la vida independiente que llevaban sus antepasados que formaron las uniones simbióticas con otras células. Ahora se sabe también que el genoma nuclear de la célula eucariótica es una quimera, con partes de origen bacteriano y otras que proceden de arqueas.

Dicen los economistas y sociólogos que, cuando se da una interacción continuada entre dos partes durante un largo período de tiempo, la cooperación pacífica es una medida equilibrada que suele evitar conflictos. En biología puede aplicarse este mismo principio: la cooperación suele proporcionar más ventajas que las guerras. Y a lo largo de la evolución, las relaciones simbióticas entre especies son muy frecuentes. Un repaso a la bibliografía de Lynn muestra su interés por la simbiosis entre especies de grupos muy diversos.

LYNN Y LA MICROBIOLOGÍA ESPAÑOLA

En la década de 1970, Lynn Margulis era considerada una experta en protistología, tanto en los aspectos ecológicos como en los estructurales y evolutivos de un grupo tan complejo de organismos. Aunque el mundo de los microbios la apasionaba, al principio no sentía especial

interés por los procariotas. Probablemente porque durante mucho tiempo las bacterias se estudiaron fundamentalmente desde el punto de vista de la microbiología clínica, como agentes infecciosos. Su primer contacto con ellos fue cuando empezó el estudio de los tapetes microbianos de la laguna Figueroa, en México, y los primeros estudios de la microbiota simbiótica de termes del desierto de Sonora, también en México (véase más adelante en este artículo). En 1983 empieza la colaboración de Lynn con el grupo que Ricardo Guerrero dirigía entonces en la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB). Era un equipo de microbiólogos («procariotólogos» sería el término más apropiado) que afrontaban el estudio de los microorganismos con una visión ecológica. Aquellos primeros estudios, que se llevaron a cabo en el lago de Banyoles y lagunas del mismo complejo cárstico y en algunas lagunas de montaña, fueron pioneros en la ciencia emergente de la ecología microbiana. Entre los resultados de aquellos años de investigación, merece destacarse la descripción de dos bacterias depredadoras, con un tipo de comportamiento diferente del de las pocas bacterias depredadoras conocidas hasta entonces y diferente también entre ellas. Su abundancia y el alto porcentaje de las células presa «infectadas» que se observaban en las muestras de ambientes naturales sugerían que podían desempeñar un papel significativo en el control de las poblaciones naturales de bacterias⁵.

En 1988, Ricardo Guerrero se traslada a la Universidad de Barcelona (el mismo año que Lynn Margulis pasa de la Universidad de Boston a la Universidad de Massachusetts-Amherst), donde dirige el grupo de ecogenética microbiana y Lynn también traslada allí su colaboración, si bien ambos siguen participando en proyectos con el grupo de la UAB, dirigido entonces por Isabel Esteve. Entre otros proyectos, cabe destacar el trabajo sobre los tapetes microbianos del delta del Ebro, que a lo largo de las últimas décadas han sido estudiados desde diferentes perspectivas.

En el mundo procariótico Lynn descubrió una apasionante diversidad fisiológica y genética, que plasmó magistralmente en el cuadro de los posibles metabolismos en la introducción del libro *Handbook of Protoctista*, que ella dirigió⁶. La relación profesional y personal con Ricardo Guerrero, que duró casi treinta años, fue muy fructífera: estancias de ella en España y de él en los Estados Unidos (aunque como *Adjunct Professor* de la Universidad de Massachusetts-Amherst no pertenecía al mismo departamento que Lynn, participaba en sus cursos); intercambio de estudiantes en sus respectivos laboratorios o para asistir a cursos y reuniones; trabajo de campo conjunto a uno y otro lado del Atlántico. A partir de muestras tomadas durante los cursos de ecología microbiana que Ricardo Guerrero organizaba en el Delta del Ebro, Lynn aisló espiroquetas gigantes que viven en los tapetes microbianos que allí se desarrollan. La primera espiroqueta aislada allí fue *Spirosymplokos deltaeiberi* y Lynn solía llamarla la «espiroqueta catalana». Luego ha sido aislada también en tapetes microbianos de Massachusetts (Estados Unidos) y de Baja California (México)⁷⁻⁸.



Simposios internacionales de la Fundación Ramón Areces en los que intervino Lynn Margulis.

LYNN, EDUCADORA Y DIVULGADORA

La mente de Lynn Margulis era como una esponja, que se empapaba del conocimiento que tenía a su alcance. Pero al mismo tiempo, ella también irradiaba conocimiento. Disfrutaba enseñando y comunicando sus ideas. Quienes, como Carmen Chica, la han ayudado en alguna ocasión a preparar alguna salida para realizar trabajo de campo de varios días, saben que Lynn no solo se preocupaba de alimentar las mentes de sus alumnos, sino que además se ocupaba de su sustento y preparaba de antemano comida para todos, aunque fuesen treinta o cuarenta.

Lynn contaba que, cuando siendo niña le preguntaban qué quería ser de mayor, respondía siempre «exploradora y escritora», aunque no tenía muy claro qué era lo que quería explorar y decía que todo aquello que no estuviese explorado. Con el tiempo, ambos deseos se hicieron realidad. Se dedicó a explorar, pero sus exploraciones fueron en ambientes de escala mucho menor a la de los ambientes que acostumbran a recorrer los exploradores clásicos. Aunque recorrió muchos países a lo largo de su vida, los mejores periplos eran los que hacía para indagar en el mundo invisible: con un microscopio exploraba paisajes microscópicos de gran belleza y podía escudriñar el interior de la célula para conocer su historia evolutiva. También fue escritora. Escribió para la comunidad científica y para el gran público; la escritura fue siempre un complemento a sus exploraciones. Como ella misma comentaba, pasaba gran parte de su tiempo haciendo «descripciones», es decir, generando artículos para explicar su trabajo y sus ideas a otros científicos y a estudiantes; dando clases y seminarios; impartiendo conferencias para ilustrar a personas con curiosidad; tomando notas y escribiendo sus observa-

ciones; recogiendo e interpretando el pensamiento y las ideas de otras personas; y preparando material divulgativo y didáctico (artículos, libros, vídeos, CD-ROM).

En algunos países hay «agencias de conferenciantes», empresas que, como las agencias artísticas que proporcionan un actor, cantante, músico, etc. a quien lo necesita para un espectáculo, proporcionan conferenciantes a quienes necesitan contar con alguno para algún acto. Con Lynn hubiesen tenido un filón, pero ella no necesitaba de agentes, recibía directamente invitaciones para impartir conferencias por los cinco continentes. En cuanto a sus libros de divulgación, tenían el éxito asegurado y su popularidad responde a la originalidad de los temas tratados y al entusiasmo que demostraba su autora. Sus obras, traducidas a muchas lenguas, ofrecen una nueva visión de la microbiología y de la biología en general; en ellas los microorganismos son siempre los protagonistas, ya se trate de explicar la evolución de los seres vivos, las características actuales de la atmósfera terrestre, la nutrición de los rumiantes o de los termes, o la regulación del clima. Además, sus libros son un apasionado alegato del papel fundamental de los microorganismos en el mantenimiento de la biota terrestre.

RELACIÓN CON ESPAÑA Y LATINOAMÉRICA

Desde muy joven, Lynn se sintió atraída por la cultura hispánica y por el español, lengua que aprendió a los dieciséis años, durante su primera estancia en México. Desde 1983 tuvo en España su segunda casa. Sus estancias eran frecuentes y aquí se ganó la admiración y la amistad de muchas personas. En 1985 participó por primera vez en un congreso de la SEM y luego lo haría en otros, así como en reuniones organizadas o coorganizadas por la SEM. Par-

ticipó en tres simposios internacionales de la Fundación Ramón Areces relacionados con la microbiología: «Nuevas fronteras en ecología microbiana y Reunión sobre las Actividades Internacionales de la American Society for Microbiology (ASM)», Barcelona, 11-13 de diciembre de 2001; «Las Sociedades de Microbiología de España, Portugal y América latina. Desafíos para el siglo XXI», Madrid, 19 y 20 de junio de 2003; y «Contribución de los microbios a la Biología», Barcelona, 27 y 28 de abril de 2006. La calidad y el prestigio de los conferenciantes y la presencia de Lynn Margulis fueron algunas de las claves del éxito —pero no las únicas— de esas reuniones. Los días 12 y 13 de noviembre de 2012, la misma Fundación Ramón Areces con la que ella colaboró en los mencionados simposios le rendirá un homenaje mediante otro simposio internacional.

Pocas provincias españolas debe de haber que Lynn no haya pisado, ya fuese para impartir una conferencia, realizar trabajo de campo o simplemente en viaje de placer con Ricardo Guerrero, ya que a ambos les apasionaba recorrer España. Habló de sus queridos microbios en foros muy diversos, desde escuelas, institutos, universidades o centros de investigación hasta centros culturales, museos, centros comerciales e incluso en palacios y castillos (en 2007, inauguró las nuevas instalaciones del castillo de la «Triste Condesa», en Arenas de San Pedro, Ávila). El lleno estaba siempre asegurado; a veces, si los organizadores hacían la vista gorda, el público que abarrotaba la sala se sentaba en escaleras o incluso en el suelo. Además de impartir conferencias y participar en cursos y reuniones científicas, realizó actividades de divulgación, colaboró en proyectos museísticos (CosmoCaixa) y expositivos (Medialab) y su única obra de ficción, *Peces luminosos* (Ed. Tusquets), se publicó antes en español que en inglés.

Los estudiantes la adoraban, tanto por sus ideas como por la manera que tenía de acercarse a ellos, de transmitirles su pasión por la biología. En 1995, durante una conversación que tuve con un joven estudiante de biología de la Universidad de Oviedo, le recomendé el libro *Microscosmos*, de Lynn Margulis, cuya edición española acababa de salir. «¿Se trata de la misma persona que explicó el origen de la célula eucariota mediante la endosimbiosis seriada?», me preguntó. Al responderle yo afirmativamente, replicó: «Aprendí esa teoría en primero de Biología, pero... ;nadie me dijo que Margulis era una mujer!... ;Ni que aún estaba viva!» Si aquella conversación se hubiese producido ahora, aquel estudiante no habría soltado la última frase de sorpresa. Lynn no está ya físicamente en este mundo, pero su recuerdo se mantendrá vivo a través de sus ideas, que ocupan ya un lugar destacado en la historia de la biología del siglo.

Cuando inició su colaboración con el grupo de Ricardo Guerrero, Lynn Margulis estaba estudiando los tapetes microbianos de la laguna Figueroa en Baja California (México), que analizó a partir de 1977. El descubrimiento de ambientes semejantes en otras partes del mundo ha confirmado que muchas de las especies representativas son cosmopolitas y podrían ser descendientes de los microorganismos que habitaban la Tierra primitiva. En México se despertó el interés de Lynn por las simbiosis entre los

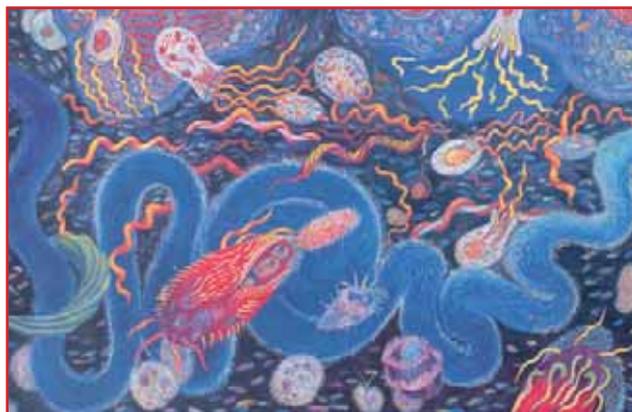
termes y la microbiota de su intestino; un estudio sobre la microbiota de *Pterotermes occidentis*, que vive en el desierto de Sonora (México) reveló la presencia de cuarenta especies (protistas y bacterias) que contribuían a la digestión de la madera⁹. El desarrollo de la ecología microbiana en México se debe en gran parte al estímulo que investigadores mexicanos recibieron de Lynn cuando ella se interesó por el estudio de los procariotas. Como responsable del Programa de Biología Planetaria de la NASA, tuvo becarios de muchas procedencias, entre los que ha habido bastantes latinoamericanos y españoles.

Más recientemente, Lynn colaboró con la joven Universidad de San Francisco de Quito (Ecuador). En 1999 un estudiante suyo viajó a la selva amazónica ecuatoriana, donde aquella universidad tiene un centro de investigación: la Estación de Biodiversidad Tiputini. El objetivo era recoger termes para estudiar los microorganismos simbiotes de estos insectos xilófagos. Allí, donde baobabs, ceibas, palmeras y ficus exuberantes apenas dejan pasar la luz, cualquier pedazo muerto de madera está repleto de termes. Lynn participó también en varios simposios y cursos en el centro internacional GAIAS (Galapagos Institute for the Arts and Sciences), en la isla de San Cristobal, en el archipiélago de las Galápagos, donde ahora se ha creado el Centro Lynn Margulis de Biología Evolutiva, dedicado a la promoción de la biología en docencia, investigación y divulgación en el ámbito de la América Latina. Antonio Lazcano, profesor de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), colaborador y amigo de Lynn, ha sido nombrado director de dicho centro. Uno de los objetivos del Centro Lynn Margulis es aprovechar Internet como instrumento de conocimiento común mediante recursos, bancos de datos e imágenes que serán de dominio público. Asimismo, promoverá la biología evolutiva en la comunidad inmigrante de origen hispano en los Estados Unidos, ya que en ese país existe una fuerte tradición de rechazo al darwinismo en algunos sectores de la sociedad.

La excelencia científica de Lynn Margulis fue reconocida con numerosos premios y doctorados honorarios. En España y en América Latina fue nombrada doctora *Honoris Causa* de las universidades Autónoma de Madrid (1998), de San Francisco de Quito (2001), de Valencia (2002); de Vigo (2007) y Autónoma de Barcelona (2007).

DESPUÉS DEL 22 DE NOVIEMBRE 2011

En un pasillo del edificio del Morrill Science Center de la Universidad de Massachusetts-Amherst, cerca del laboratorio donde trabajaba Lynn Margulis, cuelga un cuadro realizado por la pintora Shoshana Dubiner, que simboliza la endosimbiosis. Se colocó allí el 25 de marzo de 2012, durante el simposio que la mencionada universidad organizó para recordar la figura y la obra de su *Distinguished Professor* Lynn Margulis. Ricardo Guerrero y un grupo de amigas y amigos de Lynn de Barcelona asistimos al simposio, que contó con la participación de científicos que habían colaborado con Lynn o habían sido discípulos suyos.

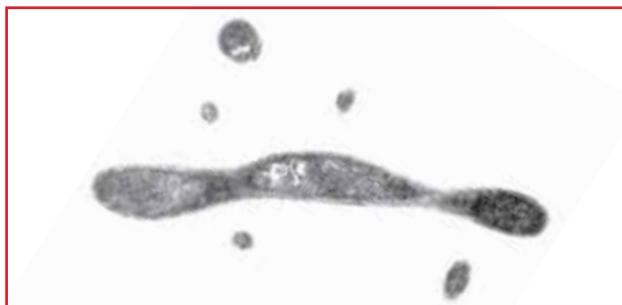


Endosymbiosis: Homage to Lynn Margulis por Soshana Dubiner © Shoshana Dubiner. www.cybermuseum.com

Entre ellos, Peter Westbroek (Universidad de Leiden), Marie-Odile Gobillard (Laboratorio Arago de Banyuls-sur-Mer, Francia), Antonio Lazcano (UNAM), Betsey Dexter Dyer (Wheaton College, Massachusetts), John Stolz (Duquesne University), Douglas Zook (Boston University), David Bermudes (California State University-Northridge) y Penelope Boston (New Mexico Institute of Mining and Technology).

Supongo que a todos nos embargaba un sentimiento dual. Por una parte, nos sentíamos felices de participar en aquel homenaje en el que la Universidad, el Departamento y el laboratorio de Lynn trabajaron durante meses y pusieron toda su dedicación y empeño para que fuese un éxito. Por otra, una gran tristeza de asistir por primera vez a un homenaje a Lynn en el que ella no estaría presente. Sin embargo, a lo largo de las sesiones del simposio, su presencia nos acompañó; en las fotos que iban desfilando por la pantalla, en los videos y grabaciones de voz que oíamos.

En el laboratorio de Lynn Margulis, sus colaboradores científicos y la infatigable Celeste, su ayudante desde hacía casi diez años, han estado inventariando sus pertenencias durante los últimos meses: libros, fósiles, láminas, artículos científicos... Separando los objetos personales, el material que era de su propiedad y el que pertenece a la Universidad. Lynn dejó su legado científico personal a su colega y compañero de tantos años Ricardo Guerrero, quien desea darle la máxima difusión y utilidad, poniéndolo al alcance de investigadores e historiadores de la ciencia y quizás exponiendo una parte al público. Es posible que una parte de ese legado vaya al Museo de Ciencias Naturales de Barcelona, un destino muy adecuado puesto que las ideas de Margulis —y las de James Lovelock— han inspirado la nueva exposición de referencia de este museo de titularidad pública, situado en el edificio Forum (ahora Museu Blau), un espacio que la ciudad condal ha ganado para la cultura. La historia de la Tierra se cuenta en el Museu Blau como un recorrido en el que, tras la aparición de la vida, el planeta ha evolucionado conjuntamente con los seres



La espiroqueta *Spirosymplokos deltaeiberi*, aislada en el Delta del Ebro. Margulis L, Navarrete A y Solé M. 1998 *Internatl Microbiol* 1: 27-34.

vivos, influyéndose mutuamente y en el que la simbiosis ha sido uno de los motores de la evolución biológica.

Al terminar el simposio en memoria de Lynn Margulis, antes de dejar Amherst fuimos a rendirle un último tributo. Nos acercamos hasta Puffers Pond, un estanque en las afueras del pueblo donde Lynn solía ir cada día al amanecer para nadar en sus aguas y donde su familia esparció sus cenizas pocos días después de su muerte. Ahora, quizás moléculas de aquellas cenizas formen parte de alguno de sus queridos protozoos —protocistas, los llamaría Lynn— o de *Pectinatella magnifica*, un briozoo que vive en ese estanque y tiene bacterias simbiotas en su interior; uno de los descubrimientos que Lynn hizo en los últimos años y con el que se entusiasmó, como se entusiasmaba cada vez que descubría o se enteraba de un nuevo ejemplo de simbiosis.

REFERENCIAS

1. Sapp J (1994) Evolution by association. A history of symbiosis. Oxford Univ. Press, Oxford, pp. 256.
2. Sagan L (1967) On the origin of mitosing cell. *J Theor Biol* 14:225-274, IN1-IN6
3. Guerrero R. (2011) Lynn Margulis (1938-2011), in search of the truth. *Int Microbiol* 14:183-186
4. Margulis L, McMenamin (1990) Kinetosome-centriolar DNA: Significance for endosymbiosis theory. *Treb Soc Cat Biol* 41:5-16.
5. Guerrero R, Pedró-Alió C, Esteve I, Mas J, Chase D, Margulis L (1986) Predatory prokaryotes: Predation and primary consumption evolved in bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2138-2142.
6. Margulis L (1990) Handbook of Protoctista. Jones and Bartlett Publishers, Boston, 914 pp.
7. Guerrero R, Ashen J, Solé M, Margulis L (1993) *Spirosymplokos deltaeiberi* nov. gen., nov. sp: variable-diameter composite spirochete from microbial mats. *Arch Microbiol* 160:461-470.
8. Margulis L, Navarrete A, Solé M. (1998) Cosmopolitan distribution of the large composite microbial mat spirochete, *Spirosymplokos deltaeiberi*. *Int Microbiol* 1:27-34.
9. To LP, Margulis L, Chase D, Nutting WL (1980) The symbiotic microbial community of the sonoran desert termite: *Pterotermes occidentalis*. *Biosystems* 13:109-137.

CARTEL del XVI CURSO SEM 2012

Unos trazos que representan el futuro «**Puente del Bicentenario**» sobre la Bahía de Cádiz, tratan de unir aquella Primera Constitución española del año 1812 («**La Pepa**») con los eventos de celebración del año 2012, entre los que se enmarca el «**XVI Curso de iniciación a la Investigación en Microbiología**».

En el artículo 366 de la Constitución de 1812 se recoge la necesidad de la formación a los niños en aquellas primitivas escuelas; dos siglos más tarde, la SEM, en su cita anual, pretende con estos Cursos introducir a los jóvenes (licenciados y graduados) en el apasionante mundo de la investigación en Microbiología.



«XVI Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología» (10-14 de Abril)

Jesús Manuel Cantoral Fernández. Coordinador del Curso.



Profesores y alumnos del Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología frente al monumento a la Constitución de 1812.



El Dr. Cantoral, organizador del Curso, entregó a la Dra. Margarita Salas tras su conferencia un diploma acreditativo y una edición filatélica especial conmemorativa del Bicentenario de la Constitución de Cádiz.

Del 10 al 14 de abril de 2012 se celebró en la Universidad de Cádiz (UCA) el **«XVI Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología»** al que asistieron 38 alumnos de 18 Universidades españolas y 10 de la de Cádiz. Fueron aceptados todos los que lo solicitaron en la fecha determinada y, a los que lo hicieron fuera de plazo, se les envió el formato electrónico del Curso.

El acto de apertura estuvo presidido por el Vicerrector de Investigación y Transferencia de la UCA, Dr. Manuel Bethencourt; el Presidente de la SEM, Dr. Ricardo Guerrero, así como por los Decanos de las Facultades de Ciencias de la Educación, Dr. José María Mariscal; Ciencias del Mar y Ambientales, Dr. José María Quiroga; Ciencias, Dra. Dolores Galindo y el Coordinador del Curso, Dr. Jesús Manuel Cantoral. Tras unas palabras de bienvenida a los alumnos del Curso, así como la presentación del mismo, el Dr. Ricardo Guerrero dió la Conferencia Inaugural titulada: **«Microbiología para el s. XXI: Cambios de paradigma en ciencia y progreso de la sociedad»**. Terminada la exposición animó a los alumnos a incorporarse a la gran familia de la SEM.

El curso estuvo estructurado en temáticas diferentes, tratando de abarcar la mayoría de los campos en los que se especializa la Microbiología. Así, la parte introductoria con referencia a las **GENERALIDADES DE LOS MICROORGANISMOS** estuvo representada por tres Conferencias: **«Microbiología y Sociedad»** que impartió el Dr. José Mira; **«Conceptos, modelos y lenguajes en Microbiología: de los Postulados de Koch a la Microbiología sintética»**, a cargo del Dr. José M. Peinado y **«El apasionante mundo de los protozoos ciliados o las razones de su importancia en la Microbiología»** impartida por el Dr. Juan Carlos Gutiérrez. La parte de **MICROBIOLOGÍA CLÍNICA** estuvo centrada en dos Conferencias: **«El laboratorio de microbiología en la práctica clínica»** y **«Biología molecular en el diagnóstico microbiológico clínico»** impartidas

respectivamente por la Dra. Carolina Freyre y el Dr. Manuel Antonio Rodríguez.

El apartado dedicado a los **MICROORGANISMOS EUCARIOTAS. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS. ECOLOGÍA MICROBIANA** estuvo ampliamente representado por 6 Conferencias en una intensiva jornada: **«Papel de los hongos y las enzimas en diferentes procesos de interés biotecnológico»** por la Dra. María Jesús Martínez; **«Micotoxinas: desde las plagas de Egipto a la legislación y el control»** por la Dra. Covadonga Vázquez; **«Microbiología mas allá de las bacterias: Las levaduras también cuentan»** impartida por Dr. César Roncero; **«Las levaduras enológicas como herramientas en la optimización de la calidad de los vinos. ¿Se puede elaborar un vino a la carta?»** por la Dra. María Esther Rodríguez; **«Aproximaciones microbiológicas para combatir las enfermedades de madera de vid»** por el Dr. Juan José Rubio e **«Interacciones microbianas. Micoparasitismo»** por el Dr. Santiago Gutiérrez.

Las sesiones del último día se centraron en diferentes aspectos de la **BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA** con 3 Conferencias: **«Caminando hacia una nueva vacuna contra la tuberculosis»**, **«Levaduras humanizadas: Biomedicina con un pan debajo del brazo»** y **«Microorganismos extremófilos: la vida al límite»**, impartidas respectivamente por el Dr. Carlos Martín, Dr. Víctor J. Cid y Dr. Antonio Ventosa. Al final de la mañana contamos con la presencia de la insigne Dra. Margarita Salas que nos habló de los últimos avances en **«El bacteriófago Ø29. De la Biología Molecular a la Biotecnología»**. Dado el prestigio de la Dra. Salas, esta Conferencia se abrió al público para que pudieran asistir tanto alumnos como profesores de la comunidad universitaria, contando con la presencia del Rector de la UCA, Dr. Eduardo González. Al final de la misma, la conferenciante respondió a las preguntas planteadas por la audiencia y animó a los alumnos presentes a incorporarse al apasionante mundo de la investigación.

La Conferencia de Clausura corrió a cargo del Dr. Daniel Ramón, que con el título **«De la Microbiología clásica a la moderna Biotecnología»**, animó a los alumnos del Curso a embarcarse en alguno de los distintos campos de la investigación tanto en Microbiología como en Biotecnología. Finalmente el Dr. Manuel Bustos de la UCA hizo unas pequeñas reflexiones con la Conferencia titulada **«La constitución de 1812 en perspectiva»**. Al acabar la misma se hizo entrega de los **«Diplomas de asistencia»** a los alumnos del Curso, junto con un pequeño recuerdo consistente en un sobre de las Efemérides del Bicentenario con el sello y el matasellos del primer día de circulación (presentado en Cádiz el 16 de marzo de 2012), de gran valor para los amantes de la filatelia, gracias a la colaboración de D. José Luis Fernández (Subdirector de Filatelia de Correos).

A lo largo del Curso se hicieron varias actividades, entre las que destacamos la visita la Bodega González Byass en Jerez de la Frontera, para que los alumnos pudieran familiarizarse con la elaboración de estos singulares vinos obtenidos en crianza biológica bajo «velo de flor». Otra de las actividades fue una **«Cata dirigida de vinos básicos de diferentes variedades de vid cultivadas en España»** llevada a cabo por el Vicepresidente de la Asociación Española de Enólogos y profesor de la UCA, Dr. Juan Gómez. Los alumnos también visitaron la **«Planta de Cultivos Marinos del CASEM»** guiados por Dña. Rosa Vázquez.

Debido a las celebraciones del Bicentenario de la Constitución del 1812 (**«La Pepa»**) los alumnos visitaron los lugares históricos de la trimilenaria Ciudad de Cádiz (**«Tacita de Plata»**), así se visitó el Ayuntamiento, la Plaza de España con el Monumento a la primera Constitución de 1812 y el Oratorio de San Felipe Neri, donde se redactó y promulgó el 19 de Marzo. Los alumnos del Curso tuvieron el privilegio

de ver el manuscrito original con firmas de los Diputados que redactaron en Cádiz esa primera Constitución.

Desde estas líneas mi más sincero agradecimiento a los alumnos que asistieron al Curso, a los profesores que lo impartieron, a las instituciones tanto públicas como privadas que lo financiaron y a los componentes del grupo de **«Microbiología Aplicada y Biotecnología Fúngica»** por su esfuerzo y dedicación a la preparación y desarrollo del mismo: María, Cuca, Kiko, Carlos, Eugenia, Vicky y Eva. En mi opinión y tras la experiencia de la organización de estos Cursos en su Xª (2006) y XVIª (2012) Edición, son una magnífica oportunidad para estos alumnos aventajados que están ya muy orientados hacia la investigación en Microbiología, a fin de cuentas ellos son el futuro de la SEM.

En el siguiente enlace encontrarás el Libro del Curso con el Resumen de las Conferencias y diferentes actos en el transcurso del mismo:

www.uca.es/dpto/C125/XVI-curso-iniciacion-sem-2012/curso-sem-2012.pdf

Y en los siguientes enlaces una selección de Fotos del Curso:

http://www.uca.es/dpto/C125/XVI-curso-iniciacion-sem-2012/fotos_curso_sem2012_1.zip

http://www.uca.es/dpto/C125/XVI-curso-iniciacion-sem-2012/fotos_curso_sem2012_2.zip

http://www.uca.es/dpto/C125/XVI-curso-iniciacion-sem-2012/fotos_curso_sem2012_3.zip

Saludos cordiales desde la **«Tacita de Plata»** sede de las conmemoraciones del Bicentenario de **«La Pepa»**.

II Taller de Técnicas de Estudio de Microorganismos Extremófilos

Los ambientes extremos son aquellos en los que la temperatura, la acidez, la salinidad, la presión o el nivel de radiación son hostiles para la vida, desde un punto de vista antropocéntrico. Los organismos que viven en estos ambientes se denominan extremófilos y están tan perfectamente adaptados al medio que todos sus componentes funcionan de manera óptima en esas condiciones extremas. Entre los extremófilos se encuentran microorganismos termófilos, halófilos, acidófilos y alcalófilos, entre otros. El interés de su estudio tiene una vertiente básica, relacionada con los procesos de origen, evolución y diversificación de la vida en la Tierra y su posible presencia en otros planetas, y otra aplicada, dada la gran cantidad de sustancias con interés biotecnológico producidas por estos microorganismos.

Durante la semana del 16 al 20 de julio se va a celebrar en la Universidad de Alicante el II Taller de Técnicas de Estudio de Microorganismos Extremófilos. En este curso se presentarán las técnicas más actuales de estudio de microorganismos extremófilos, desde la caracterización bioquímica de sus enzimas hasta el análisis de las comunidades microbianas que habitan ambientes extremos mediante la utilización de técnicas moleculares y herramientas bioinformáticas. El curso incluye conferencias y un apretado programa de prácticas en el que los participantes aprenderán diferentes técnicas de investigación *in vivo*, *in vitro* e *in silico*. Los profesores del curso son en su gran mayoría investigadores miembros de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos.

El curso va destinado a licenciados/graduados en Biología o titulaciones afines así como a estudiantes de los últimos cursos de las mismas que lleven o vayan a llevar a cabo trabajos de investigación con microorganismos extremófilos. El precio de inscripción es de 70 euros para estudiantes y desempleados y de 90 euros para profesionales en activo. El plazo de matrícula se abre el 24 de abril y permanecerá abierto mientras queden plazas disponibles.

Más información en <http://www.univerano.ua.es/es/curso.asp?id=227>

X workshop «Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria»

(<http://jornades.uab.cat/workshopmrama>)

Josep Yuste.



El XI workshop MRAMA se celebrará del 20 al 23 de noviembre de 2012.



Del 22 al 25 de noviembre de 2011, tuvo lugar el X aniversario del *workshop* sobre Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria (MRAMA), en el salón de actos de la Facultad de Veterinaria de la *Universitat Autònoma de Barcelona* (UAB; Bellaterra, Cerdanyola del Vallès), dirigido por los Drs. Marta Capellas Puig y Josep Yuste Puigvert, profesores de Ciencia y tecnología de los alimentos, y organizado por el *Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments* (CERPTA) y el Departamento de Ciencia animal y de los alimentos de la UAB. Celebrado anualmente, el *workshop* MRAMA, de un contenido aplicado y de futuro, amplía y difunde los conocimientos teóricos y prácticos sobre métodos innovadores para detectar, contar, aislar y caracterizar rápidamente los microorganismos, y sus metabolitos, habituales en los alimentos y el agua.

Como cada año, el ponente principal fue el profesor **Dr. Daniel Y. C. Fung**, de la *Kansas State University* (KSU; Manhattan, Kansas, EUA). El Dr. Fung es catedrático de Ciencia de los alimentos del *Department of Animal sciences and industry*; su especialidad es la microbiología de los alimentos y, dentro de este campo, es un científico de prestigio internacional en el ámbito de los métodos rápidos y miniaturizados y la automatización. Director del *workshop* internacional sobre Métodos rápidos y automatización en microbiología, celebrado anualmente durante 30 años en Manhattan, KS (1980-2010). Ganador del Premio Internacional del *Institute of Food Technologists* (IFT) en 1997, por la organización de esta serie única de *workshops*; el Premio Waksman al Educador Excepcional de la *Society for Industrial Microbiology* en 2001; el Premio a la Excelencia en la Docencia Universitaria del *College of Agriculture* de la KSU en 2005; el Premio Carl R. Fellers del IFT en 2006, por su destacada trayectoria en Ciencia y

tecnología de los alimentos; el Premio Inaugural al Educador Excepcional en Seguridad Alimentaria de la revista *Food Safety* y ConAgra Foods Inc en 2007, por su carrera docente: más de 18.000 alumnos y director de 116 estudiantes graduados (33 doctorados y 83 másters); y el Premio al Servicio Distinguido de la *Chinese American Microbiology Society* en 2009, por sus excepcionales funciones como presidente, tesorero y secretario (2000-2009). Fundador y editor del *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology* (1992-2009). Miembro de Honor de la *American Academy of Microbiology* (1985), el IFT (1995), y la *International Academy of Food Science and Technology* (IAFoST; Reino Unido, 2001); y Promoción Inaugural de Miembros de Honor de la IAFoST (1998). En 1995, fue invitado a dar una conferencia en el Instituto Pasteur de París (Francia) con motivo de la conmemoración del 100º aniversario de la muerte de Louis Pasteur. El Dr. Fung tiene, pues, una larga experiencia en el tema del *workshop*, lo que le permite ofrecer ponencias de gran calidad, de contenidos muy ricos y completos sobre las diversas disciplinas de la microbiología alimentaria. De hecho, al Dr. Fung, también se le conoce como el «padre» de los métodos microbiológicos miniaturizados, porque en este campo fue pionero y actualmente es uno de los investigadores más expertos y especializados del mundo, y ha ensayado con resultados positivos y ha aportado un alto número de técnicas innovadoras. Indudablemente, su presencia fue muy provechosa, y contribuyó a un buen aprendizaje de los métodos microbiológicos más recientes y eficaces.

El *workshop* contó con otros conferenciantes de renombre. Se encargó de la ponencia inaugural la **Dra. Cécile Lahellec**, directora honoraria de investigación de la *Agen-*

ce Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), en Alfort (Francia), que informó exhaustivamente sobre la evolución de la seguridad y los métodos microbiológicos alimentarios. El **Dr. Armand Sánchez Bonastre**, director del Servicio Veterinario de Genética Molecular de la UAB y profesor de nuestro Departamento, habló sobre la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), método genético puntero para detectar e identificar microorganismos. El **Dr. Fabrizio Ceciliani**, de la *Università degli Studi di Milano* (Italia) expuso algunos de los resultados del proyecto FoBos, en el que están implicados, entre otros, su grupo de investigación y el del Dr. Sánchez. El **Dr. Stephen Wessels**, del DHI (Danish Hydraulic Institute), en Hørsholm (Dinamarca), explicó las consecuencias de la aplicación del reglamento que regula la comercialización de biocidas en los países de la Unión Europea. El **Sr. David Tomás Fornés**, responsable del laboratorio de Microbiología y Biología molecular de ainia.centro tecnológico, en Paterna, explicó su experiencia en los requisitos y los aspectos prácticos para validar y aplicar métodos alternativos en el laboratorio de microbiología. El **Dr. Daniel Ramón Vidal**, consejero delegado de Biópolis SL, en Paterna, transmitió a los asistentes sus amplios conocimientos sobre el desarrollo, el uso y la detección de alimentos transgénicos, y la nutrigenética y la nutrigenómica en alimentación. La **Sra. Sarah Lafuente van der Sluis** y la **Dra. Mercè de Simón Serra**, del Servicio de Epidemiología y el Servicio de Microbiología de la Agencia de Salud Pública de Barcelona, respectivamente, participaron con una interesante ponencia sobre los aspectos epidemiológicos y microbiológico de *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*.

Además, asistieron importantes empresas de microbiología, que explicaron y mostraron sus productos (funcionamiento, ventajas y limitaciones, y técnicas en que se basan). Estas empresas, que patrocinaron el X *workshop* MRAMA, fueron: 3M España SA, AES CHEMUNEX España SA, Becton Dickinson SA (parte de BD Diagnostic Systems), bioMérieux España SA, Bio-Rad Laboratories SA, Bioser SA, BIOTECON Diagnostics GmbH (Alemania), CEERAM SAS (Francia), Geron Srl (Italia), IDEXX Laboratorios SL, IUL SA, IZASA SA (parte de Werfen Group), Life Technologies SA, MicroPlanet Laboratorios SL (distribuidor de BioControl Systems Inc y LIOFILCHEM Srl), Millipore Ibérica SAU (parte de Merck KgaA), Nirco SL (distribuidor de Neogen Europe Ltd), Oxoid SA (parte de Thermo Fisher Scientific Inc), y Sigma-Aldrich Química SA. También asistieron Diagnostic International Distribution Spa (Italia), Orion Diagnostica Oy (Finlandia) y Prestodiag (Francia).

También colaboran con el *workshop* MRAMA: Diversey España SL, ACONSA SL (Asesoría y Consultoría Sanitaria), la *Associació Catalana de Ciències de l'Alimentació* (ACCA), EyPASA – Revista *Alimentaria* (publicación oficial del *workshop*), la Sociedad Española de Microbiología (SEM) – Comisión de Normalización y Validación, y la Sociedad Española de Químicos Cosméticos (SEQC).

El *workshop* ha sido una actividad exitosa, tanto por los ponentes y sus ponencias, como por la asistencia de

público y la participación de las empresas de microbiología. Reunió a 186 personas, de diversos colectivos nacionales e internacionales:

- Laboratorios, asesorías y consultorías, e industrias de los ámbitos agroalimentario (entre otros, los sectores cárnico y avícola, lácteo, cacao, bebidas analcohólicas —aguas, zumos de frutas, bebidas refrescantes— y alcohólicas —vitivinícola—, alimentación infantil, ingredientes y aditivos), cosmético, productos para limpieza y desinfección, electrónico, etc.
- Profesores y estudiantes de la UAB (licenciaturas de Ciencia y tecnología de los alimentos, Veterinaria, Biología, Biotecnología, Bioquímica, Traducción e interpretación; tercer ciclo; Departamentos de Ciencia animal y de los alimentos, Sanidad y anatomía animales, Genética y microbiología, Química) y otras universidades, como la *Universitat de Barcelona*, la *Universitat Oberta de Catalunya* (Terrassa), la Universidad de Alicante (San Vicente del Raspeig), la *University of Surrey* (Guildford, Reino Unido), y la *Poznan University of Life Sciences* (Poznań).
- Otros centros de investigación: *Centre de Recerca en Sanitat Animal* (CreSA); *Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries* (IRTA); *Centre de Noves Tecnologies i Processos Alimentaris* (CENTA); AZTI – Tecnalia; Cirad (Montpellier, Francia); *Danish Hydraulic Institute* (DHI; Hørsholm, Dinamarca); *Institute of Meat Hygiene and Technology* (Belgrado, Serbia); y *Kimron Veterinary Institute* (Beit Dagan, Israel).
- Administración: Agencia de Salud Pública de Barcelona; *Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel* (Instituto Central del Servicio Médico del Ejército; Kronshagen, Alemania); MTT (*Agrifood Research Finland*; Jokioinen, Finlandia); *Israel Laboratory Accreditation Authority* (Lod, Israel); y *Kenya Bureau of Standards* (Nairobi, Kenia).

Durante tres días, se realizaron unas **sesiones prácticas en el laboratorio**, en las que se trabajó con algunos equipos y los productos más innovadores del campo de los métodos rápidos y la automatización. Y se organizaron tres **talleres**: (i) Uso de los recursos para microbiología predictiva disponibles en internet, a cargo de la Sra. Montse Vila Brugalla (Servicio de Control alimentario de mercados centrales de la Agencia de Salud Pública de Barcelona); (ii) Inmunosensores electroquímicos para detectar bacterias patógenas, a cargo de la Dra. María Isabel Pividori Gurgo y las Sras. Susana Liébana Girona y Tamara Laube Chávez (Departamento de Química de la UAB); (iii) Cuantificación de micotoxinas y alérgenos por inmunodifusión lateral, a cargo de Geron Srl.

Hubo una **mesa redonda**, con el Dr. Fung, otros ponentes, y profesionales de empresas de microbiología y laboratorios de análisis, moderada por el **Dr. José Juan**

IV Congreso del Grupo Especializado en Biología de Microorganismos Patógenos

Estimados socios de la SEM,

El Grupo especializado en Biología de Microorganismos Patógenos anuncia su IV Congreso que tendrá lugar en **Badajoz entre los días 5 y 7 de Julio de 2012.**

Esta es una cita bianual que atrae a una activa y diversa, tanto nacional como internacional, comunidad de investigadores, clínicos, profesionales y estudiantes para presentar y discutir sobre los aspectos más fundamentales de los microorganismos patógenos, desde su biología básica hasta los aspectos más clínicos. Este congreso está organizado en tres simposios principales: Bacterias Patógenas, Hongos Patógenos, y Resistencias y Nuevas Drogas. Además, como fruto de esta reunión se editará un libro con toda la información presentada en el mismo. Por tanto, este congreso es una magnífica oportunidad para microbiólogos que trabajan con cualquier patógeno microbiano para diseminar conocimiento, fertilizar ideas y desarrollar colaboraciones en este campo particular.

Contamos con todos vosotros para que nuestra reunión sea, una vez más, un éxito, tanto desde el punto de vista científico como social.

¡Te esperamos en Badajoz!

El Comité Organizador

Rodríguez Jerez, investigador principal del grupo de investigación BIORISC de la UAB y profesor de nuestro Departamento. Con la mesa redonda, sobre la instrumentación en microbiología de los alimentos, las tendencias del mercado mundial y otros temas de actualidad del sector, y las ponencias del *workshop*, se constató la importan-

cia de la automatización en el laboratorio; la creciente aplicación del análisis por PCR; la diversidad de necesidades en cuanto a métodos microbiológicos, según el sector (p. ej., productos frescos, comidas preparadas, etc.); así como los progresos en el desarrollo de soluciones que aportan rapidez, precisión, sensibilidad y especificidad.

Elecciones para la renovación parcial de la Junta Directiva de la SEM

Querido amigo/a y compañero/a:

Corresponde a finales del presente año la renovación parcial de la Junta Directiva de la SEM en los cargos de Presidente electo, Tesorero y tres Vocales (Art. 15 de nuestros estatutos). El Tesorero deberá ser un socio residente en Madrid, sede social de la asociación (Art. 11). Se pueden efectuar propuestas para cualquiera de estos cargos por un mínimo de 20 socios, y es potestativo de la Junta Directiva proclamar las candidaturas recibidas y, si lo estima oportuno, completarlas o proponer otras (Art. 14).

Según acuerdo de la Junta Directiva en la reunión celebrada el pasado día 17 de febrero, la fecha límite de recepción de propuestas es la del 15 de octubre de 2012. Posteriormente, la Junta Directiva celebrará la reunión preceptiva para proclamar las candidaturas y determinar el calendario de votación.

Por la Junta Directiva,



Humberto Martín
Secretario de la SEM

Gripe Aviar: La libertad de investigación, a debate

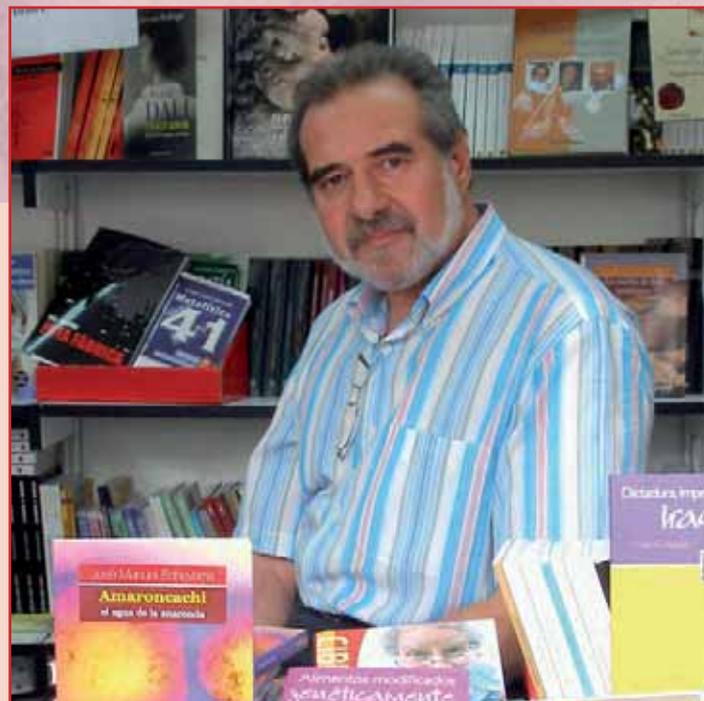
NÚMERO 53

26

SEM@FORO

JUN.
2012

José Manuel Echevarría Mayo. (Madrid, 1953), es desde 1990 Jefe de Servicio de Microbiología Diagnóstica en el Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III. Es autor en más de 200 artículos publicados tanto en revistas científicas como en el ámbito divulgativo. Es además, autor de dos novelas (Ed. Meteora), *Amaroncachi*, *el agua de la anaconda* (2007) y *¿Alerta Pandémica?* (2011).



La gripe es, tal vez, la enfermedad infecciosa más extendida entre los seres humanos. España registra picos máximos de entre 20.000 y 200.000 casos nuevos en una sola semana durante las temporadas gripales normales, esencialmente entre los niños y los adolescentes¹. Globalmente, la letalidad de la gripe es baja, del 0.6 al 1.4% en nuestro país, y las muertes se acumulan esencialmente entre los ancianos y los pacientes aquejados de patologías respiratorias y cardiovasculares crónicas². Las muertes en pacientes jóvenes y previamente sanos suceden todos los años, son muy infrecuentes, y parecen responder a fenómenos inmunopatológicos y a condicionantes genéticos de

susceptibilidad individual que no guardan relación con las características del virus involucrado^{3,4}.

LAS PANDEMIAS GRIPALES Y LA «GRIPE A NUEVA»

Los virus gripales del tipo A son los únicos capaces de producir pandemias, entendiendo como tales las epidemias de dimensión excepcional y de extensión global. Se trata de un linaje viral propio de las aves, pero cuyos miembros están dotados de una notable habilidad para realizar saltos de

especie hacia los mamíferos, incluida nuestra propia especie. Las pandemias suceden cuando dicha adaptación involucra un subtipo de virus que es nuevo para nosotros, y responden a la inexistencia de inmunidad protectora entre la población. Este concepto no rezó, sin embargo, para la pandemia por virus del subtipo H1 declarada en Mayo de 2009 (la «gripe A nueva»), que se cerró oficialmente en 2011 en medio de una intensa polémica sobre las circunstancias de su declaración^{5,6}.

La declaración de esa pandemia por parte de la OMS fue formalmente correcta, ya que se atuvo a lo establecido en los documentos que regulan los niveles de alerta del sistema internacional de vigilancia de la enfermedad. Sin embargo, ello sólo pudo ser así merced a la introducción de algunos cambios importantes en dichos documentos que comenzaron a gestarse seis años atrás, y que entraron en vigor muy poco antes de que se caracterizase por primera vez el virus pandémico. El principal de ellos consistió en eliminar la exigencia de que un virus gripal tipo A hubiese de pertenecer a un subtipo nuevo para la especie humana para poder justificar la puesta del sistema de vigilancia en el nivel de máxima alerta, ampliando tal consideración a cualquier virus suficientemente evolucionado con anterioridad en animales frente al que no exista inmunidad entre la población, con independencia del subtipo al que pertenezca. Esta modificación, que incluye un juicio sobre la antigenicidad de estos virus que puede resultar problemático y especulativo, amparó la declaración de la alerta pandémica, y continúa vigente a día de hoy.

En Mayo de 2009, existían ya razones suficientes para dudar que un virus gripal del subtipo H1 pudiese ser capaz de originar un problema epidémico serio⁷, y tales razones se vieron pronto reforzadas por nuevos conocimientos⁸. Los hechos de la pandemia ilustraron luego la pertinencia de esas razones. Por referirme de nuevo a España, el pico de incidencia de la gripe en la temporada 2009-2010 (~350 casos/100.000h)¹ se mantuvo dentro del rango de los registrados en las trece temporadas anteriores, y la letalidad (0.05%) fue inferior en más de un 90% al límite bajo del rango estimado para el período 1983-2002², ya mencionado antes. Los datos sobre letalidad obtenidos en Inglaterra fueron algo más elevados (0.26%)⁹, pero confirmaron que esta epidemia gripal se cuenta ya entre las más benignas en cuanto a la mortalidad producida. En consecuencia, es legítimo dudar que los criterios vigentes para declarar una alerta pandémica por gripe sean acertados, y pienso que igualmente lo es plantear que se reestablezcan los antiguos criterios antes de que se presente una nueva circunstancia que amenace con reproducir la situación ya vivida. Declarar una situación de alerta pandémica tiene siempre importantes repercusiones económicas y sociales, y solo debe hacerse cuando las circunstancias lo justifiquen cumplidamente.

LA GRIPE AVIAR Y SU AMENAZA PANDÉMICA

Todos los subtipos conocidos de virus gripales tipo A han sido hallados en aves, y dos de ellos (H6 y H8) no se han encontrado nunca, hasta donde conozco, entre los

mamíferos. Estos virus son, por tanto, virus aviares, y solo tres de sus diez subtipos (H1, H2 y H3) han logrado hasta la fecha saltar con éxito a la especie humana.

Sin embargo, desde el año 1997 sabemos que se producen esporádicamente infecciones humanas de origen zoonótico por otros subtipos, aunque esos virus no puedan diseminarse luego entre las personas. Hay evidencia de que esto ha sucedido ya con virus de los subtipos H5, H7 y H9. La gran mayoría de esas infecciones han sido causadas por virus del subtipo H5, que han producido 582 casos de enfermedad humana y 344 muertes (60%) en los últimos quince años. Una letalidad tan elevada justifica que la eventual adaptación del subtipo H5 a los seres humanos sea causa de preocupación, y fue esto lo que motivó en su día la revisión de los criterios de declaración de pandemia gripal que mencioné antes. No obstante, nada predice con certeza que un hipotético linaje viral de subtipo H5 adaptado ya a nuestra especie deba exhibir esa letalidad, aunque tampoco nada prediga lo contrario.

Por consiguiente, descubrir qué cambios genéticos se requieren para que un virus del subtipo H5 se adapte con éxito a nuestra especie podría ser importante para enfrentar mejor la pandemia que dicho evento desataría. Al generar o seleccionar en el laboratorio variantes de estos virus para investigar su capacidad de transmitirse entre las personas, el modelo experimental de elección es el del hurón. Utilizando dicho modelo, se supo hace pocos meses que dos grupos de investigación independientes habían logrado seleccionar variantes de virus del subtipo H5 capaces de transmitirse eficazmente entre los hurones, lo que hace muy probable que puedan hacerlo asimismo entre las personas¹⁰. Los investigadores habrían logrado, además, identificar las mutaciones responsables de esa adaptación. Por el momento, se ha bloqueado la publicación detallada de esos resultados en tanto se analizan los riesgos que de ello podrían derivarse para la seguridad de las personas, tratando de llegar a una decisión consensuada. El negro pájaro de la censura planea, lógicamente, sobre este paisaje.

LÍMITES A LA LIBERTAD DE INVESTIGACIÓN

«La diferencia entre la ficción y la realidad es que la primera debe resultar creíble». La frase es de Mark Twain, y tiene más de un siglo. Hoy, lo que con mayor o menor grado de conocimiento técnico y credibilidad se ha planteado en la literatura de ficción científica más reciente¹¹⁻¹⁴ parece que se nos ha colado en la realidad. Mucho de lo que se imagina en esas ficciones resulta ya posible, y sería muy irresponsable tratar la cuestión con ligereza.

La libertad de investigación se halla, como concepto, sometida a juicio con ocasión de este debate, que afecta en general a la que ya se había dado en llamar «investigación de doble uso»¹⁵. Se trata de juzgar los beneficios que se deriven de la obtención y la publicación de unos determinados resultados y de sopesarlos con mucho cuidado frente a los riesgos que se generen. Aunque el origen del material peligroso no incluya este asunto en el debate, algo similar sucede

desde hace años con la cuestión de destruir o no las reservas existentes de virus de la viruela, un tema que se discute recurrentemente en el seno de la OMS sin que se llegue nunca a materializar esa destrucción total que se acordó en su día. Personalmente, no me convencen los argumentos que se esgrimen una y otra vez para que dichas reservas continúen existiendo -como expresé con total claridad en la única ocasión en que tuve el honor de representar oficialmente a España en las conversaciones-, y con esto de dar libre difusión a los resultados de estas investigaciones sobre virus de la gripe aviar me sucede, por ahora, lo mismo. Estimar la probabilidad de que un virus H5 aviar pueda acumular espontáneamente esas mutaciones en la naturaleza está sujeto a una gran incertidumbre; y es, además, muy poco probable que sean esas las únicas que harían posible su adaptación a la especie humana. La valoración objetiva de los beneficios resulta, por consiguiente, muy problemática en este caso. Por el contrario, los riesgos parecen mucho más sencillos de valorar, ya que la diseminación —fortuita o intencionada— de esas variantes originaría, con toda probabilidad, una situación de pandemia gripal que tal vez podría ser especialmente grave.

El debate al que me refiero se planteó originalmente en torno a la publicación de los resultados de esas investigaciones, pero dudo que la difusión de esa información vaya a depender en último extremo de que se produzcan o no publicaciones formales. Más tarde o más temprano se filtrará la información a quienes interese, otra cosa sería muy sorprendente. Incluso no puede descartarse que los propios virus ya creados terminen por escapar de su encierro actual a pesar de todas las precauciones que se hayan tomado, como sucede —en tributo al caos que gobierna el Universo— con los dinosaurios clónicos de Jurassic Park¹⁶; o —por intención humana— con cierto filovirus causante de fiebre hemorrágica¹¹, o con la variante de hantavirus pulmonar protagonista de otro relato más reciente¹³. Así pues, estoy de acuerdo en considerar que la discusión se centre más bien en si se deben o no permitir en lo sucesivo las investigaciones que presenten un riesgo alto de generar materiales potencialmente letales para muchas personas¹⁰, como lo podrían tal vez ser estas variantes de virus gripal. Y si prohibirlas por completo suena excesivo, pienso que al menos habría de decidirse bajo qué condiciones se financiarán con fondos públicos, y qué límites se pondrán a las que puedan fi-

nanciarse con fondos privados. Es ahí donde está el auténtico debate, y estimo que sólo desde esa perspectiva podrá llegarse a conclusiones útiles. La clave estaría, creo yo, en extremar el rigor en cuanto a la evaluación de los posibles beneficios cuando los riesgos sean serios y evidentes, exigiendo mejores argumentos que los que yo, personalmente, puedo apreciar en el caso concreto al que me he referido.

REFERENCIAS

1. Larrauri A. Evolución de la pandemia por A(H1N1) 2009 en España. Informe presentado al Grupo de Trabajo de Vigilancia de la Gripe en España (SVGE). Madrid, 20 de Abril de 2010.
2. de Mateo S. La importancia de la vigilancia en el control y la prevención de la gripe en España. *Vacunas* 2002; 3(S1):9-13.
3. Monsalvo AC et al. Severe pandemic H1N1 influenza disease due to pathogenic immune complexes. *Nat Med* 2011; 17:195-199.
4. Everitt AR et al. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. *Nature* 2012; doi: 10.1038/nature10921 (en prensa).
5. Enserink M. News of the week. In Holland, the public face of flu takes a hit. *Science* 2009; 326:350-351.
6. Echevarría JM. Comentarios a «La pandemia gripal: y ahora, ¿qué?». *Virología* 2012, en prensa.
7. Krause R. The swine flu episode and the fog of epidemics. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:40-43.
8. Greenbaum JA et al. Pre-existing immunity against swine-origin H1N1 influenza viruses in the general human population. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:20365-20370.
9. Donaldson RJ et al. Mortality from pandemic A/H1N1 influenza in England: public health surveillance study. *Brit Med J* 2009; 339:b5213.
10. Editorial. Avian influenza and the dual-use research debate. *Lancet Infect Dis* 2012; 12:167.
11. Cook R. *Outbreak*. G.P. Putnam's Sons. New York, 1987.
12. Preston R. *The hot zone*. Random House Publishing Group. New York, 1994.
13. Echevarría JM. *Amaroncachi, el agua de la anaconda*. Editorial Meteora. Barcelona, 2007.
14. Echevarría JM. *¿Alerta pandémica?* Editorial Meteora. Barcelona, 2011.
15. Selgelid MJ. Governance of dual-use research: an ethical dilemma. *Bull World Health Org* 2009; 87:720-723.
16. Crichton M. *Jurassic Park*. Random House Publishing Group. New York, 1990.





Presentación del número extraordinario: Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

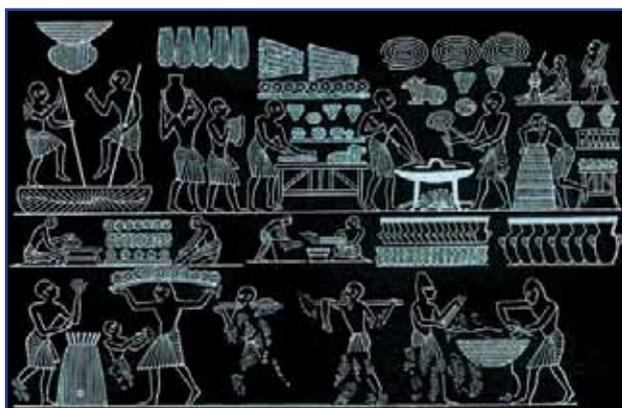
Tomás González Villa. Universidad de Santiago de Compostela. Presidente del Grupo.

A fuer de parecer irreverente me he permitido iniciar esta presentación con un pequeño párrafo que he sacado de Wikipedia al buscar para el nombre de nuestro grupo. Comienza así:

«**Microbiología industrial o biotecnología microbiana** es el ámbito de la Microbiología orientado a la producción de elementos de interés industrial mediante procesos en los cuales intervenga, en algún paso, un microorganismo. Por ejemplo, la producción de: alimentos (fermentación del vino, pan o cerveza) y suplementos dietéticos (como los cultivos de algas, vitaminas o aminoácidos); biopolímeros, como el xantano, alginato, celulosa, ácido hialurónico, polihidroxialcanoatos, bioremediación de entornos contaminados o tratamiento de desechos; así como la producción de principios activos de interés en medicina, como la insulina y hormona del crecimiento o de sustancias implicadas en el diagnóstico, como las Taq polimerasas empleadas en PCR cuantitativa».

Vemos cómo, a pesar de contener una pequeña incorrección cuando sugiere que ciertos procesos de Microbiología Industrial pueden no ser llevados a cabo por microorganismos, la sensatez del párrafo es evidente y se adapta poco más o menos a lo que cada uno de nosotros entiende por Microbiología Industrial y la proyección más moderna, sustentada en la ingeniería genética, de Biotecnología.

La Microbiología Industrial nació hace muchos miles de años con las manipulaciones de alimentos que los hombres de edades pretéritas hacían y que habían visto por incontables repeticiones prevenían la putrefacción de los mismos. Evidentemente ellos no sabían lo que ocurría pero sí aprendieron rápidamente a controlar los efectos que los microorganismos presentes en los alimentos ejercían. El capítulo de las bebidas fermentadas constituye un capítulo aparte pues su elaboración estaba ligada a aspectos especialísimos de las diferentes culturas. La cerveza y el vino comenzaron a utilizarse no hace menos de unos 9000 años y entendemos que desde Mesopotamia y Egipto se extendió a toda Eurasia. En este caso la presión selectiva que el hombre ejerció sin saberlo sobre la levadura que conduce los fenómenos fermentativos y que hoy llamamos *Saccharomyces cerevisiae* fue tal que incluso forzó la aparición de la especie taxonómica como tal.



Elaboración de pan en el Antiguo Egipto
(bajo imperio, época de Ramsés II)
(fuente. www.scientificpsychic.com).

Al principio se elaboraban vinos muy inestables debido a la mala calidad y baja acumulación de azúcar en las bayas de *Vitis sp* (de hecho los romanos recurrían frecuentemente a la adición de sal para su mantenimiento y evitar el deterioro). La selección y mejora de la vid para obtener mejores caldos ocupó mucho tiempo a los jardineros y monjes y poco a poco consiguieron nuevas variedades óptimas para la elaboración de vino. De hecho, en el siglo V ya se conocían distintos tipos de uvas y con ellas hacían los vinos blancos, tintos o dulces. La viticultura europea a partir de los siglos VI-VII, estuvo casi siempre en manos de los monasterios ya que la iglesia era una de las principales demandantes de vino para el sacramento de la Comunión. El vino era rebajado con frecuencia con agua, ya que el uso de uvas muy maduras para su elaboración daba lugar a caldos de elevada graduación (este puede ser el origen del rito cristiano de añadir agua al vino). El vino en estado puro parece que se reservaba para los bárbaros, ya que griegos y romanos pensaban que sin mezclar podía dar lugar a la aparición de enfermedades mentales.



La arqueología revela la actividad biotecnológica empírica del hombre en la antigüedad.

No cabe duda que todo lo que rodea al vino tiende a tener una gran trascendencia y no solamente por razones culturales o religiosas, sino simplemente por razones económicas ya que solamente hay una cosecha de uvas al año y si se estropeaba el caldo (o se estropea) la trascendencia a la sociedad era alta. No ocurría así con la cerveza (bebida fermentada surgida al tiempo que el vino) ya que podía prepararse en cualquier momento si se disponía de un cereal libre de aflatoxinas que pudiese germinar e iniciar así la producción de lo que con el devenir de los siglos se vino en denominar como «mosto cervecero». También en este tipo de bebida participan estirpes especiales de *S. cerevisiae* que de nuevo han sido seleccionadas por el hombre a lo largo de milenios y similares PERO diferentes de las que participan en la elaboración del vino; en este caso muchas veces resultan ser estirpes heterotálicas mientras que la mayoría de las vnicas resultan ser homotálicas. La trascendencia de esta aparentemente pequeña diferencia es, sin embargo, alta, como bien conocen todas aquellas personas que hayan trabajado con ellas. Estas pocas líneas sobre el vino que he plasmado aquí han delimitado (hoy todavía) un campo biotecnológico muy activo pues define un punto de encuentro para fisiólogos vegetales, genéticos (de plantas y levaduras), microbiólogos, bioquímicos y tecnólogos de alimentos.

Otro alimento al que no podríamos renunciar tanto cultural como nutricionalmente es el pan; a pesar de que no se sabe con exactitud los diferentes tipos de pan que se elaboran en el planeta, algunos autores lo acercan al millar, lo que sin duda da idea de la importancia que se le ha dado como alimento básico de la humanidad. Como todos sabemos éste alimento se puede catalogar en dos grandes apartados: i) panes ázimos o panes elaborados sin levadura y ii) panes elevados o fermentados. Los primeros no sufren procesos de fermentación pero los segundos se elaboran mediante el uso de las llamadas levaduras panaderas (estirpes de *S. cerevisiae*, de nuevo seleccionadas por el hombre a lo largo de milenios), capaces de fermentar oligosacáridos de las harinas de diferentes cereales y consecuentemente producir CO₂ y etanol (eliminado durante el horneado). Todas las culturas antiguas desde Mesopotamia, pasando por Egipto, Grecia y Roma conocían y guardaban

celosamente los fermentos para la elaboración del pan. Solamente en el siglo xx y lo que llevamos del actual se ha podido comprender el comportamiento bioquímico y sobre todo genético de estas estirpes de levaduras tan especiales, sin las que sin duda no dispondríamos de tantas variedades de pan. Hoy ya somos capaces, como en el caso de las bebidas fermentadas de afrontar racionalmente la mejora genética de todo este tipo de estirpes, incluso cuando se trata del dominio y mejora de caracteres poligénicos. Otro grupo de alimentos de importancia en la historia del desarrollo de la alimentación humana son los productos fermentados de la leche, denominados también derivados lácteos fermentados, debido a la acción de las bacterias del ácido láctico (BAL) tales como las especies de los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus* o *Leuconostoc*. El proceso origina productos con una dualidad importante, por una parte incrementa la vida útil y por otra parte mejora la digestibilidad del mismo frente a la leche. Existen evidencias que demuestran la existencia de productos fermentados de la leche ya desde hace 10.000 años. Estos aspectos de la Microbiología Industrial han generado en los últimos 50 años un campo de investigación aplicada y biotecnológica muy creativa e interesante y que como en los casos anteriores han propiciado un campo de encuentro para genéticos, expertos de producción animal, virólogos y tecnólogos de alimentos, lo que ha dado lugar a la mejora de procesos conocidos desde la antigüedad y al desarrollo de otros nuevos que han generado nuevos productos lácteos obtenidos por fermentación.

Existen muchos tipos de lácteos fermentados. Algunos de ellos son:

- Yogur
- Suero de mantequilla (EE.UU., Canadá)
- leche acidophilus (EE.UU., Canadá)
- kiselomlyako (Bulgaria)
- sauermilch o dickmilch (Alemania)
- zure melk (Países Bajos)
- lapte bătut (Rumanía)
- filmjöl o fil (Suecia)
- surmelk o kulturmelk (Noruega)
- piimä y viili (Finlandia)
- amasi (Sudáfrica)

Pero la utilidad de las BAL no acaba aquí, ya que también se utilizan en las fermentaciones secundarias de vinos (fermentación maloláctica) así como en la maduración de productos cárnicos.

El término Biotecnología -literalmente tecnología de lo vivo-, despertó en la década de los años 70, después de la reunión de Asilomar en California, un enorme interés incluso para la gente de la calle, contemplándose como una especie de piedra filosofal que iba a librarnos a los humanos de todas nuestras miserias. Sin embargo, en la última década del siglo xx comenzaron a aparecer detractores hasta alcanzar en la actualidad cotas de severo rechazo en ciertos sectores parcialmente informados de la sociedad.

ALGUNOS SECTORES DE IMPORTANCIA

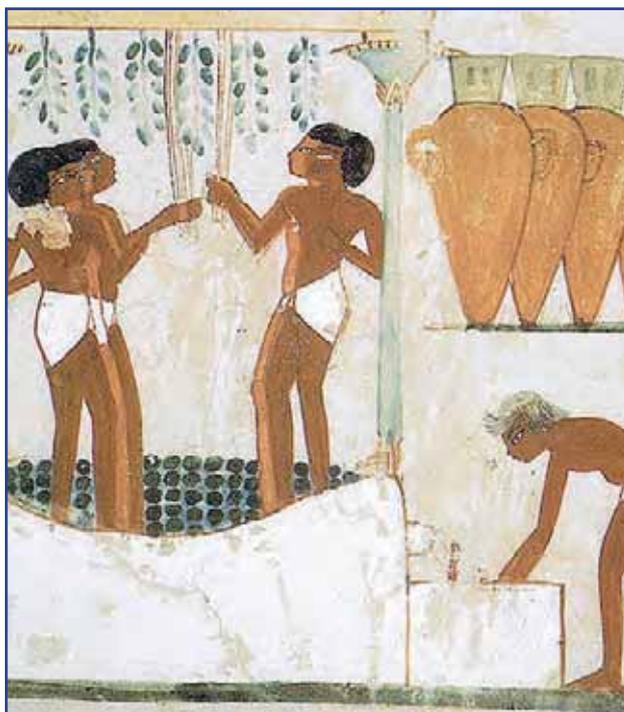
<p>Agroalimentación</p>	<p>Este es un área muy dinámica en el seno de nuestro grupo ya que posee proyecciones a medios hídricos, suelo y aire. Se pretende no solamente preservar de la mejor manera posible los ecosistemas que hemos recibido, sino de recuperar aquellos que han sido particularmente dañados (hasta hacerlos inservibles) mediante la aplicación sistemática de procesos de Microbiología Industrial y Biotecnología.</p> <p>En la actualidad se hace particular énfasis en el aprovechamiento de residuos de origen químico y de origen biológico y en el desarrollo de metodologías biológicas para la detección de contaminantes. La puesta a punto, mediante el empleo de técnicas de biología molecular, de nuevos métodos de análisis que permiten vigilar de forma continua la contaminación en los entornos naturales, así como el análisis de las comunidades microbianas y de los procesos metabólicos implicados en la eliminación de sustancias tóxicas o contaminantes están revolucionando la forma de conocer, prevenir y, en último extremo, controlar los procesos contaminantes si los hubiera.</p>
<p>Sanidad humana y animal</p>	<p>En este área los países darán prioridad a diferentes aspectos según su localización geográfica e irán encaminados a resolver los problemas relacionados con aquellas enfermedades humanas o de animales que tengan una mayor relevancia socioeconómica en las zonas en cuestión. Se desarrollarán nuevas metodologías para el diagnóstico de enfermedades, así como estrategias y métodos para la obtención de vacunas altamente protectoras de la población humana y/o animal. Por último se prevén grandes inversiones para el desarrollo de modelos para el tratamiento de enfermedades o el análisis de fármacos e identificación y caracterización molecular de dianas de acción farmacológica.</p>
<p>Medio ambiente</p>	<p>El sector agroalimentario es de especial transcendencia económica para el mundo, sin el cual no se podría alimentar a la creciente población mundial. Los países propugnan la formación en el conocimiento y adquisición de tecnologías que tienen su origen en la biología molecular y celular, con el aislamiento y caracterización de genes de interés agronómico y su utilización en el diseño de plantas transgénicas que permitan la obtención de mayor cantidad de alimentos y de nuevas estirpes capaces de colonizar ambientes degradados por la actividad industrial humana. La aplicación de las técnicas de ingeniería genética al estudio de las interacciones entre plantas y otros organismos propiciará el desarrollo de una agricultura más respetuosa con el medio ambiente. De igual manera, la utilización de técnicas de ingeniería genética en microorganismos de interés en procesos de transformación agroalimentaria así como el desarrollo de nuevas técnicas de ingeniería genética, generarán nuevas estirpes de microorganismos que presenten características de interés en la producción de alimentos, en particular en lo que hace referencia a la nutrición, estabilidad de los mismos e inocuidad.</p>

La palabra Biotecnología es en realidad vieja, a pesar de lo que normalmente se cree, ya que fue acuñada por el ingeniero húngaro Karl Ereky en 1917 para un proceso de producción en masa de cerdos, utilizando remolacha azucarera como alimento primario biotransformable. Utiliza el principal «invento» de nuestro planeta como es la célula y mediante su manipulación (microorganismos y células de plantas y animales), la Biotecnología produce bienes y servicios para la industria alimentaria, farmacéutica, química y ambiental de indudable beneficio. En el cuadro adjunto se resumen las principales ciencias convencionales que han contribuido al nacimiento de la Biotecnología, así como de macrologros del último tercio del siglo xx y perspectivas de futuro.

Un descubrimiento clave inició el cambio dramático que conocemos hoy como ingeniería genética o ADN recombinante: en 1970 Hamilton Smith y Daniel Nathans descubren una enzima (restrictrasa) capaz de reconocer y cortar el ADN en secuencias específicas, que les valió el



Diversos productos lácteos fermentados.



Premio Nobel de fisiología o medicina, compartido con Werner Arber, en 1978. Este descubrimiento (consecuencia de un hallazgo accidental, en el que los investigadores profundizaron con gran sentido) dio origen a una sucesión de nuevos descubrimientos y potenció el desarrollo de lo que hoy entendemos por Ingeniería Genética o simplemente Biotecnología que nos permite clonar cualquier gen en un virus, microorganismo, célula de animal o de plantas.

En definitiva, aunque solamente he esbozado algunos aspectos de la Microbiología Industrial y Biotecnología, que delimita el nombre de nuestro grupo especializado, no son mas que eso unas ideas para que el lector sea consciente de la amplia proyección e imbricación de la Microbiología Industrial en todas las facetas de la vida humana.

Se recogen a continuación aspectos de investigación de diversos grupos que mantienen con sus contribuciones el dinamismo de nuestro grupo.

¡Felicidades a todos!

Elaboración del vino en el antiguo Egipto en un fresco datado alrededor del 1400 A.C. (Metropolitan Museum of Art).

Fundación MEDINA - Investigación en Terapias Innovadoras a partir de Productos Naturales aislados de Microorganismos

M^a Francisca Vicente, Gerald Bills, Fernando Reyes, Olga Genilloud
Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Avda. del Conocimiento 3, E-18100 Armilla, Granada. www.medinaandalucia.es

La Fundación MEDINA es un consorcio público-privado sin ánimo de lucro establecido a partir de la alianza entre Merck Sharp & Dohme de España S.A. (MSD), la Junta de Andalucía y la Universidad de Granada. La Fundación está enfocada en la investigación y descubrimiento de nuevas

terapias innovadoras que permitan dar respuesta a necesidades médicas no cubiertas.

En el año 2008 la Fundación MEDINA se ha establecido en el Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud en Granada a partir del proyecto desarrollado en el antiguo Centro de In-



Miembros del grupo de la Fundación MEDINA.

investigación Básica de Merck Sharp & Dohme de España (CIBEMSD) en Madrid. El equipo actual de MEDINA procede en su gran parte de uno de los más antiguos Programas de Descubrimiento de fármacos a partir de productos naturales de la industria farmacéutica y que durante sus más de 50 años de existencia dentro la división de investigación de Merck (Merck Research Laboratories) ha contribuido como uno de los centros con mayor éxito en cuanto al número de productos en el mercado procedentes de sus líneas de investigación.

MEDINA se ha consolidado como un nuevo Centro de Excelencia para la investigación y desarrollo en el descubrimiento de fármacos sobre la base del conocimiento, la tecnología y el equipamiento transferidos desde MSD, así como sobre la experiencia de una buena parte de su personal con una larga trayectoria anterior en dicha compañía. El equipo de investigación actual de la Fundación ha sido reclutado tanto desde la empresa farmacéutica como del sector biotecnológico y del académico, y opera como un equipo multidisciplinar con amplia experiencia en biología molecular y celular, microbiología clínica e industrial, informática y automatización, gestión de librerías de compuestos, y química analítica y de productos naturales.

Esta experiencia ha podido ser complementada y enriquecida a través de las oportunidades de colaboración con empresas biotecnológicas, grupos académicos e Institutos de Investigación Sanitarios en Andalucía que ofrece el Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, una red de investigación única en Andalucía para favorecer las posibilidades de interacción y desarrollo de una investigación traslacional en la clínica.

DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS A PARTIR DE PRODUCTOS NATURALES

La principal misión de la Fundación MEDINA como centro de investigación consiste en responder a necesidades

médicas no cubiertas en áreas prioritarias para la salud mediante el descubrimiento de terapias innovadoras, y en especial de nuevos candidatos a fármacos a partir de compuestos de origen microbiano. MEDINA es líder en el desarrollo de fármacos a partir de moléculas de origen microbiano, y es una referencia internacional en el campo de los productos naturales para las instituciones académicas y el sector industrial.

La Fundación MEDINA centra sus programas de descubrimiento de fármacos en diferentes áreas terapéuticas como las enfermedades infecciosas y las enfermedades olvidadas, especialmente en la búsqueda de nuevos agentes frente a bacterias Gram negativas multirresistentes, la oncología, la neurodegeneración y las enfermedades raras. MEDINA tiene una amplia experiencia en el desarrollo de campañas de cribado de alto rendimiento (*High Throughput Screening HTS*) con colecciones de extractos de productos naturales y librerías de compuestos de síntesis en una amplia variedad de formatos de ensayo automatizado. Actualmente desarrolla programas de investigación colaborativa en estas áreas a través de líneas de financiación interna y competitiva.

La Fundación MEDINA ofrece un amplio portafolio de ensayos HTS *in vitro* y en líneas celulares, y ha implementado tecnologías de vanguardia como el *High Content Bioimaging*, que van a permitir identificar nuevos candidatos a fármacos mediante una combinación de ensayos empíricos y ensayos funcionales basados en diferentes dianas terapéuticas.

MEDINA tiene una experiencia colectiva así como los vínculos históricos con fármacos comercializados desde hace años con enorme éxito (Cefoxitina, Mevacor, Imipenem, Cancidas) así como con algunos de los más importantes descubrimientos de productos naturales de las últimas décadas (entre otros, moriniafungina, parnafunginas, enfumafungina, platensimicina, platencina, lucensimicina, philipimicina, kibdelomicina).



Antagonismo entre especies de endófitos aislados de Retama sphaerocarpa, La Malahá, Granada, España.

LA COLECCIÓN DE PRODUCTOS NATURALES

La Fundación MEDINA pone a disposición del *screening* una de las mayores y más productivas colecciones de hongos filamentosos, actinomicetos y bacterias para el descubrimiento de metabolitos secundarios con actividad biológica. La Fundación invierte una gran parte de sus recursos y personal en el mantenimiento y expansión de esta colección de más de 110.000 microorganismos. La colección se ha construido para satisfacer las necesidades de una librería de productos naturales en el marco de la empresa farmacéutica, por lo que ha perseguido la incorporación de una amplia representación de actinomicetos y hongos productores de metabolitos secundarios. Dicha librería, que actualmente consta más de 100.000 extractos y fracciones enriquecidas de productos naturales, está extensamente anotada con datos químicos y biológicos.

MEDINA ofrece el acceso a los diferentes Módulos de la Librería de extractos y fracciones de productos naturales con características únicas para el descubrimiento de fármacos:

- Se caracterizan por la enorme diversidad en sus fuentes, métodos de preparación y el espacio químico único que representan.
- Están disponibles en diferentes formatos y alícuotas completamente integrados con plataformas robotizadas, lo que permite su ensayo de manera eficiente y automatizada.
- Están anotados extensivamente con datos referentes a sus características químicas y propiedades biológicas.

Sobre la base de esta experiencia en la identificación de compuestos producidos por microorganismos con potencial para su desarrollo como fármacos, se ofrecen oportunidades para el descubrimiento de nuevas estructuras no descritas a partir de librerías de compuestos generados mediante síntesis química.

Los productos naturales permiten identificar moléculas que sean el punto de partida del descubrimiento de nuevos

candidatos, y nuevas estructuras que puedan ser desarrolladas por MEDINA o en colaboración con compañías que operen en los sectores de la salud y agroquímico.

Además de estas actividades de investigación, la Fundación MEDINA pone a disposición de la comunidad científica así como de la industria farmacéutica, biotecnológica y agroquímica, una plataforma singular de descubrimiento de fármacos a partir de productos naturales derivados del enorme y diverso arsenal microbiológico que está perfectamente gestionada y optimizada para el desarrollo de nuevos programas de búsqueda de moléculas bioactivas en el laboratorio. MEDINA proporciona la experiencia y las herramientas necesarias para maximizar las posibilidades de éxito a partir del cribado de la colección.

LA PLATAFORMA DE SEGURIDAD PRECLÍNICA

La plataforma integrada de ensayos de preclínica procede del antiguo CIBE, Centro de Referencia en MSD para la evaluación temprana de candidatos a fármacos, y ha evolucionado para responder a las necesidades internas y externas de identificar los potenciales riesgos de seguridad cardiovascular y neuronal, las interacciones medicamentosas y el metabolismo de los fármacos en etapas tempranas del desarrollo de los candidatos a fármacos. Dicha plataforma ofrece la evaluación de los compuestos en diferentes ensayos de metabolismo de fármacos (ensayos de estabilidad metabólica y evaluación de la interacción medicamentosa mediada por citocromos P450), ensayos de cardiotoxicidad (interacción con canales iónicos), ensayos de neurotoxicidad (interacción con receptores de neurotransmisores), y ensayos de genotoxicidad. La calidad de los servicios de ensayo que ofrece MEDINA así como los cortos tiempos de respuesta asegurados por el grado de automatización de la plataforma de *screening* permiten tomar rápidas decisiones 'go/no-go' que conllevan a una importante reducción de los costes de desarrollo preclínico.

COLABORACIONES CIENTÍFICAS

La Fundación MEDINA está desarrollando programas de investigación derivados de sus líneas internas y de sus colaboraciones internacionales con grupos de investigación académicos en instituciones públicas europeas y de los EEUU, así como de compañías biotecnológicas y farmacéuticas. Estos proyectos se enfocan en el descubrimiento de nuevos fármacos que puedan responder a necesidades médicas no cubiertas en enfermedades infecciosas (patógenos multiresistentes Gram negativos y *Mycobacterium tuberculosis*, y tratamiento de Aspergillosis invasiva), y para el tratamiento de malaria. Además, MEDINA ha implementado un programa de investigación estratégico en cáncer dirigido a la identificación de nuevos agentes antitumorales enfocados selectivamente a determinadas rutas de señalización celular, así como un programa en medicamentos huérfanos para enfermedades raras. En este último campo está trabajando específicamente en el tratamiento de la Esclerosis Lateral Amiotrófica con potencial aplicación en enfermedades neurodegenerativas vinculadas al envejecimiento.

MEDINA tiene como objetivo establecer acuerdos de colaboración y alianzas con empresas del sector farmacéutico que puedan contribuir a llevar nuevos candidatos a fármacos hasta las fases preclínicas y a un posible desarrollo en la clínica.

PUBLICACIONES RECIENTES SELECCIONADAS

- Bills GF, Martín J, Collado J, Platas G, Overy D, Tormo JR, Vicente F, Verkleij G, Crous P. (2009).** Measuring the distribution and diversity of antibiosis and secondary metabolites in the filamentous fungi. *Society of Industrial Microbiology News* 59: 133-147.
- Bills GF, Overy DP, Genilloud O, Peláez, F. (2009).** Contributions of pharmaceutical antibiotic and secondary metabolite discovery to the understanding of microbial defense and antagonism. In *Defensive Mutualism in Microbial Symbiosis* eds. White, JF and Torres, MS. pp.257-297. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Genilloud O, González I, Salazar O, Martín J, Tormo JR, Vicente F. (2011).** Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. *J Ind Microbiol Biotechno* 38: 375-389.
- Goetz MA, Zhang C, Zink DL, Arocho M, Vicente F, Bills GF, Polishook J, Dorso K, Onishi R, Gill C, Hickey E, Lee S, Ball R, Skwish S, Donald RGK, Phillips JW, Singh SB. (2010).** Coelomycin, a highly substituted 2,6-dioxo-pyrazine fungal metabolite antibacterial agent discovered by *Staphylococcus aureus* fitness test profiling. *Journal of Antibiotics* 63: 512-518.
- Herath K, Harris G, Jayasuriya H, Zink D, Smith S, Vicente F, Bills G, Collado J, González A, Jiang B, Kahn JN, Galuska S, Giacobbe R, Abruzzo G, Hickey E, Liberator P, Xu DM, Roemer T, Singh SB. (2009).** Isolation, structure and biological activity of phomafungin, a cyclic lipodeptide from a widespread tropical *Phoma* sp. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17: 1361-1369.
- Martín MJ, Fernandez R, Francesch A, Amade P, Matos-Pita SSd, Reyes F, Cuevas C. (2010).** Plumisclerin A, a diterpene with a new skeleton from the soft coral *Plumigorgia terminosclera*. *Organic Letters* 12: 912-914.
- Monteiro MC, de la Cruz M, Cantizani J, Moreno C, Tormo JR, Mellado E, de Lucas JR, Asensio F, Valiente V, Brakhage AA, Latgé JP, Genilloud O, Vicente F. (2012).** A New Approach to Drug Discovery: High-Throughput Screening of Microbial Natural Extracts against *Aspergillus fumigatus* Using Resazurin. *J. Biomol. Screen.* En prensa.
- Parish CA, de la Cruz M, Smith SK, Zink D, Baxter J, Tucker-Samaras S, Collado J, Platas G, Bills G, Díez MT, Vicente F, Peláez F, Wilson K. (2009).** Antisense-guided isolation and structure elucidation of pan-nomycin, a substituted cis-decalin from *Geomyces pannorum*. *Journal of Natural Products* 72: 59-62.
- Peláez F, Collado J, Platas G, Overy DP, Martín J, Vicente F, González del Val A, Basilio A, de la Cruz M, Tormo JR, Fillola A, Arenal F, Villareal M, Rubio V, Baral HO, Galán R, Bills, GF. (2011).** The phylogeny and intercontinental distribution of the pneumocandin-producing anamorphic fungus *Glarea lozoyensis*. *Mycology*, 2:1-17.
- Pérez M, Crespo C, Schleissner C, Rodríguez P, Zuniga P, Reyes F. (2009).** Tartrolon D, a cytotoxic macrodiolide from the marine-derived actinomycete *Streptomyces* sp. MDG-04-17-069. *Journal of Natural Products* 72: 2192-2194.
- Phillips JW, Goetz MA, Smith SK, Zink DL, Polishook J, Onishi R, Salowe S, Wiltzie Allocco J, Sigmund J, Dorso K, Lee S, Skwish S, De la Cruz M, Martín J, Vicente F, Genilloud O, Jun Lu, Ronald E. Painter, Katherine Young, Karen Overbye, Robert G.K. Donald, and Singh SB. (2011).** Discovery of Kibdelomycin, A Potent New Class of Bacterial Type II Topoisomerase Inhibitor by Chemical-Genetic Profiling in *Staphylococcus aureus*. *Chemistry & Biology* 18: 955-965.
- Reyes F, Fernández R, Rodríguez A, Francesch A, Taboada S, Avila C, Cuevas, C. (2008).** Aplicyanins A-F, new cytotoxic bromoindole derivatives from the marine tunicate *Aplidium cyaneum*. *Tetrahedron* 64: 5119-5123.
- Roemer T, Xu D, Singh SB, Parish CA, Harris G, Wang H, Davies JE, Bills GF. (2011).** Confronting the Challenges of Natural Product-Based Antifungal Discovery. *Chemistry & Biology* 18:148-164.
- Rojas JL, Martín J, Tormo JR, Vicente F, Brunati M, Ciciliato I, Losi D, Trappen SV, Mergaert J, Swings J, Marinelli F, Genilloud O. (2009).** Bacterial diversity from benthic mats of Antarctic lakes as a source of new bioactive metabolites *Marine Genomics* 2: 33-41.
- Schleissner C, Pérez M, Losada A, Rodríguez P, Crespo C, Zúñiga P, Fernández R, Reyes F, de la Calle F. (2011).** Antitumor Actinopyranones Produced by *Streptomyces albus* POR-04-15-053 Isolated from a Marine Sediment. *J. Nat. Prod.* 74: 1590-1596.
- Singh SB, Jayasuriya H, Zink D, Basilio A, Vicente F, Collado J, Bills G, Goldman ML, Motyl M, Huber J, Dezeny G, Byrne K. (2009).** Discovery and antibacterial activity of glabramycin A-C from *Neosartorya glabra* by an antisense strategy. *Journal of Antibiotics* 62: 265-269.
- Vicente F, Basilio A, Platas G, Collado J, Bills GF, González del Val A, Martín J, Tormo JR, Harris GH, Zink DL, Justice M, Kahn JN, Peláez, F. (2009).** Distribution of the antifungal agents sordarins across filamentous fungi. *Mycological Research* 113: 754-770.
- Wang J, Kodali S, Lee SH, Galgoci A, Painter R, Dorso K, Racine F, Motyl M, Hernandez L, Tinney E, Colletti SL, Herath K, Cummings R, Salazar O, González I, Basilio A, Vicente F, Genilloud O, Peláez F, Jayasuriya H, Young K, Cully DF, Singh SB. (2007).** Discovery of platencin, a dual FabF and FabH inhibitor with in vivo antibiotic properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 7612-7616.
- Wang J, Soisson SM, Young K, Shoop W, Kodali S, Galgoci A, Painter R, Parthasarathy G, Tang YS, Cummings R, Ha S, Dorso K, Motyl M, Jayasuriya H, Ondeyka J, Herath K, Zhang C, Hernandez L, Allocco J, Basilio A, Tormo JR, Genilloud O, Vicente F, Peláez F, Colwell L, Ho Lee S, Michael B, Felcetto T, Gill C, Silver LL, Hermes JD, Bartizal K, Barret J, Schmatz D, Becker JW, Cully D, Singh S.B. (2006).** Platensimycin is a selective FabF inhibitor with potent antibiotic properties. *Nature* 441: 358-361.

Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica



María Jesús Martínez y Ángel Martínez.
Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC,
c/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid



El grupo de Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica del CIB-CSIC.

El grupo de investigación «Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica», coordinado por los Dres. Ángel T. Martínez y M^a Jesús Martínez, forma parte del Departamento de Biología Medioambiental del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) del CSIC en Madrid, uno de los centros pluridisciplinares de mayor tradición en el área de

Biología en España. El grupo comenzó su andadura el año 1985, dentro del antiguo Departamento de Microbiología Molecular del CIB, estudiando tanto los aspectos básicos de la degradación de la lignocelulosa por los hongos como el potencial de estos microorganismos y sus enzimas en diferentes aplicaciones biotecnológicas. Inicialmente los

trabajos se centraron en conocer los mecanismos enzimáticos de los hongos de podredumbre blanca, especialmente de *Pleurotus eryngii*, para degradar la lignina, un paso clave para el reciclado del carbono en la Tierra y caracterizar las enzimas extracelulares que intervenían en el proceso (lacasas, peroxidases y enzimas productoras de peróxido de hidrógeno). Todas estas enzimas presentan una amplia especificidad de sustrato, lo que ha permitido comprobar también su eficacia para degradar otros compuestos aromáticos recalcitrantes que producen problemas medioambientales (hidrocarburos aromáticos policíclicos, colorantes, residuos de producción aceite de oliva, etc.).

Inicialmente los proyectos se relacionaron con la aplicación de estos hongos y sus enzimas en el sector papelero. La introducción de tecnologías menos agresivas con el medio ambiente, como la eliminación del cloro en el blanqueo de la pasta, llevó consigo la aparición de otros problemas en el sector. En este sentido destacar que las investigaciones del grupo dieron lugar a diferentes trabajos y patentes en los que se propone que tanto la aplicación de los hongos como sus enzimas podrían contribuir a reducir estos problemas: i) las lacasas, utilizando mediadores de bajo peso molecular, y las peroxidases podían participar en el blanqueo enzimático de las pastas, manteniendo sus propiedades, ii) el pretratamiento biológico de las astillas disminuía los problemas de depósitos en las pastas y iii) estos problemas de depósitos también podrían mejorar utilizando esteroles esterases o el sistema lacasa-mediador, reduciendo o eliminando compuestos presentes en los extraíbles de las maderas e involucrados en la formación de depósitos.

Los trabajos sobre el empleo de mediadores para potenciar la actividad de la lacasa (esta enzima oxida de forma natural compuestos aromáticos fenólicos y sólo en presencia de mediadores puede degradar compuestos aromáticos no fenólicos de mayor potencial redox), llevaron a describir una nueva familia de mediadores naturales. La Dra. Susana Camarero, investigadora del grupo, fue pionera en la descripción de estos compuestos, derivados de la degradación de la lignocelulosa, y su utilización para degradar compuestos contaminantes y deslignificar materiales lignocelulósicos, experiencia que aplica en la actualidad a la ingeniería de lacasas fúngicas. Por otra parte, la incorporación al grupo de la Dra. Alicia Prieto, investigadora con gran experiencia en el estudio de polisacáridos, ha permitido abordar con más eficacia las diferentes aplicaciones de la biomasa vegetal. Finalmente hay que mencionar la aproximación genómica para la búsqueda de nuevas peroxidases y otras oxidoreductasas de interés biotecnológico que está desarrollando el Dr. Javier Ruiz-Dueñas.

La mayor parte de los proyectos vigentes en la actualidad están relacionados con el aprovechamiento de la biomasa vegetal, de acuerdo con el concepto de biorrefinería, abordando aspectos básicos y aplicados para tratar de estudiar las posibles aplicaciones biotecnológicas, entre las que se encuentran la producción sostenible de combustibles y productos químicos, junto con la utiliza-

ción de modernas técnicas analíticas (basadas en la NMR bidimensional disponible en el CIB) para el estudio de la lignina y sus usos industriales. Las líneas de investigación en curso, financiadas por proyectos nacionales, europeos y proyectos de colaboración y contratos con empresas, se resumen a continuación:

- Estudios estructura-función de oxidoreductasas involucradas en los procesos de degradación (peroxidases, lacasas y aril-alcohol oxidases), mediante mutagénesis y evolución dirigida, destinados a mejorar las propiedades físico-químicas y catalíticas de estas enzimas y su versatilidad para diferentes aplicaciones.
- Estudios bioquímicos y moleculares de esteroles esterases, enzimas capaces de realizar reacciones de hidrólisis o síntesis, dependiendo de las condiciones de reacción, con nuevas aplicaciones en el sector de los nutracéuticos.
- Estudios de celulasas y hemicelulasas para la degradación de los polisacáridos de la pared vegetal y su transformación en etanol de segunda generación.
- Estudios de lacasas y peroxidases en la degradación de compuestos recalcitrantes contaminantes de aguas y suelos y la producción de químicos derivados del tratamiento de la biomasa.

El grupo colabora con diferentes centros de investigación, universidades y empresas, tanto nacionales como internacionales y la información detallada de sus publicaciones recientes y los proyectos en curso puede encontrarse en su página WEB (www.cib.csic.es/lignina/lignina_en.html).

PUBLICACIONES RECIENTES

- Babot ED, Rico A, Rencoret J, Kalum L, Lund H, Romero J, del Río JC, Martínez AT and Gutiérrez A (2011)** Towards industrially feasible delignification and pitch removal by treating paper pulp with *Myceliophthora thermophila* laccase and a phenolic mediator. *Biores. Technol.* 102: 6717-6722.
- Camarero S, Pardo I, Cañas AI, Molina P, Record E, Martínez AT, Martínez MJ, Alcalde M (2012)** Engineering Platforms for Directed Evolution of Laccase from *Pycnoporus cinnabarinus*. *Appl Environ Microbiol* 78: 1370-1384.
- Faulds CB, Pérez-Boada M, Martínez AT (2011)** Influence of organic co-solvents on the activity and substrate specificity of feruloyl esterases. *Biores. Technol.* 102: 4962-4967.
- Fernandez-Fueyo E, Ruiz-Dueñas FJ, Ferreira P..., Martínez AT, Vicuña R, Cullen D (2012)** Comparative genomics of *Ceriporiopsis subvermispora* and *Phanerochaete chrysosporium* provide insight into selective ligninolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* (DOI: 10.1073/pnas.1119912109).
- Fernandez-Fueyo E, Ruiz-Dueñas FJ, Miki Y, Martínez MJ, Hammel KE, Martínez AT (2012)** Lignin-degrading peroxidases from the genome of the selective ligninolytic fungus *Ceriporiopsis subvermispora*. *J. Biol. Chem.* DOI: 10.1074/jbc.M112.356378
- García-Ruiz E, González-Pérez D, Ruiz-Dueñas FJ, Martínez AT and Alcalde M (2012)** Directed evolution of a temperature-, peroxide- and alkaline pH-tolerant versatile peroxidase. *Biochem. J.* 441: 487-498.

- Gutiérrez A, Babot ED, Ullrich R, Hofrichter M, Martínez AT and del Río JC (2011) Regioselective oxygenation of fatty acids, fatty alcohols and other aliphatic compounds by a basidiomycete heme-thiolate peroxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* 514: 33-43.
- Hernández-Ortega A, Borrelli K, Ferreira P, Medina M, Martínez AT and Guallar V (2011) Substrate diffusion and oxidation in GMC oxidoreductases: an experimental and computational study on fungal aryl-alcohol oxidase. *Biochem. J.* 436: 341-350.
- Hernández-Ortega A, Ferreira P, Martínez AT (2012) Fungal aryl-alcohol oxidase: a peroxide-producing flavoenzyme involved in lignin degradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93: 1395-1410.
- Hernández-Ortega A, Lucas F, Ferreira P, Medina M, Guallar V, Martínez AT (2011) Modulating O₂ reactivity in a fungal flavoenzyme: Involvement of aryl-alcohol oxidase Phe-501 contiguous to catalytic histidine. *J. Biol. Chem.* 286: 41105-14.
- Ibarra D, Monte MC, Blanco A, Martínez AT and Martínez MJ (2012) Enzymatic deinking of secondary fibers: cellulases/hemicellulases versus laccase-mediator system. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 39: 1-9.
- Jurado M, Saparrat M, Martínez AT, Martínez MJ (2011) Application of White-Rot Fungi in Transformation, Detoxification, or Revalorization of Agriculture Wastes: Role of Laccase in the Processes. *Comprehen. Biotechnol.* 6: 595-603.
- Martínez AT, Rencoret J, Nieto L, Jiménez-Barbero J, Gutiérrez A, del Río JC (2011) Selective lignin and polysaccharide removal in natural fungal decay of wood as evidenced by in situ structural analyses. *Environ. Microbiol.* 13: 96-107.
- Miki Y, Calviño FR, Pogni R, Giansanti S, Ruiz-Dueñas FJ, Martínez MJ, Basosí R, Romero A and Martínez AT (2011) Crystallographic, kinetic, and spectroscopic study of the first ligninolytic peroxidase presenting a catalytic tyrosine. *J. Biol. Chem.* 286: 15525-15534.
- Ruiz-Dueñas FJ, Fernandez E, Martínez MJ, Martínez AT (2011) *Pleurotus ostreatus* heme peroxidases: An in silico analysis from the genome sequence to the enzyme molecular structure. *C. R. Biologies* 334: 795-805.
- Salvachúa D, Prieto A, López-Abelairas M, Lu-Chau T, Martínez AT, Martínez MJ (2011) Fungal pretreatment: An alternative in second-generation ethanol from wheat straw. *Biores. Technol.* 102: 7500-7506.
- Taboada-Puig R, Lú-Chau T, Moreira MT, Feijoo G, Martínez MJ and Lema JM (2011) A new strain of *Bjerkandera* sp. production, purification and characterization of versatile peroxidase. *World J Microbiol Biotechnol.* 27: 115-122.
- Waters DM, Murray PG, Miki Y, Martínez AT, Tuohy MG and Faulds CB (2012) A thermostable fungal acetylxylnan esterase from *Talaromyces emersonii*: Cloning, over-expression in *Escherichia coli* and characterization. *Appl. Environ. Microbiol.* doi:10.1128/AEM.05659-11.

Degradación de lignocelulosa por estreptomicetos y sus implicaciones tecnológicas y medioambientales (Grupo BIODEG)

Manuel Hernández, Juana Rodríguez, Francisco Guillén, Javier Mérida, Raquel Moya, Ana Belén García, Alba Blánquez, José Manuel Molina-Guijarro, María Isabel Pérez-Leblic y María Enriqueta Arias. Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad de Alcalá. 28871 Alcalá de Henares (Madrid). E-mail: enriqueta.arias@uah.es

El grupo de investigación del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Alcalá coordinado por la Dra. M^a Enriqueta Arias Fernández, se ha centrado desde hace más de 20 años en la elucidación de los mecanismos básicos implicados en la degradación de lignocelulosa por cepas seleccionadas del género *Streptomyces*, así como en el estudio del potencial biotecnológico y medioambiental de estos microorganismos y/o sus enzimas. Nuestras investigaciones se han dirigido en una primera etapa a desentrañar los sistemas enzimá-

ticos implicados en la degradación de los componentes estructurales de los materiales lignocelulósicos por estos microorganismos, así como al análisis de las modificaciones químicas producidas, tanto en maderas como en residuos herbáceos, por cepas seleccionadas. Con este estudio se pretende a su vez satisfacer la demanda actual de determinadas industrias contaminantes (papelera, textil, petroquímica, etc.), para sustituir total o parcialmente los procesos químicos habitualmente utilizados, causando de un significativo impacto ambiental, por métodos

biológicos amigables con el medio ambiente y que a su vez puedan incrementar el ratio coste-beneficio en dichas industrias. Más recientemente, hemos iniciado una nueva línea de trabajo sobre procesos de bio-oxidación avanzada (PBOA) con microorganismos ligninolíticos seleccionados (actinobacterias y hongos), con vistas a su aplicación en la descontaminación de suelos, aguas residuales y efluentes industriales.

ESTUDIOS BÁSICOS DE DEGRADACIÓN DE LIGNOCELULOSA POR *STREPTOMYCES*

Nuestros estudios iniciales se dirigieron al aislamiento y selección de cepas de estreptomicetos de distintos habitats naturales, con objeto de conocer su capacidad para degradar distintos residuos lignocelulósicos, tanto de tipo herbáceo (paja de trigo, bagazo de maíz, cascarilla de arroz y pulpa de café) como leñoso (maderas de picea y eucalipto, entre otras).

El análisis químico de los residuos lignocelulósicos transformados por cepas seleccionadas de *Streptomyces* en condiciones de fermentación en estado sólido, puso de manifiesto que dichas cepas son capaces de atacar oxidativamente las unidades estructurales de la lignina, hasta lograr, en algunos casos, una significativa mineralización. Asimismo, se puso de manifiesto que la mayor parte de las cepas degradan el componente hemicelulolítico de los sustratos, sin atacar la celulosa.

Posteriormente, se han elucidado los sistemas enzimáticos implicados en la degradación de estos materiales. De hecho, se han purificado y caracterizado enzimas de tipo xilanasa, mananasa, esterasa, peroxidasa y lacasa, producidas en distintas condiciones de cultivo. Como fruto de los resultados obtenidos, algunas de estas cepas seleccionadas y/o sus enzimas han sido aplicadas con éxito en procesos de biopasteo y bioblanqueo de residuos lignocelulósicos y pastas químicas, respectivamente. Asimismo, hay que destacar que en nuestro grupo se ha demostrado por primera vez el potencial industrial de la cepa *Streptomyces cyaneus* CECT 3335, para ser utilizada en el pasteo biomecánico de madera de picea, debido a la capacidad de este microorganismo para deslignificar dicho sustrato, con el consiguiente ahorro energético en la etapa de desfibrado, uno de los «cuellos de botella» del pasteado mecánico. Asimismo, el pretratamiento de la madera con el microorganismo, supuso una mejora importante en los parámetros de calidad de las pastas obtenidas.

En relación al proceso de bioblanqueo, enzimas de tipo xilanasa, mananasa, peroxidasa y lacasa, producidas por distintas especies de *Streptomyces*, han demostrado su efectividad en la mejora de las propiedades físico-químicas y ópticas de distintas pastas kraft de eucalipto.

Por último, también hemos demostrado la implicación de estos microorganismos en la degradación de la lignina presente en los efluentes generados por la industria pape-



Grupo BIODEG. De izquierda a derecha, Javier Mérida, María Enriqueta Arias, Francisco Guillén, Raquel Moya, Cristina Escudero, Juana Rodríguez, María Isabel Pérez, Manuel Hernández, Ana Belén García y Alba Blázquez.

lera, lo cual conlleva una decoloración muy significativa de los mismos y una disminución del impacto ambiental causado por su vertido en las aguas continentales.

DEMOSTRACIÓN DE LA IMPORTANCIA BIOTECNOLÓGICA Y MEDIOAMBIENTAL DE LAS LACASAS DE *STREPTOMYCES* Y DE LOS SISTEMAS LACASA-MEDIADOR

Entre las enzimas purificadas y caracterizadas en nuestro grupo, presentan especial relevancia las lacasas producidas por las cepas *Streptomyces cyaneus* CECT 3335 y *Streptomyces ipomoea* CECT 3341. El interés suscitado por su estudio radica, por un lado, en la corriente actual existente por profundizar en el conocimiento básico de estas enzimas, ya que al tratarse de enzimas recientemente descubiertas en bacterias, su estructura y función son prácticamente desconocidas, y por otro, en la necesidad creciente de encontrar sistemas enzimáticos oxidativos de alta efectividad y bajo coste, que puedan ser aplicados en la resolución de problemas industriales y medioambientales. Así, en estos últimos años, hemos clonado y caracterizado ambas lacasas y, si bien la producida por *S. cyaneus* presenta una estructura y comportamiento similares a los de lacasas producidas por hongos filamentosos (tres dominios de cupredoxina y pH ácido de actuación), la lacasa de *S. ipomoea* es estructural y catalíticamente única. Esta

lacasa presenta sólo dos dominios de cupredoxina en su estructura y su actividad depende del pH, siendo activa sobre compuestos fenólicos a pHs alcalinos, lo que supone una gran ventaja para ser aplicada en procesos industriales tradicionalmente llevados a cabo a elevados pHs, o para degradar compuestos contaminantes presentes en efluentes alcalinos.

En cuanto al aspecto más aplicado, hemos diseñado sistemas lacasa-mediador (lo cual supuso la selección previa de mediadores de oxidación de origen natural), que han demostrado su utilidad en la degradación y detoxificación de colorantes textiles de tipo azo, cuyo vertido a las aguas continentales supone un riesgo medioambiental muy notable con consecuencias para la salud humana. La eficacia de estos sistemas también se ha puesto de manifiesto en el bioblanqueo de pastas kraft de eucalipto. Así, el tratamiento de las mismas con el sistema lacasa-acetosiringona a pH alcalino, se tradujo en un mayor grado de deslignificación y un aumento de la blancura de la pasta de papel, así como en la mejora de las propiedades ópticas (CIE $L^*a^*b^*$ y CIE L^*C^*), incluso después de un proceso de envejecimiento acelerado en laboratorio. Por otro lado, el ahorro de reactivos (peróxido de hidrógeno) en las pastas biotratadas y la posibilidad de recuperar gran parte de la actividad enzimática tras el proceso, avalan el potencial del sistema lacasa-mediador para ser utilizado a mayor escala en el bioblanqueo de pastas de papel.

BIOOXIDACIÓN AVANZADA DE COMPUESTOS Y POLÍMEROS AROMÁTICOS POR MICROORGANISMOS LIGNINOLÍTICOS Y SISTEMAS LACASA-MEDIADOR

Tal como hemos comentado, entre los mecanismos degradativos de los microorganismos ligninolíticos destacan preferentemente enzimas de tipo lacasa. La potenciación de la actividad oxidativa de estas enzimas se ha logrado merced al descubrimiento de los llamados mediadores, agentes oxidantes de bajo peso molecular y elevado potencial redox, que incrementa notablemente el rango de compuestos susceptibles de degradación.

Estos agentes incluyen radicales fenoxilo, derivados de la oxidación monovalente de los mediadores fenólicos por lacasas (sistemas lacasa-mediador o LMS), y radicales hidroxilo, generados entre otros mecanismos, mediante ciclos redox de quinonas. La aplicación de estos agentes oxidativos altamente reactivos y poco selectivos producidos por bacterias y hongos ligninolíticos a la degradación de compuestos y polímeros aromáticos, podría ser considerada como un «Proceso de Bio-Oxidación Avanzada» (PBOA).

En estudios anteriores hemos demostrado la eficacia de los sistemas lacasa-mediador en la degradación de com-

puestos xenobióticos de estructura química diversa. En la actualidad estamos desarrollando y optimizando los sistemas de producción extracelular de radicales hidroxilo a través del ciclo redox de quinonas. En este sentido, cabe destacar que se ha demostrado por primera vez la inducción de este ciclo en *Streptomyces*, resultando tan eficaz como el descrito anteriormente en el hongo filamentososo de la podredumbre blanca, *Pleurotus eyngii*. Con estos sistemas oxidativos inespecíficos hemos logrado hasta el momento, la degradación de compuestos xenobióticos como benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX) y un gran número de colorantes textiles, poniendo de manifiesto en la mayor parte de los ensayos una completa detoxificación. Nuestro objetivo a corto plazo es ampliar el rango de aplicación de estos sistemas a una gran variedad de contaminantes emergentes (antibióticos, antiinflamatorios, disruptores endocrinos y productos de cuidado personal), es decir, los denominados PPCPs.

PUBLICACIONES RECIENTES

- Aranda E, Marco-Urrea E, Caminal G, Arias ME, García Romera I, Guillén F (2010)** Advanced oxidation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) by *Trametes versicolor*. *J Hazardous Materials*. 181: 181-186.
- Arias ME, Rodríguez J, Pérez MI, Hernández M, Polvillo O, González-Pérez JA, González-Vila FJ (2010)** Analysis of chemical changes in *Picea abies* wood decayed by different *Streptomyces* strains showing evidences for biomechanical pulping. *Wood Science Technology*. 44: 179-188.
- Eugenio ME, Hernández M, Moya R, Martín-Sampedro R, Villar JC, Arias ME (2011)** Evaluation of a new laccase produced by *Streptomyces ipomoea* on biobleaching and ageing of kraft pulps. *BioResources*. 6: 3231-3241.
- Hernández M, Moya R, Molina-Guijarro JM, Guillén F, Arias ME (2011)**. Exploring the biotechnological applications of a halotolerant pH-versatile laccase produced by *Streptomyces ipomoea* CECT 3341. En: *Microorganisms in Industry and Environment. From Scientific and Industrial Research to Consumer Products*. A. Mendez-Vila (Ed). Pp. 350-354. ISBN: 13 978-981-4322-10-2. World Scientific Publishing Company Pte. Ltd. Singapur.
- Molina-Guijarro JM, Pérez J, Muñoz-Dorado J, Guillén F, Moya R, Hernández M, Arias ME (2009)**. Molecular and physico-chemical characterization of a novel pH-versatile and haloresistant laccase from *Streptomyces ipomoea* CECT 3341. A tool for the detoxification of azo dyes. *Int Microbiol*. 2:13-21.
- Moya R, Hernández M, García-Martín AB, Ball AS, Arias ME (2010)** Contributions to a better comprehension of redox-mediated decoloration and detoxification of azo dyes by a laccase produced by *Streptomyces cyaneus* CECT. *Bioresource Technology*. 101: 2224-2229.
- Moya R, Saastamoinen P, Hernández M, Suurnäkki A, Arias ME, Mattinen M-L (2011)** Reactivity of bacterial and fungal laccases on lignin in alkaline conditions. *Bioresource Technology*. 102: 10006- 10012.
- Orozco AL, Pérez MI, Guevara O, Rodríguez J, Hernández M, González-Vila FJ, Polvillo O, Arias ME (2008)** Biotechnological enhancement of coffee pulp residues by solid-state fermentation with *Streptomyces*. Py-GC/MS analysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 81: 247-252

Bacterias Lácticas del Vino y Otros Alimentos (Grupo BL-URV)

Albert Bordons*, **Cristina Reguant**, **Nicolas Rozès**, **Isabel Araque**, **Nair Olguin**, **Albert Hurtado**. Dpto. Bioquímica y Biotecnología, Facultad de Enología de Tarragona, Universitat Rovira i Virgili. * albert.bordons@urv.cat

Los miembros del equipo BL-URV, Albert Bordons (2ª fila, 4º por la izquierda), Cristina Reguant (2ª fila, 3ª izquierda), Nicolas Rozès (3ª fila, 1º izquierda), y las doctorandas Mar Margalef (1ª fila, 2ª izquierda) y Paloma Toraño (1ª fila, 1ª derecha), con otros componentes del grupo de Biotecnología Enológica del que forman parte.



Nuestro equipo BL-URV investiga sobre todo en las Bacterias Lácticas (BL) del vino pero también en las de otros alimentos, sobre todo de aceitunas, en la Facultad de Enología de Tarragona, de la Universitat Rovira i Virgili. El equipo está coordinado por A. Bordons, que con los otros dos profesores C. Reguant y N. Rozès, forman parte de un grupo de investigación más numeroso, llamado Biotecnología Enológica (ver foto, Figura 1). Este grupo en su conjunto, cuyo responsable es Albert Mas, es un grupo reconocido como consolidado por la Generalitat, con prestigio por la investigación en los diversos microorganismos relacionados con el vino, o sea, levaduras, bacterias lácticas y bacterias acéticas.

En 1988, coincidiendo con la puesta en marcha de los primeros estudios universitarios de Enología en Tarragona (y los primeros de España), varios profesores de esta universidad empezaron a realizar investigación en temas de enología, y en concreto entonces A. Bordons empezó a trabajar con las BL del vino. Desde entonces se han realizado 9 tesis doctorales en el equipo BL-URV, y con sus publicaciones internacionales, el equipo constituye hoy en día uno de los principales grupos de referencia sobre BL del vino en España. Cabe señalar la relevancia internacional de los grupos españoles en este ámbito, cuyas publicaciones en estos 5 últimos años constituyen un tercio de todas las del mundo (Bordons et al., 2011).

En la actualidad trabajan en el equipo BL-URV, además de los tres profesores mencionados, tres becarias predoctorales: Meritxell Bordas (no aparece en la foto, está realizando una estancia en Burdeos), Mar Margalef y Paloma Toraño, así como Isabel Araque, técnica postdoctoral (tampoco aparece en la foto, está de baja maternal). Los trabajos de nuestro equipo han sido financiados por varios proyectos del Plan Nacional (AGL) y también por empresas del sector, como las bodegas Torres o el consorcio de empresas del proyecto Deméter del programa Cenit del CDTI (2008-2012). Parte de la investigación la hemos realizado en colaboración con otros grupos de Valencia, Reus, Verona, Burdeos, Dijon, París, Túnez y Tucumán.

CARACTERIZACIÓN DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS DEL VINO

Las bacterias lácticas (BL) del vino son las que llevan a cabo la fermentación maloláctica (FML) o segunda fermentación de bastantes vinos tintos y algunos blancos y espumosos, principalmente cepas de *Oenococcus oeni* (Figura 2). La FML es la descarboxilación de L-málico a L-láctico, que conlleva un ligero descenso de la acidez. Otras ventajas que estas bacterias confieren al vino son la producción de otros metabolitos, como diacetilo a partir de cítrico,

FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA (FML)



Oenococcus oeni



Oenococcus oeni, la bacteria láctica del vino, y la fermentación maloláctica.

que también suponen mejoras organolépticas, y la estabilización microbiológica del vino, al haberse consumido durante la FML los restos de compuestos como azúcares, que podrían provocar contaminaciones posteriores en botella.

En los primeros años de trabajo del equipo BL-URV se estudió el efecto de diversos componentes del vino sobre la viabilidad y el metabolismo de *O. oeni* y sobre la cinética de la FML, como pesticidas, compuestos fenólicos y otros. Al mismo tiempo se procedió a realizar aislamientos de BL de vinos del sur de Cataluña, con lo que se ha conseguido tener un buen banco de cepas, y a partir de ellas realizar ensayos de selección para la FML. También se pusieron a punto técnicas moleculares de identificación de especie, sobre todo de *O. oeni*, y de tipificación de cepas, como una técnica multiplex (Araque et al., 2009a). Estas técnicas han permitido realizar estudios de dinámica de poblaciones de las diversas cepas, inoculadas o no, en FML en diversas condiciones.

Aparte de los beneficios comentados, algunas de las BL en ciertas condiciones pueden producir compuestos perjudiciales para la salud humana, como las aminas biógenas o el carbamato de etilo (CE), que es carcinógeno. Hemos estudiado la producción de precursores del CE, como la citrulina, a partir de arginina por la ruta ADI (arginina deiminasa) en las BL. Mediante cebadores degenerados se ha detectado la presencia de los genes *arc* de dicha ruta en diversas especies y cepas, y se ha encontrado correlación entre los genes y la degradación de arginina (Araque et al., 2009b).

ADAPTACIÓN DE OENOCOCCUS OENI A LAS CONDICIONES ESTRESANTES DEL VINO

Los enólogos saben bien que la FML a menudo tiene problemas para realizarse o para terminar, incluso aun-

que se recurra a la inoculación de cepas comerciales. El vino es un medio difícil para el desarrollo de *O. oeni*, ya que es un medio muy variable (depende de la vendimia, de la varietal de uva, de la levadura usada, etc), contiene otros microorganismos, y sobretodo, es inhóspito ya que tiene etanol (hasta 15% v/v), un pH ácido (3-4) y pocos nutrientes porque la levadura los ha agotado casi todos. Además, con el cambio climático estas dificultades se acrecientan, ya que se está constatando un aumento del grado alcohólico y una menor acidez, con menor contenido en málico, que es necesario para *O. oeni* (Reguant et al., 2010).

La principal línea de trabajo actual es el estudio de los mecanismos de respuesta de *O. oeni* para adaptarse y sobrevivir a estas condiciones estresantes. Los mecanismos pueden ser: a) modificaciones en la composición de ácidos grasos de membrana para compensar los efectos del etanol; b) activación de la ATPasa expulsando protones y al mismo tiempo generando ATPs mediante las descarboxilaciones de málico y cítrico; y c) la activación de una serie de proteínas de estrés, como chaperonas o proteínas de mantenimiento del equilibrio redox, como la tiorredoxina. Mediante PCR cuantitativa, hemos demostrado que unos de los genes que más se expresan en presencia de etanol son los de la ruta del citrato (Olguín et al., 2009), y que también se sobreexpresan genes de proteínas de estrés como *hsp18* o *clpP* (Olguín et al., 2010). También hemos conseguido analizar la expresión de estos genes más significativos extrayendo RNA directamente del vino. Actualmente estamos confirmando estos resultados mediante análisis transcriptómico con microarrays de *O. oeni*. Por otro lado, estamos viendo el papel protector del glutatión como antioxidante frente a los daños del etanol en *O. oeni*.

LAS BACTERIAS LÁCTICAS EN LA ELABORACIÓN DE LA ACEITUNA ARBEQUINA DE MESA

Las aceitunas arbequinas de mesa se consumen tradicionalmente en Cataluña. El proceso de elaboración es muy artesanal y, a diferencia de las típicas aceitunas españolas, no tiene un previo tratamiento alcalino para eliminar el amargor. Éste se elimina parcialmente en un proceso de fermentación natural, del cual no se había estudiado el proceso microbiológico, y que hemos ido caracterizando desde 2004. En los primeros días del proceso de fermentación predominan las levaduras, entre las que hemos identificado diversas especies de *Candida* y *Pichia*, pero a las pocas semanas las BL ya son prevalentes: *Lactobacillus pentosus*, *L. plantarum* y *L. paraplantarum* (Hurtado et al., 2008) y ellas son la clave del proceso para conseguir la maduración y comestibilidad de las aceitunas. Hemos aislado cepas de *L. pentosus* que pueden funcionar como estárter (Hurtado et al., 2010) y también hemos caracterizado unos cien aislados de diferentes orígenes de las tres especies de *Lactobacillus*, relacionándolos con sus perfiles de genes de bacteriocinas (Hurtado et al., 2011b). Recientemente hemos publicado una revisión sobre el papel relevante de las BL en el proceso de fermentación de las aceitunas de mesa en general (Hurtado et al., 2012).

PRINCIPALES PUBLICACIONES RECIENTES

- Araque I, Bordons A, Reguant C. (2009a)** A multiplex PCR method for simultaneous species identification and strain typification of *Oenococcus oeni*. *World J. Microbiol. Biotech.* 25: 15-18
- Araque I, Gil J, Carreté R, Bordons A, Reguant C. (2009b)** Detection of *arc* genes related with the ethyl carbamate precursors in wine lactic acid bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 57: 1841-1847

- Araque I, Reguant C, Rozès N, Bordons A. (2011)** Influence of wine-like conditions on arginine utilization by lactic acid bacteria. *Internat. Microbiol.* 14: 225-233
- Bordons A, Reguant C, Rozès N. (2011)** Investigación de calidad en fermentación maloláctica y bacterias lácticas del vino en España. *ACEnología*, 128
- Hurtado A, Reguant C, Esteve-Zarzoso B, Bordons A, Rozès N. (2008)** Microbial population dynamics during the processing of *Arbequina* table olives. *Food Res. Inter.* 41: 738-744
- Hurtado H, Reguant C, Bordons A, Rozès N. (2009)** Influence of fruit ripeness and salt concentration on the microbial processing of *Arbequina* table olives. *Food Microbiol.* 26: 827-833
- Hurtado H, Reguant C, Bordons A, Rozès N. (2010)** Evaluation of a single and combined inoculation of a *Lactobacillus pentosus* starter for processing cv. *Arbequina* natural green olives. *Food Microbiol.* 27: 731-740
- Hurtado A, Reguant C, Bordons A, Rozès N. (2011a)** Expression of *Lactobacillus pentosus* B96 bacteriocin genes under saline stress. *Food Microbiol.* 28: 1339-1344
- Hurtado A, Ben Othman N, Chammem N, Hamdi M, Ferrer S, Reguant C, Bordons A, Rozès N. (2011b)** Characterization of *Lactobacillus* isolates from fermented olives and their bacteriocin gene profiles. *Food Microbiol.* 28: 1514-1518
- Hurtado A, Reguant C, Bordons A, Rozès N. (2012)** Lactic acid bacteria from fermented table olives (Review). *Food Microbiol.*, doi: 10.1016/j.fm.2012.01.006
- Olguín N, Bordons A, Reguant C. (2009)** Influence of ethanol and pH on the gene expression of the citrate pathway in *Oenococcus oeni*. *Food Microbiol.* 26: 197-203
- Olguín N, Bordons A, Reguant C. (2010)** Multigenic expression analysis as an approach to understanding the behaviour of *Oenococcus oeni* in wine-like conditions. *Inter. J. Food Microbiol.* 144: 88-95
- Olguín N, Alegret JO, Bordons A, Reguant C. (2011)** Beta-Glucosidase activity and *bgl* gene expression of *Oenococcus oeni* strains in model media and Cabernet Sauvignon wine. *Amer. J. Enol. Vitic* 62: 99-105
- Reguant C, Olguín N, Bordas M, Rozès N, Bordons A. (2010)** Nuevos retos para *Oenococcus oeni* como consecuencia del cambio climático. *ACEnología*, 122



Diversidad de actinomicetos y sus aplicaciones biotecnológicas

Gonzalo Cuesta. Departamento de Biotecnología. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46022 Valencia. Tel: 963877423 (goncueam@btc.upv.es)



Integrantes del grupo de investigación: de izquierda a derecha, Ana González (Técnico Superior de Laboratorio), Rocío Olmo (Becaria), Albert Soler (Doctor por la Universidad Politécnica de Valencia), Nelson Talavera (Becario), Gonzalo Cuesta (Profesor Contratado Doctor), Alfred Fillol (Becario).

El grupo de Actinomicetos de la Universidad Politécnica de Valencia tiene una reciente historia. Comenzó en 2004 cuando el que escribe estas líneas defendió la tesis doctoral que trataba sobre el estudio de actinomicetos nocardioformes presentes en estaciones depuradoras y que ocasionan problemas de espumas biológicas. La elección del tema de dicha tesis tenía como objetivo cubrir el vacío que existía en nuestro laboratorio donde tradicionalmente se había trabajado en microbiología de alimentos. Así pues, me propusieron realizar la tesis doctoral sobre actinomicetos. Este grupo de microorganismos es muy amplio y diverso y por lo tanto había que acotar el grupo microbiano a estudiar. Después de realizar las búsquedas bibliográficas preliminares y a propuesta del que sería mi director de tesis, el Dr. José Luis Alonso Molina, me sentí atraído por un tema que no había sido estudiado en España. Se trataba de estudiar un grupo de actinomicetos que interfieren en el proceso de depuración de aguas residuales. El proceso de

depuración de aguas más frecuentemente utilizado consiste en el sistema de fangos activados, en el que el agua residual se somete a una aireación controlada para reducir la DBO (Demanda Biológica de Oxígeno) a la vez que se forma un floculo sedimentable. En este proceso intervienen una enorme diversidad de microorganismos, unos beneficiosos y otros perjudiciales. Si todo funciona correctamente, la DBO se reduce al máximo y se forman floculos de un tamaño adecuado que sedimentan en el decantador secundario, obteniéndose un efluente claro que puede ser vertido sin causar graves problemas medioambientales. Dentro de los microorganismos que interfieren en este proceso se encuentran los actinomicetos nocardioformes. Este grupo de microorganismos pertenecen al suborden *Corynebacterineae* incluido en la clase *Actinobacteria* y se caracterizan por tener ácidos micólicos en su superficie celular, lo que les confiere alta hidrofobicidad. Esta hidrofobicidad unida al hecho de que muchas especies forman filamentos rami-

ficados es la principal causa de la producción de espumas biológicas en depuradoras que interfieren en el proceso de depuración. Tradicionalmente la formación de estas espumas biológicas se ha asociado a la presencia de la especie *Gordonia amarae*. El resultado de la tesis mostró que además de *G. amarae* existen otras muchas especies de nocardioformes implicados en la formación de espumas biológicas. Por lo tanto la producción de espumas biológicas se debe a una asociación compleja de diferentes microorganismos pertenecientes al suborden *Corynebacterineae*, algo importante a tener en cuenta por el operador de planta que hasta ahora consideraba la producción de espumas vinculada casi exclusivamente a la presencia de *G. amarae* como única productora de espumas.

Como extensión a los estudios de biodiversidad de nocardioformes en depuradoras, recientemente Albert Soler Hernández defendió su tesis doctoral en la que se aislaron e identificaron más de 150 actinomicetos de diversas estaciones depuradoras. Todos estos actinomicetos se identificaron mediante taxonomía polifásica. Resulta sorprendente el resultado de esta tesis por la enorme diversidad de especies encontradas, si lo comparamos con estudios similares en plantas europeas. Se han encontrado especies de nocardioformes que nunca habían sido aisladas en estaciones depuradoras, patógenos oportunistas como *Gordonia bronchialis*, *G. sputi*, *Tsukamurella pulmonis*, *Dietzia maris* y *Williamsia maris* y un buen número de micobacterias ambientales. Además, y según los criterios que definen la especie en procariotas, nos hemos encontrado con una serie de posibles especies nuevas que generarán publicaciones en un futuro.

Uno de los aspectos prácticos que realiza nuestro grupo es el estudio de actinomicetos con capacidad de biodegradación de compuestos tóxicos. De hecho, muchos de los actinomicetos aislados de depuradoras industriales tienen la capacidad de degradar derivados aromáticos del petróleo como el fenol y el naftaleno. Esta capacidad se ha estudiado mediante cultivo en placa utilizando medios de cultivo donde la única fuente de carbono disponible es el fenol y el naftaleno. Además, para estudiar el potencial catabólico de estas cepas degradadoras hemos detectado por PCR el gen que codifica para la catecol 1,2-dioxigenasa (CatA) que es la enzima que cataliza el primer paso en la biodegradación de compuestos aromáticos. Tenemos pues unos buenos candidatos microbianos para realizar estudios de biorremediación en ambientes contaminados por derivados del petróleo, tanto acuáticos como terrestres.

Sin dejar de estudiar la biodiversidad de actinomicetos en depuradoras, hemos ampliado el estudio a otros grupos de actinomicetos y a otras fuentes de aislamiento. Una de las líneas de trabajo actuales es la búsqueda de actinomicetos aislados de diferentes tipos de compost y vermicompost con capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos. La utilidad práctica de estos estudios viene de la ob-

servación de que muchos composts tienen la capacidad de inhibir ciertas enfermedades en plantas causadas por hongos fitopatógenos. Nuestro grupo ha aislado e identificado, a partir de diferentes tipos de compost, actinomicetos con capacidad inhibitoria frente hongos fitopatógenos. Esto demuestra que la capacidad inhibitoria del compost descrita en diversas referencias se debe a los actinomicetos presentes en él y que intervienen en la fase final de maduración del proceso de compostaje. Por lo tanto, cabe la posibilidad de utilizar estas cepas de actinomicetos como inóculo en el proceso de compostaje, confiriendo al producto final la capacidad de inhibir agentes fitopatógenos.

Actualmente la actividad de nuestro grupo consiste en buscar aplicaciones biotecnológicas prácticas a los actinomicetos aislados de diferentes muestras ambientales. Entre las aplicaciones estudiadas están las actividades antibióticas frente a patógenos emergentes, hongos fitopatógenos, actividades enzimáticas diversas, degradación de compuestos derivados del petróleo, herbicidas, etc. Todos los actinomicetos con actividades interesantes se identifican mediante el análisis de las secuencias del gen 16S rDNA y por taxonomía polifásica.

PUBLICACIONES RECIENTES

- Alonso JL, Cuesta G, Ramírez GW. (2009)** Manual de Técnicas Avanzadas para la Identificación y Control de Bacterias Filamentosas. Ed. Epsar-Generalitat Valenciana. D.L.: 1157-2009. ISBN: 978-84-482-5161-1.
- Baeza A, Alonso JL, Bernácer I, Morenilla JJ, Cuesta G. (2011)** Estudio de morfotipos de *Nostocoida limicola* mediante técnica FISH asociados a problemas de espumas por *Microthrix* en EDAR. TECNOLOGÍA DEL AGUA. ISSN: 0211-8173. Dep. Legal: B. 4156-84.
- Castillo MA, Felis N, Aragón P, Cuesta G, Sabater C. (2006)** Biodegradation of the herbicide diuron by *Streptomyces* isolated from soil. International Biodegradation and Bioremediation. 58: 196-202.
- Cuesta G, García de la Fuente R, Abad M, Fornés F. (2012)** Isolation and identification of actinomycetes from a compost-amended soil with potential as biocontrol agents. Journal of Environmental Management. 95: S280-S284.
- Cuesta G, Soler A, Alonso JL, Morenilla JJ, Bernácer I. (2011)** Diversity of foaming producing nocardioform actinomycetes from wastewater treatment plants in Spain. Microorganisms in Industry and Environment. Ed. World Scientific Publishing Co. ISBN: 978-981-4322-10-2
- Cuesta G, Morales L, García de la Fuente R, Botella S, Fornés F, Abad M. (2009)** Identification of actinomycetes with antifungal activity isolated from soil amended with compost. Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Ed. World Scientific Publishing Co. ISBN: 978-981-283-754-7. Pag.: 55-58
- Soler A, Alonso JL, Cuesta G. (2009)** Diversidad de actinomicetos nocardioformes productores de espumas biológicas aislados de plantas depuradoras de aguas residuales de la Comunidad Valenciana. TECNOLOGÍA DEL AGUA. ISSN: 0211-8173. Dep. Legal: B. 4156-84

Biotecnología Microbiana para la Industria Agroalimentaria

Coordinadores: **Pilar Calo Mata y Jorge Barros Velázquez.** Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, C/Carballo Calero s/n, Campus Universitario Norte, 27002 Lugo.



Miembros del Grupo de Investigación. Delante (izqda. a dcha.): Mohamed El Sayed, Leonardo Acuña, Pilar Calo-Mata, Conchi Fernández, Karola Böhme, Sonia Caamaño, Santiago Aubourg y Minia Sanxuás; detrás (izqda. a dcha.): Marcos Quintela, Jorge Barros, José M. Gallardo, Benito Cañas e Ignacio Ortea.

Nuestro grupo comenzó su andadura hace aproximadamente 10 años. Desde entonces hemos desarrollado líneas de investigación orientadas a la caracterización de microorganismos de interés para la industria alimentaria y, por otra parte, al desarrollo de técnicas moleculares de trazabilidad de ingredientes en alimentos. En el ámbito microbiológico hemos abordado la caracterización de microorganismos de interés en procesos fermentativos y de bioconservación, así como el estudio de aquellas especies microbianas más problemáticas por su carácter patógeno o alterante de alimentos frescos e industrializados.

Dentro de este gran ámbito que representa la aplicación de herramientas biotecnológicas a la industria alimentaria, en los últimos años hemos desarrollado específicamente los siguientes proyectos:

- Desarrollo de microarrays basados en la detección de la reacción de la ligasa para la detección y cuantificación directa en alimentos de microorganismos de interés industrial.
- Definición de biomarcadores proteicos para la identificación directa de microorganismos y otros ingredientes de interés en la industria alimentaria, utilizando técnicas de espectrometría de masas MALDI-TOF y fragmentación peptídica.
- Identificación de SNPs de interés para la identificación precisa de especies filogenéticamente muy próximas y de relevancia alimentaria.

Estas líneas de investigación han requerido la confección de una amplia colección de microorganismos de interés en la industria alimentaria, las cuales han sido caracterizadas a nivel genómico y proteómico. En el ámbito de la proteómica, hemos tenido la oportunidad de colaborar desde el principio de nuestra existencia como grupo, con los equipos dirigidos por el Prof. José M. Gallardo en el IIM-CSIC y por el Prof. Benito Cañas en la UCM. En el ámbito de la tecnología de microarrays basados en la detección de la reacción de ligación, venimos colaborando desde hace varios años con el grupo dirigido por la Dra. Bianca Castiglioni en el IBBA-CNR (Milán, Italia) y con el Dr Stefano Morandi del grupo dirigido actualmente por la Dra Milena Brasca en el ISPA-CNR (Milán, Italia). Más recientemente, y gracias a la participación en un proyecto INNPACTO, tenemos la oportunidad de aplicar dicha tecnología a problemáticas específicas de la industria láctea. Dicho proyecto es posible gracias a la participación de cinco socios industriales de Madrid, País Vasco y Galicia.

Asimismo, la presente investigación ha permitido la creación de una base de datos de acceso libre, Spectrabank (www.spectrabank.org o www.spectrabank.eu), que permite acceder a los perfiles MALDI-TOF de las principales especies microbianas de interés alimentario, a sus listas de masas, etc. Dicha base de datos ha sido realizada en colaboración con la USC y el Centro de Supercomputación de Galicia, gracias a sendos proyectos financiados por el MEC y la Xunta de Galicia y representa actualmente la WEB de

acceso libre más completa a nivel internacional en el ámbito de la identificación microbiana mediante MALDI-TOF.

Esta línea de investigación, coordinada en la USC por Pilar Calo-Mata y Jorge Barros Velázquez, cuenta con la participación de los doctorandos Karola Böhme, Inmaculada Fernández No, Marcos Quintela Baluja, Sonia Caamaño Antelo y Mohammed Elsayed, así como con los alumnos de postgrado Isabel Fernández, Beatriz Toimil y David Pérez. Asimismo colabora con nosotros el investigador post-doctoral Ignacio Ortea.

Caracterización de bacterias ácido lácticas probióticas y productoras de bacteriocinas, aisladas de nuevas fuentes, tales como esponjas marinas, leche de camella, etc.

Esta línea de investigación, si bien se había iniciado en nuestro grupo con el aislamiento a partir de especies acuícolas de cepas de *Enterococcus faecium* productoras de enterocina P y con actividad probiótica, se ha visto enriquecida en los últimos años con la colaboración con diversos grupos de investigación. De entre ellos, destacar el del Dr. Stefano Morandi en el ISPA-CNR de Milán (Italia), grupo con el que se ha colaborado en el aislamiento de microbiota ácido láctica de interés para la industria láctea a partir de leche y productos lácteos de diversas regiones de Italia. Más recientemente, y gracias a diversos proyectos de la AECID, hemos venido colaborando con el INSTM de Túnez y la Universidad de Orán (Argelia). Estas colaboraciones nos han permitido acceder a organismos de la costa mediterránea norteafricana escasamente estudiados, tales como esponjas marinas, donde nuestro equipo, en colaboración con el grupo de la Prof. Monia Elbour (Túnez) ha logrado el aislamiento de cepas de enterococos multiproductoras de diversas enterocinas con actividad frente a patógenos humanos y de peces y que actualmente se están evaluando como ingredientes de piensos en la industria acuícola. En esta línea vienen trabajando las doctorandas tuncinas Ouissal Chahad y Rym El Jeni.

Por otra parte, esta línea se complementa con el aislamiento de nuevas cepas bacteriocinogénicas de *Leuconostoc mesenteroides* a partir de alimentos escasamente conocidos en Occidente, tal es el caso de la leche de camella, alimento que exhibe interesantes propiedades probióticas gracias a la presencia de ciertas especies de BAL escasamente estudiadas hasta ahora. Actualmente nos encontramos caracterizando, en colaboración con el grupo de la Prof. Zineb Benmechermene (Orán, Argelia), un nuevo tipo de mesenterocina con potencial aplicación industrial.

Asimismo, y gracias a un programa de cooperación internacional auspiciado por el Banco Santander, venimos desarrollando una colaboración con el grupo de investigación dirigido por el Prof. Augusto Bellomio del CONYCEC (Tucumán, Argentina), para la aplicación de bacteriocinas híbridas, creadas por fusión de los genes codificantes para mundticina y colicina, en la bioconservación de productos alimentarios, tema de investigación del doctorando argentino Leonardo Acuña. Desarrollo de nuevos envases laminados incluyendo extractos de algas y nuevos métodos de refrigeración basados en aceites esenciales y otros agentes antimicrobianos con actividad bioconservante y su aplicación en alimentos.

En el campo de la inhibición de la microbiota patógena y alterante en alimentos frescos, venimos colaborando con

el equipo dirigido por el Prof. Santiago Aubourg en el IIM-CSIC así como con diversas empresas del sector marino, para el desarrollo de láminas biodegradables que incluyan bioconservantes naturales. Dichas láminas, en contacto con alimentos frescos, inhiben el crecimiento microbiano de las principales especies patógenas y alterantes en alimentos, tanto Gram(+) como Gram(-), permitiendo una extensión de la vida comercial de dichos alimentos. Asimismo, esta línea se complementa con la investigación de nuevos métodos de refrigeración basados en hielo líquido y en escamas que incluyen bioconservantes y que han permitido extender la vida útil de especies marinas refrigeradas.

Esta línea de investigación cuenta con la participación de las doctorandas Minia Sanxuás y Bibiana García, así como con el alumno de postgrado Alberto Fernández.

DIEZ PUBLICACIONES DE LOS ÚLTIMOS TRES AÑOS

Böhme K, Fernández-No I, Barros-Velázquez J, Gallardo JM, Cañas B, Calo-Mata P (2010) Species differentiation of food spoilage and pathogenic Gram-negative bacteria present in seafood by MALDI TOF mass fingerprinting. *J Proteome Res* 9: 3169-3183.

Böhme K, Fernández-No I, Barros-Velázquez J, Gallardo JM, Cañas B, Calo-Mata P (2010) Comparative analysis of protein extraction methods for the identification of seafood-borne pathogenic and spoilage bacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. *Anal Meth* 2: 1941-1947.

Böhme K, Fernández-No I, Gallardo JM, Cañas B, Barros-Velázquez J Calo-Mata P (2011) Rapid species identification of seafood spoilage and pathogenic Gram-positive bacteria by MALDI-TOF mass fingerprinting. *Electrophoresis*, 32: 2951-2965.

Chahad OB, El Bour M, Calo-Mata P, Boudabous A, Barros-Velázquez J (2012) Discovery of novel preservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their applications in seafood products. *Res Microbiol* 163: 44-54.

Fernández-No I, Böhme K, Calo P, Barros-Velázquez J (2011) Characterization of histamine-producing bacteria from farmed blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) and turbot (*Psetta maxima*). *Int J Food Microbiol* 151: 182-189.

Fernández-No I, Böhme K, Calo-Mata P, Cañas B, Gallardo JM, Barros-Velázquez J (2012) Isolation and characterization of *Streptococcus parauberis* from vacuum-packaged refrigerated seafood products. *Food Microbiol*. 30: 91-97.

Fernández-No I, Böhme K, Gallardo JM, Barros-Velázquez J, Cañas B, Calo-Mata P (2010) Differential characterization of biogenic amine-producing bacteria involved in food poisoning by MALDI TOF peptide mass fingerprinting. *Electrophoresis* 31: 1116-1127.

Fernández-No I, Guarddon M, Boehme K, Cepeda A, Calo-Mata P, Barros-Velázquez J (2011) Detection and quantification of spoilage and pathogenic *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* by real-time PCR. *Food Microbiol* 28: 605-610.

Hosseini SV, Arlindo S, Böhme K, Fernández-No I, Calo-Mata P, Barros-Velázquez J (2009) Genetic and probiotic profiling of bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* strains isolated from non-fermented animal foods. *J Appl Microbiol* 107: 1392-1403.

Sanjuás Rey M, García-Soto B, Fuertes-Gamundi JR, Aubourg S, Barros-Velázquez J. (2012) Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *LWT-Food Science and Technology* 46, 217-223.

Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana en Santiago

Áreas de Interés: El grupo de investigación posee amplia experiencia en clonación y explotación de genes con potencial industrial en los ámbitos farmacéutico, ingeniería de procesos y tecnología de alimentos. En sus investigaciones destacan los trabajos en genética de levaduras y hongos filamentosos mediante estrategias alternativas a la ingeniería genética, basándose en conocimientos de genética clásica de microorganismos eucariotas.

Tomas González Villa.



Componentes del Grupo (de izquierda a derecha): Koke Araya-Garay, Lucía Feijoo Siota, José Manuel Ageitos Martínez, Trinidad de Miguel Bouzas, Tomas González Villa, Margarita Poza Domínguez, Patricia Veiga Crespo, Juan Vallejo Vidal y Lucía Blasco.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Análisis y mejora del vino

La industria vinica trata de mejorar el cultivo y la calidad de las distintas variedades de uva y, también, mejorar determinados caracteres de las cepas de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que son empleadas como «pie de cuba». Se persigue así obtener un producto de la calidad y características que demandan los consumidores. Por ello, las líneas de investigación están centradas en la mejora de cepas vnicas de *S. cerevisiae* mediante el empleo de ingeniería genética y en el análisis bioquímico del vino para establecer la edad del mismo. Por una parte se trata de facilitar el trabajo con cepas vnicas en el laboratorio reduciendo su nivel de ploidía, incrementando su capacidad de esporulación y haciéndolas heterotáticas mediante la interrupción del gen H0. El nivel de ploidía se ha reducido empleando el agente antifúngico benomilo, que

provoca pérdida cromosómica. Además se ha conseguido de esta forma, aumentar el número de ascas con cuatro esporas producidas tras varias meiosis en comparación con las obtenidas a partir de cepas en las que no se ha empleado ningún tipo de tratamiento.

También se llevó a cabo la identificación y caracterización de genes de *S. cerevisiae* implicados en la formación de espuma en el vino con la finalidad de clonarlos en levaduras cerveceras, *Saccharomyces carlsbergiensis*, para aumentar la cantidad y calidad de la espuma obtenida en la cerveza.

Utilización de enzibióticos como herramientas terapéuticas contra cepas multirresistentes

El uso abusivo de antibióticos convencionales ha provocado la aparición de microorganismos resistentes a un amplio espectro de estos fármacos, por lo que la efectividad de terapias antibacterianas se ha visto mermada.

Por esta razón se hace necesaria la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por microorganismos multirresistentes.

Estos posibles agentes terapéuticos son los enzibióticos. Los enzibióticos son enzimas líticas que emplean los virus bacteriófagos en algún momento durante su ciclo lítico. Con estas enzimas, matan y lisan las bacterias que infectan. Hay dos tipos: lisozimas y holinas. Las lisozimas son β -1,4-acetilmuramidasa que actúan rompiendo enlaces entre el ácido N-acetilmurámico y la N-acetilglucosamina del peptidoglucano que forma la pared bacteriana. Las holinas forman poros en la membrana para que las lisozimas puedan acceder a la pared bacteriana.

Aunque se conocen desde principios del siglo xx, los enzibióticos quedaron olvidados cuando se descubrieron los antibióticos convencionales, pero ahora resurgen debido a las amplias posibilidades que nos presenta la Biotecnología en la manipulación de microorganismos.

Si el concepto de enzibiótico se extiende a aquellas enzimas capaces de actuar sobre las paredes fúngicas, como las actividades glucanásicas y las quitinasas producidas por hongos como *Trichoderma harzianum* o la bacteria *Bacillus circulans*, la batería terapéutica se amplía enormemente. Este grupo de investigación, ha estado trabajando en la aplicación de las enzimas endoglucanasa para el tratamiento de enfermedades fúngicas.

Las grandes ventajas que presenta la terapia con enzibióticos son su gran especificidad hacia la especie bacteriana que causa la infección, no producen efectos secundarios, no presentan resistencias, los costes de producción son bajos y no atacan a la microflora normal debido a su gran especificidad.

PALEOMICROBIOLOGÍA: BÚSQUEDA DE MICROORGANISMOS FÓSILES Y GENES ANCESTRALES EN PIEDRAS DE ÁMBAR

El estudio de la evolución y de los orígenes de las especies ha sido y será uno de los grandes retos de la Ciencia. La gran dificultad a la hora de abordar el estudio de la evolución de los microorganismos fue localizar muestras de microorganismos fósiles no contaminadas y aisladas de las especies actuales.

El ámbar es una resina de origen vegetal, secretada principalmente por coníferas y leguminosas, como mecanismo de defensa. Durante su proceso de fosilización, esta resina forma una matriz en la que quedan embebidos los organismos presentes en la superficie del árbol durante su secreción. Este hecho convierte al ámbar en el material ideal para la búsqueda de microorganismos ancestrales. Además, el ámbar va a formar una barrera de protección del DNA ancestral frente a agentes como las radiaciones ultravioletas y el agua. Además, el ámbar facilita el proceso de datación de las muestras ya que es posible datarlo

por estratigrafía. Es posible obtener muestras de ámbar formadas durante el Mioceno, el Oligoceno o, incluso, el Cretácico.

El gran desarrollo de técnicas como la PCR ha facilitado enormemente el estudio de DNA fósil. La gran dificultad de estos trabajos radica en la contaminación con muestras recientes y la degradación del DNA ancestral. Para evitar ambos problemas es necesario el desarrollo de controles estrictos durante todo el proceso de manipulación de las muestras, un método estricto de esterilización y un estricto y crítico análisis de todos los resultados obtenidos.

Este grupo de investigación ha desarrollado un método de esterilización de la superficie de las piedras de ámbar que le ha permitido, tras estrictos análisis para evitar la contaminación con DNA actual, el aislamiento de distintos fragmentos de genes ancestrales valiéndose de herramientas tan potentes como la pirosecuenciación, que ha permitido hasta la fecha, la obtención de más de 100.000 amplicones, de los que ya se han identificado más de 500 secuencias pertenecientes a distintos organismos tanto procariotas como eucariotas.

POLIGALACTURONASAS

Las pectinas o sustancias pécticas son polisacáridos que se componen principalmente de ácidos poligalacturónicos coloides. Se hallan en los tejidos de las plantas. Las pectinas son útiles por su capacidad para formar geles o jaleas con compuestos polihidroxilados, como los azúcares o con cantidades diminutas de iones polivalentes. Sin embargo la capacidad de formar geles produce que las pulpas obtenidas de los vegetales sean muy densas, lo que dificulta su procesado.

Las poligalacturonasas rompen estas cadenas pécticas, produciendo la licuación del zumo. Las poligalacturonasas se pueden clasificar por su modo de actuación, así se habla de exopoligalacturonasas cuando la acción del enzima se realiza por los extremos de las cadenas, o endopoligalacturonasas que cortan en cualquier punto interno de las cadenas. Este último tipo tiene una actividad mucho mayor que el anterior, dado que tiene muchos más lugares donde actuar.

En el grupo de investigación se ha trabajado con las poligalacturonasas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* y *Medicago sativa*. Se han caracterizado, clonado y expresado en diferentes organismos tales como *Escherichia coli*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia pastoris* y *Arabidopsis thaliana*. Como resultado de esta experiencia se han aislado y conseguido cepas superproductoras de poligalacturonasa, tanto de modo natural como recombinante, susceptibles de aplicación industrial con excelentes resultados. Fruto de estas investigaciones, se han conseguido numerosas publicaciones y patentes, tanto españolas como internacionales. Con el fin de mejorar la actividad de la cepa productora *Kluyveromyces marxianus* CCEBI 2011 se ha conseguido un fenotipo floculante inducible por anaerobiosis para conseguir la producción continua de pectinasa y etanol.

PROTEASAS

Las proteasas son enzimas que degradan los enlaces peptídicos de las proteínas. Intervienen en gran variedad de funciones biológicas esenciales para la vida en todos los organismos. Las proteasas representan uno de los tres grandes grupos de enzimas utilizados a nivel industrial. Los microorganismos representan dos tercios de la producción comercial mundial de proteasas. Estos pueden ser cultivados en grandes cantidades en poco tiempo estableciendo procesos de fermentación. Con estos procesos de fermentación se pueden obtener las cantidades deseadas de producto. Los microorganismos recombinantes representan una excelente fuente de producción de proteasas heterólogas debido a su rápido y económico crecimiento.

En nuestro grupo de investigación se ha caracterizado y producido una proteasa procedente de *Candida caseinolytica*. Esta proteasa alcalina con amplio rango de pH podría tener interés en la industria de los detergentes o en la del cuero. Se ha trabajado con una proteasa de tipo aspártico producida por *Myxococcus xanthus*. Esta proteasa ha sido caracterizada, clonada y expresada en *E. coli* y levaduras. Este enzima tiene la capacidad de coagular leche por lo que podría tener interés en la industria láctea.

Se ha clonado y expresado la proteasa codificada por el gen *XPR2* procedente de *Yarrowia lipolytica* en *Pichia pastoris*. La proteasa codificada por este gen es una proteasa alcalina que podría ser útil en la industria de los detergentes y en la del cuero.

Se ha clonado y expresado con éxito la quimosina de *Bubalus arnee bubalis* y *Capra hircus*. Estas dos quimosinas se han comparado con las existentes en el mercado y se ha realizado un estudio bioquímico. La quimosina es una proteasa aspártica utilizada en la elaboración de quesos para coagular la leche.

En esta línea de proteasas, también se ha purificado y caracterizado una serín proteasa de *Bacillus licheniformis* con capacidad coagulante y esta serín proteasa se ha expresado con éxito en *E. coli*.

CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos naturales ampliamente distribuidos en la naturaleza, responsables del color amarillo, naranja y rojo de plantas y animales, en el mundo microbiano se encuentran en las algas, bacterias, hongos y levaduras. Se estima que la naturaleza produce aproximadamente 100 millones de toneladas de carotenoides al año.

Los carotenoides son utilizados tanto en la industria alimentaria, como colorantes, como en la industria cosmética. Se les han atribuido funciones y acciones biológicas, como la actividad de pro-vitamina A, aumento del sistema inmune y una disminución del riesgo de enfermedades degenerativas. Los pigmentos naturales actuales no son capaces de satisfacer las demandas actuales de la industria y el uso de pigmentos sintéticos cuenta cada vez con un mayor rechazo social. Se hace, pues, necesaria la búsqueda de nuevas fuentes naturales

microbianas de carotenoides así como la optimización de la producción de carotenos de las fuentes actuales.

Las líneas de investigación abordadas en nuestro grupo de investigación han sido: La bioproducción de carotenoides de origen natural mediante la construcción y utilización de cepas superproductoras de la levadura *Phaffia rhodozyma* como factorías celulares comercialmente competitivas en el campo de la producción de antioxidantes, principalmente astaxantina.

Transformación de bacterias y levaduras de interés biotecnológico para producción de moléculas antioxidantes mediante el control de los genes y las rutas de biosíntesis de carotenoides, como es el caso de *Gordonia jacobea* que es capaz de sintetizar y acumular grandes cantidades de cantaxantina.

En otra de las líneas de actuación se realizó la búsqueda, clonación y expresión de los genes ζ -caroteno desaturasa (*zds-Fc*) y licopeno β -ciclase (β -lyc-Fc) de *Ficus carica*. Finalmente, se logró por primera vez en la levadura *P. pastoris* la producción de β -caroteno y astaxantina, aportando una fuente microbiológica alternativa para la biosíntesis de carotenoides.

LAS 10 PUBLICACIONES MÁS REPRESENTATIVAS DE LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS

- Ageitos JM, Vallejo JA, Veiga-Crespo P, Villa TG (2011)** Oily yeasts as oleaginous cell factories. *Appl Microbiol Biot* 90: 1219-1227.
- Araya-Garay JM, Feijoo-Siota L, Veiga-Crespo P, Villa TG (2011)** cDNA cloning of a novel gene codifying for the enzyme lycopene β -cyclase from *Ficus carica* and its expression in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotech* 92: 769-777.
- Feijoo-Siota L, Villa TG (2011)** Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications. *Food Bioprocess Tech*, 4: 1066-1088.
- Poza M, Prieto-Alcedo M, Sieiro C, Villa TG (2004)** Cloning and expression of *clt* genes encoding milk-clotting proteases from *Myxococcus xanthus* 422. *Appl Environ Microbiol* 70: 6337-6341.
- Poza M, Sestelo ABF, Ageitos JM, Vallejo JA, Veiga-Crespo P, Villa TG (2007)** Cloning and expression of the *XPR2* gene from *Yarrowia lipolytica* in *Pichia pastoris*. *J Agr Food Chem* 55: 3944-3948.
- Sieiro C, Poza M, Vilanova M, Villa TG (2003)** Heterologous expression of the *Saccharomyces cerevisiae* *PGU1* gene in *Schizosaccharomyces pombe* yields an enzyme with more desirable properties for the food industry. *Appl Environ Microb* 69: 1861-1865.
- Sieiro C, Sestelo ABF, Villa TG (2009)** Cloning, Characterization, and Functional Analysis of the *EPG1-2* Gene: A New Allele Coding for an Endopolygalacturonase in *Kluyveromyces marxianus*. *J Agr Food Chem*, 57: 8921-8926.
- Vallejo JA, Ageitos JM, Poza M, Villa TG (2008)** Cloning and Expression of Buffalo Active Chymosin in *Pichia pastoris*. *J Agr Food Chem* 56: 10606-10610.
- Veiga-Crespo P, Ageitos JM, Poza M, Villa TG (2007)** Enzybiotics: a look to the future, recalling the past. *J Pharm Sci-US* 96: 1917-1924.
- Veiga-Crespo P, Fuste E, Vinuesa T, Vinas M, Villa TG (2011)** Synergism between outer membrane proteins and antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 2206-2211.

Microbiología Molecular y Biotecnología de Hongos

Jesús Manuel Cantoral, María Carbú, María Esther Rodríguez, Francisco Javier Fernández-Acero, Carlos Garrido, Eugenia Muñoz-Bernal, Victoria Eugenia González-Rodríguez, Eva Liñeiro. Dpto. Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Lab. Microbiología. Facultad Ciencias del Mar y Ambientales. Centro Andaluz de Investigaciones Vitivinícolas. Universidad de Cádiz. Pol. Río San Pedro, 11510. jesusmanuel.cantoral@uca.es

Nuestro grupo de investigación desarrolla su labor docente e investigadora en la Universidad de Cádiz desde hace 20 años, siendo reconocido como Grupo de Investigación de Excelencia por la Junta de Andalucía. La labor investigadora se centra fundamentalmente en el estudio de los hongos, tanto filamentosos como levaduriformes, siempre con un claro enfoque de investigación aplicada al mundo agroalimentario. En el grupo se diferencian dos áreas de investigación: la del estudio de los hongos fitopatógenos y la de microbiología enológica. En ambos casos, el objetivo principal es suministrar nuevos conocimientos que permitan desarrollar nuevas estrategias de control microbiológico y mejora en los procesos industriales.

MICROBIOLOGÍA DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Caracterización, Diagnóstico y Estudios Proteómicos

La agricultura es históricamente una de las principales actividades del hombre. Andalucía es la primera región agrícola española gracias a su clima, a la fertilidad de sus tierras, y al continuo esfuerzo de mejora llevado a cabo por todo el sector, incluyendo sobre todo a los empresarios agrícolas, cada vez más orientados a la innovación. Sin embargo, este avance corre peligro por la aparición de nuevas enfermedades vegetales, destacando aquellas causadas por hongos filamentosos fitopatógenos.

Nuestro grupo comenzó su actividad investigadora con el estudio del hongo *Botrytis cinerea*, y posteriormente con *Colletotrichum acutatum* y *C. gloeosporioides*. Ambos géneros han sido catalogados según la revista *Molecular Plant Pathology*, entre los 10 hongos más peligrosos por las pérdidas que ocasionan en agricultura. Nuestros estudios se han centrado principalmente en los cultivos de fresa, tomate y vid, dada la importancia económica de estos cultivos en nuestra región. La investigación desarrollada ha sido financiada por proyectos de investigación europeos, nacionales y autonómicos, y por la colaboración con empresas del sector agroalimentario.



El grupo de Microbiología Molecular y Biotecnología de Hongos de la Universidad de Cádiz.

Durante estos años hemos realizado un profundo estudio de microbiología clásica con ambos hongos. Se aislaron numerosas cepas a partir de cultivos de tomate, vid y fresa, y se realizó una caracterización morfológica, permitiendo obtener en el laboratorio cada una de las fases del ciclo de vida de *B. cinerea*, así como un completo estudio morfológico del hongo *Colletotrichum* (Garrido, 2008). Todos estos trabajos han permitido disponer de una amplia Colección Micológica en la Universidad de Cádiz. También se han aislado y caracterizado compuestos procedentes de caldos de cultivo, algunos de los cuales han resultado ser toxinas claves en el ciclo de infección de estos hongos.

La caracterización se completó con la utilización de técnicas moleculares. Para ambos hongos se ha descrito el cariotipo electroforético mediante electroforesis en campo pulsante. En *B. cinerea* se demostró el alto grado de polimorfismo que presentan las cepas estudiadas; y con *C. acutatum*, se realizó la primera descripción del cariotipo hasta la fecha, determinando tamaño y número de cromo-

somas en esta especie (Garrido, 2009a). Aprovechando las ventajas de nuevas técnicas moleculares, se desarrollaron protocolos para la detección e identificación de *Colletotrichum* spp., *C. acutatum* y *C. gloeosporioides* en plantas de fresa mediante Real-Time PCR. Hasta la fecha, el diagnóstico de estos hongos se realizaba mediante aislamiento, cultivo y por PCR convencional. Los protocolos desarrollados para Real-Time PCR, mejoraron los existentes del orden de 100 veces en sensibilidad de detección a partir de material vegetal asintomático (Garrido, 2009b). Actualmente, se están desarrollando estudios de biotecnología de hongos mediante la obtención de mutantes *knock-out* en búsqueda de nuevos factores de patogenicidad.

Nuestro grupo ha sido pionero en la aplicación de la proteómica al ámbito agroalimentario. Esta técnica se ha revelado como una tecnología emergente, capaz de aportar una gran información biológica relevante. Nuestro grupo desarrolló el primer mapa proteico de *Botrytis cinerea*. La naturaleza inédita de este trabajo hizo necesaria la optimización de todo el proceso, desde la extracción de proteínas hasta la identificación de las mismas (Fernández-Acero, 2006). Desde esa fecha se han identificado más de 1000 proteínas de este hongo, desarrollando diferentes aproximaciones que incluyen: estudios diferenciales con cepas de distinta virulencia (Fernández-Acero, 2007), estudio de metabolismo con diferentes fuentes de carbono (Fernández-Acero, 2009), y la caracterización de subproteomas, como el secretoma o el fosfoproteoma (Fernández-Acero, 2010). Estos estudios han aportado pruebas de la validez de la proteómica para determinar nuevos factores de patogenicidad. La utilidad de esta información para comprender el mecanismo de infección y dilucidar nuevas estrategias de control de estos patógenos ha sido una de las líneas del grupo desde entonces (Fernández-Acero, 2011), y continúa mediante la realización de nuevas aproximaciones proteómicas a la biología de *B. cinerea* y *Colletotrichum acutatum*.

MICROBIOLOGÍA ENOLÓGICA

Selección de Levaduras y Mejora de Procesos Fermentativos

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un hongo unicelular que ha acompañado al hombre desde las primeras civilizaciones. Tradicionalmente, la mayoría de estudios moleculares se han realizado en levaduras de laboratorio, utilizadas como modelo de organismos eucariotas para investigaciones en ciencia básica. A diferencia de estas levaduras, la mayoría de las levaduras vínicas son diploides, tienen una baja frecuencia de esporulación y un elevado polimorfismo cromosómico, presentando un amplio rango de fenotipos diferentes que pueden ser aprovechados en enología.

El desarrollo de técnicas de biología molecular ha permitido identificar y caracterizar cepas de levaduras en muchas regiones productoras de vino, mostrando, i) que existe una amplia variabilidad genética dentro de una misma especie, y ii) la ecología y dinámica de poblaciones en las fermentaciones espontáneas. El conocimiento de las distintas cepas de le-

vaduras que participan durante el proceso de fermentación es muy importante para establecer las más representativas, estudiar propiedades de interés enológico y poder seleccionarlas para su utilización en bodega como cultivos iniciadores.

Nuestro grupo ha centrado sus estudios en levaduras enológicas que participan en distintos procesos de elaboración de vinos, tanto jóvenes como de crianza biológica (finos y manzanillas) colaborando con diversas Bodegas, tanto del Marco vitivinícola de Jerez, como en el marco de la D. O. Ribera del Duero. Mediante la utilización de distintas técnicas moleculares hemos llevado a cabo la caracterización y selección de un amplio número de levaduras, lo que nos ha permitido describir un original modelo de adaptación al ambiente de las levaduras de «velo de flor», así como la selección de las levaduras enológicas más adecuadas, permitiendo mejorar, tanto la eficiencia del proceso de fermentación, como la calidad de los vinos obtenidos (Cantoral, 2010; Rodríguez, 2010).

Recientemente hemos comenzado a desarrollar aproximaciones proteómicas al estudio de levaduras enológicas. Se ha estudiado que existen cambios sustanciales en los niveles de proteína durante la fermentación alcohólica, poniendo de manifiesto la relevancia que tiene su análisis para entender las adaptaciones de las levaduras vínicas durante el proceso fermentativo. Mediante distintas aproximaciones experimentales estamos poniendo de manifiesto el proteoma de *S. bayanus* var. *uvarum*, y la posible relación de las proteínas identificadas con patrones de calidad organoléptica en los vinos.

BIBLIOGRAFÍA MÁS RELEVANTE ÚLTIMOS 5 AÑOS

- Cantoral JM y Rodríguez ME. (2010).** El singular mundo de las levaduras enológicas. Actualidad-SEM 49:35-40.
- Fernández-Acero FJ, Jorge I, Calvo E, Vallejo I, Carbú M, Camafeita, E, Lopez JA, Cantoral JM y Jorriñ J. (2006).** Two-dimensional electrophoresis protein profile of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. Proteomics 16(1):88-96.
- Fernández-Acero FJ, Jorge I, Calvo E, Vallejo I, Carbú M, Camafeita LE, Garrido C, López JA, Cantoral JM y Jorriñ J. (2007).** Proteomic analysis of phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* as a potential tool for identifying pathogenicity factors, therapeutic targets and for basic research. Arch Microbiol 187:207-215.
- Fernández-Acero, FJ, Colby, T, Harzen, A, Cantoral, JM y Schmidt, J (2009).** Proteomic analysis of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* during cellulose degradation. Proteomics 9:2892-2902.
- Fernández-Acero FJ, Colby T, Harzen A, Carbú M, Wieneke U, Cantoral JM y Schmidt J. (2010).** 2-DE proteomic approach to the *Botrytis cinerea* secretome induced with different carbon sources and plant-based elicitors. Proteomics 10:2270-2280.
- Fernández-Acero, FJ, Carbú M, El-Akhal MR, Garrido C, González-Rodríguez VE y Cantoral JM (2011).** Development of Proteomics-Based Fungicides: New Strategies for Environmentally Friendly Control of Fungal Plant Diseases. Int J Mol Sci, doi:10.3390.
- Garrido C, Carbú M, Fernández-Acero FJ, Budge G, Vallejo I, Colyer A y Cantoral JM. (2008).** Isolation and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of strawberry in south west Spain. Eur J Plant Pathol 120:409-415.

Garrido C, Carbú M, Fernández-Acero FJ, Vallejo I y Cantoral JM. (2009a). Phylogenetic relationships and genome organization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose in strawberry. Eur J Plant Pathol 125:397-411.

Garrido C, Carbú M, Fernández-Acero FJ, Boonham N, Colyer A, Cantoral JM y Budge G. (2009b). Development of protocols for detection

of *Colletotrichum acutatum* and monitoring of strawberry anthracnose using real-time PCR. Plant Pathol 58:43-51.

Rodríguez ME, Infante JJ, Molina M, Domínguez M, Rebordinos L y Cantoral JM. (2010). Genomic characterization and selection of wine yeast to conduct industrial fermentations of a white wine produced in a SW Spain winery. J Appl Microbiol 108: 1292-1302.

Enzimas Microbianas de Aplicación Industrial

Francisco Javier Pastor y Pilar Diaz. Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Av. Diagonal 643. 08028 Barcelona. Tel: 934034626; Fax: 934034629. fpastor@ub.edu; pdiaz@ub.edu



Grupo de Enzimas Microbianas de Aplicación Industrial. De izquierda a derecha: Fikret Uyar, Belén Inanzón, Mai Nielsen, Àngels Mateu, Mónica Estupiñán, Liliana Cerda, Francisco Javier Pastor, Pilar Diaz, Josefina Martínez, Susana Valenzuela, Silvia Cesarini y Amanda Fillat.

La aplicación de enzimas en la fabricación de productos de consumo es una práctica de creciente implementación industrial debido a las ventajas que puede suponer en los procesos productivos. La introducción de la biotecnología enzimática en la industria permite, entre otras aportaciones, minimizar la generación de contaminantes, aumentar el rendimiento de las materias primas, y hace posible la obtención de productos con propiedades y características

nuevas. El grupo de enzimas microbianas para aplicaciones industriales trabaja en el aislamiento, caracterización y producción de enzimas para el desarrollo de procesos productivos de impacto ambiental minimizado: **tecnologías sostenibles**. Los temas principales de la investigación son el estudio de la biología molecular y la bioquímica de carbohidratasa y lipasa, así como la identificación y mejora de enzimas para aplicaciones biotecnológicas en

el blanqueo y reciclado de papel, la producción de biocombustibles, la mejora de las fibras textiles, la industria alimentaria, y el desarrollo de materiales de nueva generación basados en derivados grasos o en lignocelulosa.

El grupo de investigación posee una amplia colección de cepas microbianas productoras de enzimas hidrolíticas, aisladas de suelos agrícolas y bosques tropicales. Entre ellas destaca la nueva especie *Paenibacillus barcinonensis* aislada a partir de arrozal del delta de Ebro y seleccionada por su potente actividad hidrolítica sobre polisacáridos (Sánchez *et al.*, 2005). El análisis proteómico del secretoma de esta especie ha permitido la identificación de al menos 6 xilanasas distintas, responsables de su actividad xilanolítica. Cuatro de estas **xilanasas** han sido clonadas y caracterizadas hasta el momento, mostrando diferencias tanto en actividad específica como en estructura (Valenzuela *et al.*, 2010). Entre estas enzimas cabe destacar la xilanasasa Xyn30D por pertenecer a la familia 30 de glicosil hidrolasas (inusual para xilanasas) y poseer actividad exclusiva sobre xilanos de angiospermas (glucuronoxilanos) (Valenzuela *et al.*, 2012).

El potencial de la utilización de la celulosa para la obtención de bioetanol y para la generación de nanomateriales propicia la búsqueda de nuevas celulasas con actividad y selectividad incrementadas. Entre las cepas microbianas de la colección figuran tanto bacterias como hongos con gran actividad celulolítica. A partir de ellas se han purificado y caracterizado varias **celulasas** y β -glucanasas con potencial biotecnológico tanto para la sacarificación de la celulosa y glucano como para la modificación superficial de las fibras de lignocelulosa. La gran actividad de la β -glucanasasa Cel12A de *Stachybotrys atra* sobre glucano de cebada evidencia su utilidad en la industria cervecera (Picart *et al.*, 2012). Por este motivo la enzima se ha expresado y secretado en cepas industriales de *Aspergillus* para su producción a escala.

En los últimos años se han aislado, clonado y caracterizado numerosas enzimas con actividad sobre lípidos (Prim *et al.* 2006; Bassegoda *et al.*, 2012), expresándolas con éxito en *Escherichia coli*, *Pseudomonas* o *Saccharomyces* (Mormeneo *et al.*, 2008; Bofill *et al.*, 2010). También se ha evaluado la posibilidad de utilizar las **lipasas** como dianas terapéuticas para infecciones como el acné o la úlcera pilórica (Ruiz *et al.*, 2007), y se ha llevado a cabo la modificación de algunas lipasas por diseño racional, mutagénesis iterativa o por evolución dirigida. Las variantes enzimáticas mejoradas se han inmovilizado y ensayado en procesos de química fina para la producción de compuestos quirales de interés en la industria farmacéutica y cosmética (Bassegoda *et al.*, 2010; Martínez *et al.* 2010; Torrego *et al.*, 2012), y en algunos casos se han desarrollado variantes enzimáticas con mejores propiedades para los procesos de síntesis o hidrólisis, así como para la transesterificación de aceites residuales en la producción de biodiesel.

La caracterización bioquímica de las enzimas, incluyendo el estudio de las condiciones óptimas de actividad (pH y temperatura), estabilidad, y efecto de iones metálicos y tensioactivos, permite seleccionar las enzimas más robustas para

su evaluación en procesos industriales. Las xilanasas activas y estables en las condiciones del proceso industrial papelero han sido ensayadas en el **blanqueo de la pasta de papel**, en colaboración con el grupo de Ingeniería Papelera de la Universidad Politécnica de Cataluña. Los resultados han permitido identificar xilanasas eficientes para eliminar ácidos hexenurónicos, causantes del amarillamiento de papel (Valls *et al.*, 2010), y poner de manifiesto el sinergismo entre xilanasas de las familias GH11 y GH30 en el blanqueo de la pasta de papel de eucalipto, y el ahorro de blanqueantes químicos con la consiguiente disminución en la generación de residuos tóxicos (AOX) que su uso posibilita. (Gallardo *et al.*, 2010a). Los ensayos papeleros han identificado adicionalmente la nueva celulasa modular Cel9B cuya aplicación modifica superficialmente las fibras y permite notables ahorros de energía en el proceso de **refinado del papel** (Cadena *et al.*, 2010).

La estabilidad térmica es una característica fundamental de las enzimas industriales. Con el fin de aumentar la termoestabilidad de la xilanasasa Xyn10B se ha realizado un proceso de **evolución dirigida** mediante *gene shuffling*. Se ha obtenido un doble mutante que presenta un aumento en la vida media de la enzima de más de un orden de magnitud. El análisis de la estructura del mutante muestra los cambios en la superficie de la enzima responsables de su mayor compactación (Gallardo *et al.*, 2010b). Mediante ingeniería proteica se ha obtenido también una celulasa derivada de Cel9B, conteniendo únicamente su módulo catalítico y un módulo adicional, que produce un efecto de biorefinado de las fibras superior a la enzima original, evidenciando el potencial de la ingeniería proteica en la mejora de enzimas con aplicación biotecnológica (Chiriác *et al.* 2010).

PUBLICACIONES RECIENTES

- Bassegoda A, Pastor FIJ y Diaz P. (2012).** *Rhodococcus* sp. strain CR-53 LipR, the first member of a new bacterial lipase family (family X) displaying an unusual Y-type oxyanion hole, similar to the *Candida antarctica* clan. Appl Environ Microbiol 78: 1724-1732.
- Picart P, Goedegebuur F, Diaz P y Pastor FIJ. (2012).** Expression of novel β -glucanase Cel12A from *Stachybotrys atra* in bacterial and fungal hosts. Fungal Biol 116: 443-451.
- Torrego-Solana N, Martín-Arjol I, Bassas-Galía M, Diaz P y Manresa A. (2012).** Hydroxy-fatty acid production in a *Pseudomonas aeruginosa* 42A2 PHA synthase mutant generated by directed mutagenesis. Appl Microbiol Biotechnol 93: 2551-61.
- Valenzuela SV, Diaz P y Pastor FIJ. (2012).** A modular glucuronoxylan-specific xylanase with a carbohydrate binding module of family CBM35. Appl Environ Microbiol (en prensa).
- Bassegoda A, Nguyen GS, Schmidt M, Kourist R, Diaz P y Bornscheuer UT. (2010).** Rational protein design of *Paenibacillus barcinonensis* esterase EstA for kinetic resolution of tertiary alcohols. Chemcatchem 2: 962-967.
- Bofill C, Prim N, Mormeneo M, Manresa A, Pastor FIJ y Diaz P. (2010).** Differential behaviour of *Pseudomonas* sp 42A2 LipC, a lipase showing greater versatility than its counterpart LipA. Biochimie 92: 307-316.
- Cadena EM, Chiriác AI, Pastor FIJ, Diaz P, Vidal T y Torres AL. (2010).** Use of cellulases and recombinant cellulose binding domains for refining TCF krft pulp. Biotechnol Prog 26: 960-967.

- Chiriac AI, Cadena EM, Vidal T, Torres AL, Diaz P y Pastor FIJ. (2010).** Engineering a family 9 processive endoglucanase from *Paenibacillus barcinonensis* displaying a novel architecture. *Appl Microbiol Biotechnol* 86:1125–1134.
- Gallardo O, Fernández-Fernández M, Valls C, Valenzuela SV, Roncero M B, Vidal T, Diaz P y Pastor FIJ. (2010a).** Characterization of a family GH5 xylanase with activity on neutral oligosaccharides and evaluation as a pulp bleaching aid. *Appl Environ Microbiol* 76: 6290-6394.
- Gallardo O, Pastor FIJ, Polaina J, Diaz P, Lysek R, Vogel P, Isorna P, González B y Sanz-Aparicio J. (2010b).** Structural insights into the specificity of Xyn10B from *Paenibacillus barcinonensis* and its improved stability by forced protein evolution. *J Biol Chem* 285: 2721-2733.
- Martínez E, Hamberg M, Busquets M, Diaz P, Manresa A y Oliw, EH. (2010).** Biochemical characterization of the oxygenation of unsaturated fatty acids by the dioxygenase and hydroperoxide isomerase of *Pseudomonas aeruginosa* 42A2. *J Biol Chem* 285: 9339-9345.
- Valenzuela SV, Diaz P y Pastor FIJ. (2010).** Recombinant expression of an alkali stable GH10 xylanase from *Paenibacillus barcinonensis*. *J Agric Food Chem* 58: 4814-4818.
- Valls C, Gallardo O, Vidal T, Pastor FIJ, Diaz P y Roncero MB. (2010).** New xylanases to obtain modified eucalypt fibres with high-cellulose content. *Bioresour Technol* 101: 7439–7445.
- Mormeneo M, Andrés I, Bofill C, Díaz P y Zueco J. (2008).** Efficient secretion of *Bacillus subtilis* lipase A in *Saccharomyces cerevisiae* by translational fusion to the Pir4 cell wall protein. *Appl Microbiol Biotechnol* 80: 437–445.
- Ruiz C, Falcocchio S, Pastor FIJ, Saso L y Diaz P. (2007).** *Helicobacter pylori* EstV: identification, cloning, and characterization of the first lipase isolated from an epsilon-proteobacterium. *Appl Environ Microbiol* 73: 2423–2431.
- Prim N, Bofill C, Pastor FIJ y Diaz P. (2006).** Esterase EstA6 from *Pseudomonas* sp. CR-611 is a novel member in the utmost conserved cluster of family VI bacterial lipolytic enzymes. *Biochimie* 88: 859–867.
- Sánchez MM, Fritze D, Blanco A, Spröer C, Tindall BJ, Schumann P, Kroppenstedt RM, Diaz P y Pastor FIJ. (2005).** *Paenibacillus barcinonensis* sp. nov., a xylanase-producing bacterium isolated from a rice field in the Ebro River delta. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 935-939.

Microbiología Industrial y Biotecnología Alimentaria en la Universidad de Vigo

Carmen Sieiro Vázquez. Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Alimentaria. Edificio de Ciencias Experimentales. Universidad de Vigo. Lagoas - Marcosende. 36310 Vigo. mcsieiro@uvigo.es

El grupo de investigación en «Microbiología Industrial y Biotecnología Alimentaria» dirigido por la profesora Carmen Sieiro Vázquez pertenece al Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud de la Universidad de Vigo. Las líneas de investigación principales a las que se dedica el grupo desde su creación están relacionadas fundamentalmente con la caracterización, selección y mejora de microorganismos industriales, con particular interés en la selección y mejora de levaduras y bacterias vínicas, y con el estudio de nuevas enzimas microbianas de interés para la industria alimentaria. Estas líneas de investigación se iniciaron con el profesor Tomás González Villa en la Universidad de Santiago de Compostela de cuyo laboratorio procede la investigadora principal de este grupo. En colaboración con el grupo de la Universidad de Santiago y con la Misión Biológica de Galicia (CSIC), desde el año 2005, las investigaciones continuaron estudiando por un lado, el efecto de levaduras y bacterias vínicas y, por otro, el de diversos tratamientos enzimáticos, sobre el perfil aromático y el color de los vinos gallegos elaborados con distintas variedades de uva, por tratarse de parámetros

reconocidos como dos de los principales indicadores de calidad de los vinos. Con relación a estos dos criterios y en colaboración con distintas empresas de la región, se caracterizaron y seleccionaron distintas cepas para su uso en fermentaciones dirigidas, que originan tanto productos que mantienen la tipicidad tradicional como nuevos productos diferenciados.

Otra de las líneas de investigación en las que trabaja el grupo es la búsqueda y estudio de nuevas enzimas de interés para la industria alimentaria, centrandose en trabajos especialmente en las aplicaciones de las poligalacturonasas de levaduras en la industria enológica. En este campo se han clonado y caracterizado nuevos genes y nuevas enzimas pécticas producidas por *Kluyveromyces*, obteniéndose cepas mejoradas, hiperproductoras de las proteínas recombinantes, que permiten la explotación de las mismas a escala industrial a costes competitivos, así como producirlas en cantidad suficiente para abordar los estudios de sus posibles aplicaciones, bien empleándolas de forma individual, o en combinaciones con otras enzimas, optimizadas para las aplicaciones que se proponen.



Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Alimentaria de la Universidad de Vigo.

Mediante estas investigaciones se analizó la posibilidad de utilizar las poligalacturonasas de *K. marxianus* como alternativa a los preparados pécticos comercializados con distintos fines. Los resultados demostraron la eficacia de la enzima producida por esta levadura para llevar a cabo la clarificación de zumos de frutas, incluyendo el mosto utilizado para las fermentaciones vínicas y, sobre todo, su excelente comportamiento para favorecer la extracción de precursores y potenciar de forma diferenciada, dependiendo de las concentraciones y condiciones de uso, el perfil aromático de los vinos. En la misma línea se demostró, igualmente, la idoneidad de esta enzima para incrementar significativamente el contenido en polifenoles de los vinos obtenidos, así como para intensificar el color en los mismos. La eficacia de la pectinasa de *Kluyveromyces* en estas aplicaciones resultó comparable a la de preparados que contienen mezclas enzimáticas, evitando los efectos secundarios, no deseables, que estos últimos pueden ocasionar en los productos tratados.

Todos estos trabajos se han llevado a cabo en el marco de diferentes proyectos y contratos de transferencia con empresas conseguidos en convocatorias competitivas.

Recientemente, y aprovechando su experiencia en la caracterización y producción de enzimas microbianas de interés alimentario, el grupo ha conseguido financiación para iniciar una nueva línea de investigación sobre microorganismos quitinolíticos y las quitinasas que producen. Hasta el momento se han aislado, identificado y caracterizado ya varias cepas bacterianas procedentes de distintos hábitats y asociadas a diferentes organismos, que producen nuevas enzimas quitinolíticas con diferentes propiedades y modos de acción. Además, para algunas de las cepas seleccionadas se han clonado y caracterizado los genes que codifican dichas quitinasas y construido cepas recombinantes para su producción. El objetivo es el empleo de estas enzimas para la transformación de los residuos de quitina que genera la industria alimentaria en

quitoligosacáridos que, como tales o en forma de nanomateriales, muestren diferentes actividades biológicas, con especial interés en aquellos con actividad antimicrobiana y que puedan ser utilizados como agentes de biocontrol en la industria agroalimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Vilanova, M. and Sieiro, C. 2006.** Determination of free and bound terpene compounds in Albariño wine. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 694-697.
- Vilanova, M. and Sieiro, C. 2006.** Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* yeasts to fermentative flavour compounds in wines from cv. Albariño. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 33: 929-933.
- Vilanova, M., Zamuz, S., Vilarinho, F. and Sieiro C. 2007.** Effect of terroir on the volatiles of *Vitis vinifera* cv. Albariño. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 1252-1256.
- Vilanova, M., Zamuz, S., Masa, A. and Sieiro, C. 2007.** Evaluation of PFGE and mtDNA restriction analysis methods to detect genetic diversity of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated to *Vitis vinifera*. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 41: 155-159.
- Sieiro, C., Sestelo A.B.F. and Villa, T.G. 2009.** Cloning, Characterization and functional analysis of the *EPG1-2* gene: a new allele coding for an endopolygalacturonase in *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 8921-8926.
- Vilanova, M., Zamuz, S.A., da Silva, A.F., Masa, A. and Sieiro, C. 2011.** Intraspecific diversity of yeast associated to *Vitis vinifera* Albariño must from different vineyard ecosystems. *Journal of the Institute of Brewing* 117: 8921-8926.
- Rodríguez-Argüelles, M. C., Sieiro, C., Cao, R. and Nasí, L. 2011.** Chitosan and silver nanoparticles as pudding with raisins with antimicrobial activity. *Journal of Colloid and Surface Science* 363: 80-84.
- Sieiro, C., García-Fraga, B., López-Seijas, J., da Silva, F.A. and Villa, T.G. 2012.** Microbial pectic enzymes in the food and wine industry. In: *The Food Industrial Processes-Methods and Equipment*. InTech (ISBN 978-953-307-709-2).

Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología de la Universidad de León

Area de Microbiología, Universidad de León e Instituto de Biotecnología de León
Campus de Vegazana s/n 24071 León. paloma.liras@unileon.es



El grupo de investigación en 2005.

El grupo se inició en 1980 en la Universidad de León y fundó en 1991 el Instituto de Biotecnología. A lo largo de estos años se han defendido más de 90 tesis doctorales por miembros del grupo.

LINEAS DE TRABAJO EN LA ACTUALIDAD

- **Biosíntesis de penicilinas y cefalosporinas en *Penicillium chrysogenum* y *Acremonium chrysogenum*.** Se clonaron y analizaron por primera vez muchos de los genes de biosíntesis de penicilinas y cefalosporinas. Se han estudiado los mecanismos moleculares que conducen a la superproducción de estos antibióticos mediante técnicas ómicas, concretamente análisis transcriptómicos y proteómicos.
- **Metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos.** Están siendo estudiados a nivel molecular la producción del antitumoral andrastina o de las micotoxinas roquefortina y melagrina, en especies del género *Penicillium*. También se ha estudiado la producción de pigmentos por especies del género *Monascus*.
- **Biosíntesis de tacrolimus y análisis del genoma en cepas de *Streptomyces* productoras de tacrolimus.** Se ha secuenciado el genoma completo de *S. tsukubaensis*, localizándose los genes de producción de tacrolimus y analizándose la agrupación génica para su biosíntesis.

PERSONAL QUE FORMA EL GRUPO EN EL MOMENTO PRESENTE

Prof. Juan F. Martín Martín
Lic. Marta Fernández Aguado
Lic. Rebeca Domínguez Santos
Lic. Pedro Hidalgo Yañez
Prof. Antonio Rodríguez García
Dr. Fernando Santos Beneit
Lic. María Ordoñez Robles
Lic. Siomara Martín Martín
Prof. Paloma Liras Padín
Dra. Irene Santamarta Hernández
Lic. Alma Botas Muñoz
Lic. Rubén Álvarez Álvarez
Lic. Vanesa Robles Rodríguez
Lic. Yolanda Martínez Burgo

- **Control por fosfato de la biosíntesis de metabolitos secundarios en *Streptomyces*.** El nivel de fosfato es limitante para la producción de antibióticos y de otros metabolitos secundarios por especies de *Streptomyces*. El mecanismo de control está mediado por el sistema PhoR-PhoP, que ha sido estudiado mediante el análisis de la interacción del regulador PhoP con secuencias específicas de los promotores de los genes regulados.
- **Biosíntesis y genética de la producción de ácido clavulánico por *Streptomyces clavuligerus*.** Se han clonado las agrupaciones de cefamicina C y ácido clavulánico de *S. clavuligerus*, analizándose la función de sus genes mediante obtención de mutantes y/o purificación de las proteínas que codifican. Se han llevado a cabo estudios de transcriptómica y proteómica comparando la cepa silvestre y diferentes mutantes.
- **Transcriptómica y proteómica de la formación de arginina en cepas de *Streptomyces* y su correlación con la producción de metabolitos secundarios.** Dentro del estudio de los precursores del ácido clavulánico en *S. clavuligerus* se han aislado, secuenciado y analizado las agrupaciones para la utilización de glicerol y la biosíntesis de arginina. Esta última agrupación ha sido también analizada en *S. coelicolor*, microorganismo modelo, mediante transcriptómica y proteómica.

PUBLICACIONES

De las 500 publicaciones internacionales del grupo se indican algunas de las más relevantes durante los últimos 10 años:

- Ullán RV, Casqueiro J, Bañuelos O, Fernández FJ, Gutiérrez S y Martín JF** (2002) «A novel epimerization system in fungal secondary metabolism involved in the conversion of isopenicillin N into penicillin N in *Acremonium chrysogenum*». *J. Biol. Chem.* 277:46216-46225
- Hijarrubia MJ, Aparicio JF y Martín JF** (2003) «Domain structure characterization of the multifunctional α -aminoacidate reductase from *Penicillium chrysogenum* by limited proteolysis». *J. Biol. Chem.* 278: 8250-8256
- Sola-Landa A, Moura RS y Martín JF** (2003) «The two component PhoR-PhoP system controls both primary metabolism and secondary metabolite biosynthesis in *Streptomyces lividans*». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100:6133-6138
- Recio E, Colinas A, Rumero Á, Aparicio JF y Martín JF.** (2004) «PI factor, a novel type quorum-sensing inducer elicits pimarinin production in *Streptomyces natalensis*». *J. Biol. Chem.* 279: 41586-41593.
- Santamarta I, Pérez-Redondo R, Lorenzana LM, Martín JF y Liras P** (2005) «Two different proteins bind to the butyrolactone receptor protein ARE sequence located upstream of the regulatory *ccaR* gene of *S. clavuligerus*». *Mol. Microbiol.* 56: 824-835.
- Sola-Landa A, Rodríguez-García A, Franco-Domínguez E y Martín JF** (2005) «Binding of PhoP to promoters of phosphate regulated genes in *Streptomyces coelicolor*: Identification of PHO boxes» *Mol. Microbiol.* 56: 1373-1385
- Gómez-Escribano JP, Liras P, Pisabarro A y Martín JF** (2006) An *rplK*^{029-PALG-32} mutation leads to reduced expression of the regulatory genes *ccaR* and *claR* and very low transcription of the *ceaS2* gene for clavulanic acid biosynthesis in *Streptomyces clavuligerus*. *Mol. Microbiol.* 61: 758-770.
- Ullán RV, Campoy S, Casqueiro J, Fernández FJ y Martín JF** (2007) Deacetylcephalosporin C production in *Penicillium chrysogenum* by

expression of the isopenicillin N epimerization, ring expansion, and acetylation genes. *Chem. Biol.* 14: 329-339.

- Rodríguez-García A, Barreiro C, Santos-Beneit F, Sola-Landa A y Martín JF** (2007) Genome-wide transcriptomic and proteomic analysis of the primary response to phosphate limitation in *Streptomyces coelicolor* M145 and in a *phoP* mutant. *Proteomics* 7: 2410-2429
- Godío RP, Fouces R y Martín JF** (2007) A squalene epoxidase is involved in biosynthesis of both the antitumor compound clavarinic acid and sterols in the basidiomycete *H. sublateralium*. *Chemistry & Biology.* 14: 1334-46.
- Santamarta I, López-García MT, Pérez-Redondo R, Koekman B, Martín JF y Liras P** (2007) Connecting primary and secondary metabolism: AreB, an IclR-like protein, binds the AREccA sequence of *S. clavuligerus* and modulates leucine biosynthesis and cephamycin C and clavulanic acid production. *Molecular Microbiology.* 66: 511-24.
- Sola-Landa A, Rodríguez-García A, Apel AK y Martín JF** (2008) Target genes and structure of the direct repeats in the DNA binding sequences of the response regulator PhoP in *Streptomyces coelicolor*. *Nucleic Acids Research* 36:1358-1368.
- Van den Berg MA, Albang R, Albermann K, Badger JH, Daran JM, Driessen AJ, García-Estrada C, Fedorova ND, Harris DM, Heijne WH, Joarder V, Kiel JA, Kovalchuk A, Martín JF. et al** (2008) Genome sequencing and analysis of the filamentous fungus *Penicillium chrysogenum*. *Nat Biotechnol* 26: 1161-1168.
- Rodríguez-García A, Sola-Landa A, Apel K, Santos-Beneit F y Martín JF** (2009) Phosphate control over nitrogen metabolism in *Streptomyces coelicolor*: direct and indirect negative control of *glnR*, *glnA*, *glnII* and *amtB* expression by the response regulator PhoP. *Nucleic Acids Research* 37: 3230-3242.
- Santos-Beneit F, Rodríguez-García A, Sola-Landa A y Martín JF** (2009) Crosstalk between two global regulators in *Streptomyces*: PhoP and AfsR interact in the control of *afsS*, *pstS* and *phoRP* transcription. *Molecular Microbiology* 72:53-68.
- Jami MS, Barreiro C, García-Estrada C y Martín JF** (2010). Proteome analysis of the penicillin producer *Penicillium chrysogenum*: Characterization of protein changes during the industrial strain improvement. *Mol Cel Proteomics*;9:1182-98.
- Martín JF y Liras P.** (2010). Engineering of Regulatory Cascades Controlling Antibiotic Biosynthesis in *Streptomyces* Signaling Genes. *Current Opinion in Microbiology* 13: 263-273.
- Santamarta I, López-García MT, Kurt A, Nárdiz N, Pérez-Redondo R, Álvarez-Álvarez R, Martín JF y Liras, P.** (2011). Characterization of DNA-binding sequences for CcaR in the cephamycin-clavulanic acid supercluster of *Streptomyces clavuligerus*. *Mol. Microbiol.* 81: 968-981.
- García-Estrada C, Ullán RV, Albillas SM, Fernández-Bodega MÁ, Durek P, von Döhren H, y Martín JF.** (2011). A single cluster of coregulated genes encodes the biosynthesis of the mycotoxins roquefortine C and meleagrín in *Penicillium chrysogenum*. *Chem. Biol.* 18:1499-512.
- Teixeira F, Ullán RV, Fernández-Aguado M, y Martín JF.**(2011). CefR modulates transporters of beta-lactam intermediates preventing the loss of penicillins to the broth and increases cephalosporin production in *Acremonium chrysogenum*. *Metab Eng.* 13(5):532-43.
- Teixeira F, Ullán RV, Fernández-Aguado M, y Martín JF.**(2011). CefR modulates transporters of beta-lactam intermediates preventing the loss of penicillins to the broth and increases cephalosporin production in *Acremonium chrysogenum*. *Metab Eng.* 13(5):532-43.
- Pérez-Redondo R, Rodríguez-García A, Botas A, Santamarta I, Martín JF y Liras P.** (2012). ArgR of *Streptomyces coelicolor*, is a versatile regulator. *PlosOne* 2012;7(3):e32697

Biosíntesis de compuestos bioactivos por microorganismos (BIOMIC)

**José Antonio Salas Fernández
y Carmen Méndez Fernández**

Área de Microbiología, Dpto. Biología Funcional e I.U.O.P.A. (Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias), Universidad de Oviedo.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

El grupo de «Biosíntesis de compuestos bioactivos por microorganismos» (BIOMIC) pertenece al Área de Microbiología del Departamento de Biología Funcional y al Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (I.U.O.P.A.) de la Universidad de Oviedo. Está ubicado en la Facultad de Medicina, coordinado por los Catedráticos de Universidad, Dr. José Antonio Salas Fernández y Dra. Carmen Méndez Fernández, y forman parte del mismo el Dr. Alfredo F. Braña (Profesor Titular de Universidad), el Dr. Carlos Olano (Investigador del I.U.O.P.A.), así como varios investigadores postdoctorales y predoctorales y un técnico de laboratorio.

Las principales líneas de investigación del grupo son:

Aislamiento y caracterización de agrupaciones de genes de biosíntesis de compuestos bioactivos (antibióticos y compuestos antitumorales) producidos por actinomicetos

El grupo posee una amplia experiencia en el aislamiento y caracterización de rutas de biosíntesis de antibióticos y compuestos antitumorales sintetizados por actinomicetos. Se han aislado y caracterizado diversas rutas de biosíntesis de compuestos bioactivos pertenecientes a distintas familias de compuestos policetónicos («polyketides»), como oleandomicina, borrelidina, oviedomicina, elloramina, estefimicina, estreptolidigina, mitramicina y cromomicina. Asimismo se han caracterizado las rutas de biosíntesis de otros compuestos no policetónicos como, tiocoralina, tienamicina, rebecamicina y estaurosporina.

Utilización de la «Biosíntesis Combinatoria» para generar nuevos compuestos bioactivos

La «Biosíntesis Combinatoria» es una estrategia que permite generar nuevos compuestos bioactivos mediante la uti-

lización de técnicas de Ingeniería genética. Así, se pueden crear microorganismos recombinantes con combinaciones de genes de rutas de biosíntesis de compuestos bioactivos no existentes en la naturaleza, que potencialmente puedan dar lugar a la producción de nuevos compuestos. La purificación posterior de estos compuestos, su caracterización química y el ensayo de sus actividades biológicas (antibiótica, antifúngica, antitumoral, neuroprotectora), así como su toxicidad en ratones, permite determinar la potencialidad de los nuevos compuestos para ser patentados y desarrollados posteriormente. Utilizando esta estrategia, el grupo ha generado más de 90 nuevos compuestos derivados de compuestos bioactivos, algunos de los cuales poseen mayor bioactividad y/o menor toxicidad que los compuestos originales.

Estudio de procesos de regulación de las rutas de biosíntesis de compuestos bioactivos

Uno de los aspectos importantes en relación con las rutas de biosíntesis de compuestos bioactivos, es conocer los procesos de regulación a los que están sometidas. Este conocimiento permitirá actuar sobre los mismos y mejorar la producción de los compuestos codificados por las rutas correspondientes. En nuestro grupo se están estudiando los procesos de regulación que afectan a la biosíntesis de mitramicina, estreptolidigina y colismicina.

Aplicación de estrategias de Ingeniería metabólica a la mejora de la producción de compuestos bioactivos

Uno de los potenciales cuellos de botella que pueden existir en la producción de un compuesto por un microorganismo es la disponibilidad de los precursores metabólicos a partir de los cuales se lleva a cabo la biosíntesis del compuesto. En nuestro grupo se están aplicando estrategias de Ingeniería Metabólica (sobrexpresión y/o inactivación de genes del metabolismo primario), con el fin de potenciar la formación y la canalización de los precursores metabólicos de compuestos bioactivos hacia las rutas de

biosíntesis de interés, y mejorar de esta manera los niveles de producción de estos compuestos.

Aplicación del análisis genómico para activar rutas de biosíntesis «silenciosas» e identificar nuevos compuestos bioactivos

Los actinomicetos son un grupo de bacterias conocido por producir un gran número de compuestos bioactivos. La secuenciación de muchos genomas de actinomicetos ha puesto de manifiesto que estos contienen agrupaciones de genes para la formación de 10-30 compuestos bioactivos, que por razones desconocidas, o no se expresan o se expresan poco en condiciones de cultivo de laboratorio, lo que implica que gran parte del potencial de estos microorganismos como productores de compuestos bioactivos está por descubrir. En nuestro laboratorio, se está analizando el genoma de diferentes estreptomicetos con el fin de identificar agrupaciones de genes de biosíntesis de compuestos bioactivos desconocidas, activarlas (utilizando estrategias de Ingeniería genética) para de esta manera descubrir nuevos compuestos.

COLABORACIONES

El grupo colabora de forma continuada con varios grupos de investigación nacionales y extranjeros, además de con varias empresas:

- Prof. Jürgen Rohr. University of Kentucky. EEUU.: caracterización química de nuevos compuestos
- Prof. José Portugal. Instituto de Biología Molecular de Barcelona, CSIC. Barcelona: modo de acción de derivados de mitramicina y cromomicina
- Prof. Peter F. Leadlay. University of Cambridge. Inglaterra: colaboraciones en Biosíntesis Combinatoria
- Prof. Lutz Heide. Eberhard-Karls-Universität Tübingen. Alemania: colaboraciones en Biosíntesis Combinatoria
- Prof. Andreas Bechthold. Albert-Ludwigs-Universität Freiburg. Alemania: colaboraciones en Biosíntesis Combinatoria
- Entrechem, S.L. (Asturias): ensayos bioactividad y toxicidad
- Instituto Biomar S.A. (León) y Pharmamar S.A. (Madrid): ensayos actividad antitumoral

PUBLICACIONES MÁS RELEVANTES DE LOS ÚLTIMOS AÑOS

Sánchez C, Butovich IA, Braña AF, Rohr J, Méndez C y Salas JA. (2002). The biosynthetic gene cluster for the antitumor rebeccamycin: characterization and generation of indolocarbazole derivatives. *Chem Biol.* 9: 519-531.

Trefzer A, Blanco G, Remsing L, Künzel E, Rix U, Lipata F, Braña AF, Méndez C, Rohr J, Bechthold A y Salas JA. (2002). Rationally designed glycosylated

premithramycins: hybrid aromatic polyketides using genes from three different biosynthetic pathways. *J Am Chem Soc.* 124: 6056-6062.

Rodríguez L, Aguirrezabalaga I, Allende N, Braña AF, Méndez C y Salas JA. (2002). Engineering deoxysugar biosynthetic pathways from antibiotic-producing microorganisms: a tool to produce novel glycosylated bioactive compounds. *Chem Biol.* 9: 721-729.

Menéndez N, Mohammad N, Braña AF, Rohr J, Salas JA y Méndez C (2004). Biosynthesis of the antitumor chromomycin A3 in *Streptomyces griseus*: analysis of the gene cluster and rational design of novel chromomycin analogues. *Chem Biol.* 11: 21-32.

Lombó F, Gibson M, Greenwell L, Braña AF, Rohr J, Salas JA y Méndez C (2004). Engineering biosynthetic pathway for deoxysugars: branched-chain sugar pathways and novel derivatives from the antitumor tetracenomycin. *Chem Biol.* 11:1709-1718.

Sánchez C, Zhu L, Braña AF, Salas AP, Rohr J, Méndez C y Salas JA. (2005). Combinatorial biosynthesis of antitumor indolocarbazole compounds. *Proc Nat Acad Sci U S A.* 102: 461-466.

Pérez M, Lombó F, Zhu L, Gibson M, Braña AF, Rohr J, Salas JA y Méndez C. (2005). Combining sugar biosynthesis gene cassettes to generate two glycosylated antitumor tetracenomycins. *Chem Commun.* 12: 1604-1606.

Salas AP, Zhu L, Sánchez C, Braña AF, Rohr J, Méndez C y Salas JA. (2005). Deciphering the late steps in the biosynthesis of the anti-tumor indolocarbazole staurosporine: sugar donor substrate flexibility of the StaG glycosyltransferase. *Mol Microbiol.* 58: 17-27.

Lombó F, Velasco A, Castro A, Calle F, Braña AF, Sánchez-Puelles JM, Méndez C y Salas JA. (2006). Deciphering the biosynthesis pathway of the antitumor thiocoraline from a marine actinomycete and its expression in two *Streptomyces* species. *ChemBioChem* 7: 366-376.

Sánchez C, Méndez C y Salas JA. (2006). Indolocarbazole natural products: occurrence, biosynthesis, and biological activity. *Nat Prod Rep.* 23: 1007-1045.

Salas JA y Méndez C. (2007). Engineering the glycosylation of natural products in actinomycetes. *Trends Microbiol.* 15:219-32.

Méndez C, Luzhetskyy A, Bechthold A y Salas JA (2008). Deoxysugars in bioactive natural products: development of novel derivatives by altering the sugar pattern. *Cur Top Med Chem.* 8: 710-724.

Olano C, Lombó F, Méndez C y Salas JA. (2008). Improving production of bioactive secondary metabolites in actinomycetes by metabolic engineering. *Metab Eng.* 10: 281-92.

Pérez M, Baig I, Braña AF, Salas JA, Rohr J y Méndez C. (2008). Generation of new derivatives of the antitumor antibiotic mithramycin by altering the glycosylation pattern through combinatorial biosynthesis. *ChemBioChem* 9:2295-304.

Olano C, Méndez C y Salas JA. (2009). Antitumor compounds from actinomycetes: from gene clusters to new derivatives by combinatorial biosynthesis. *Nat Prod Rep.* 26:628-660.

Salas JA y Méndez C. (2009). Indolocarbazole antitumor compounds by combinatorial biosynthesis. *Cur Opin Chem Biol.* 13: 1-9.

Olano C, Gómez C, Pérez M, Palomino M, Pineda-Lucena A, Carbajo RJ, Braña AF, Méndez C y Salas JA. (2009). Deciphering biosynthesis of the RNA polymerase inhibitor streptolydigin and generation of glycosylated derivatives. *Chem Biol.* 16:1031-1044.

Olano C, Méndez C y Salas JA (2010). Post-PKS tailoring steps in natural product-producing actinomycetes from the perspective of combinatorial biosynthesis. *Nat Prod Rep.* 27:571-616.

Sánchez-Hidalgo M, Núñez LE, Méndez C y Salas JA. (2010). Involvement of the beta subunit of RNA polymerase in resistance to streptolydigin and streptovaricin in the producer organisms *Streptomyces lydicus* and *Streptomyces spectabilis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 54:1684-92.

García I, Vior NM, Braña AF, González-Sabín J, Rohr J, Moris F, Méndez C y Salas JA (2012). Elucidating the Biosynthetic Pathway for the Polyketide-Nonribosomal Peptide Collismycin A: Mechanism for Formation of the 2,20-bipyridyl Ring. *Chem Biol.* 19:399-413.

La sección «nuestra ciencia» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima es de 250 palabras. Envía tus reseñas a la Dirección de la revista o al grupo de divulgación D+D SEM.

www.semicrobiologia.org/ddm

PROTISTOLOGÍA

MICROORGANISMOS EUCARIÓTICOS FOTOSINTÉTICOS EN EL AMBIENTE ÁCIDO EXTREMO DEL RÍO TINTO

Informa: Ana Martín

El río Tinto es un ambiente con un pH muy ácido y elevada concentración de algunos metales pesados. A pesar de sus condiciones extremas, este ecosistema complejo presenta una gran diversidad microbiana, incluso de microorganismos eucariotas. Nuestra colega Ángeles Aguilera y Ricardo Amils del Centro de Astrobiología, Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial. (INTA-CSIC) en colaboración con compañeros de la Universidad de Málaga han conseguido aislar y caracterizar numerosos organismos/microorganismos fotosintéticos, como el alga filamentosa *Zygnemopsis* o protistas, como *Euglena mutabilis*, *Chlorella* spp y diversas especies de diatomeas. Dichas especies suelen formar abundantes biopelículas sobre soportes pétreos. Por primera vez, se ha conseguido hacer una evaluación funcional de los procesos fotosintéticos en microorganismos eucariotas procedentes de ambientes ácidos extremos. La adaptación a condiciones de baja intensidad de luz podría desempeñar un papel importante en la colonización de este tipo de ambientes ácidos.

Souza-Egípsy V, Altamirano M, Amils R Aguilera A. Photosynthetic performance of phototrophic biofilms in extreme acidic environments. *Environmental Microbiology* 2011 13: 2351-2358.

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR

CÓMO SABER SI UN PARÁSITO ESTÁ REALMENTE MUERTO

Informa: J.F. Garcia-Bustos.

Gran parte del trabajo de investigación realizado en la industria nunca sale a la luz. Las razones no son siniestras, sino que tienen que ver con las diferencias de objetivos y prioridades. Pero de vez en cuando las circunstancias cambian y los científicos industriales tienen ocasión de publicar su trabajo y colaborar en el avance de su disciplina. Este es el caso de dos recientes artículos procedentes de grupos dirigidos por mis antiguos colaboradores y compañeros de la SEM, F. Javier Gamo y Alfonso Mendoza, del centro de investigación en «Diseases of the Developing World» de GSK en Tres Cantos, Madrid. El objetivo era poder

decidir si compuestos potencialmente antimaláricos tiene un efecto citocida o citostático sobre el parásito. Esta es una pregunta importante para cualquier antimicrobiano; trivial de responder con antibacterianos o antifúngicos. Pero *P. falciparum* no forma colonias ni placas de lisis que se puedan contar en medio sólido. Noemí Bahamontes-Rosa y colaboradores decidieron abordar el problema desde el punto de vista del mRNA. Dado que creemos saber que es inestable, en cuanto la célula pierda viabilidad su concentración disminuirá, y eso se puede medir cuantitativamente usando RT-PCR. Por su parte, Laura Sanz y sus colaboradores lo abordaron desde el punto de vista parasitológico. Si no se pueden contar unidades formadoras de colonias se podría intentar enumerar «unidades formadoras de cultivo», quizás lo biológicamente más relevante. Los dos abordajes tuvieron éxito pero encontraron sorpresas al examinar los antimaláricos comerciales y los resultados de los dos no son totalmente congruentes. Obviamente no es exactamente lo mismo medir una cosa que la otra y el concepto de «muerte» en Microbiología no está tan claro como podría parecer. Ahora tenemos dos métodos usables para estudiarlo en *Plasmodium*.

Bahamontes-Rosa N, Rodríguez-Alejandre A, González-del-Río R, García-Bustos JF, Mendoza-Losana A. A new molecular approach for cidal vs static antimalarial determination by quantifying mRNA levels. *Mol Biochem Parasitol.* 2012 Feb;181(2):171-7.

Sanz LM, Crespo B, De-Cózar C, Ding XC, Llergo JL, Burrows JN, García-Bustos JF, Gamo FJ. *P. falciparum* in vitro killing rates allow to discriminate between different antimalarial mode-of-action. *PLoS One.* 2012;7(2):e30949.

EL METAGENOMA DE LA PLACA DENTAL Y LA CARIES: PIONEROS, HÉROES Y VILLANOS

Informa: V. J. Cid.

El análisis metagenómico de comunidades microbianas nos depara sin duda muchas sorpresas en los próximos años. Si hay una comunidad bacteriana cercana, dinámica y compleja digna de estudio que nos causará más de un dolor de muelas, esa es la microbiota oral. Hace poco más de una década comenzaron los primeros abordajes moleculares masivos, que han cristalizado en la Human Oral Microbiome Database (www.homd.org), fletada recientemente por el Forsyth Institute norteamericano. Ahora le toca el turno a la secuenciación masiva y el análisis metagenómico.

El grupo de Alex Mira en el CSISP en Valencia ha publicado a principios de año en *The ISME Journal* un artículo pionero en la metagenómica de la placa dental. En él obtienen y analizan más de 1 Gpb de información genética a partir de 8 muestras de placa dental de individuos con

distintos grados de estado patológico y controles que nunca han sufrido caries. Aunque serán necesarios muestreos más grandes en el futuro, el análisis de estos datos pone de manifiesto que las placas cariogénicas maduras no son especialmente ricas en *Streptococcus mutans*, la especie clásicamente asociada con la caries, sino que constituyen un consorcio complejo. Resulta interesante comparar las placas de los individuos sanos con las patológicas, para constatar un aumento de *Streptococcus sanguis* y *Neisseria spp.* en detrimento de *S. mutans* y *S. sobrinus*. Los autores proponen que el análisis metagenómico puede dar pautas para el aislamiento de microorganismos cultivables «beneficiosos» que favorezcan el desarrollo de una placa sana. La idea que subyace es aislar probióticos útiles como profilaxis, una especie de vacuna contra la caries. No sé si mi dentista financiaría este proyecto.

Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R, Romero H, Simón-Soro A, Pignatelli M, Mira A. THE ORAL METAGENOME IN HEALTH AND DISEASE. *ISME J.* 2012 6(1):46-56.

INTERACCIÓN MICROORGANISMO-HOSPEDADOR

PAPEL DE LAS CÉLULAS MADRE Y PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (HSPC) EN LA RESPUESTA A LA INFECCIÓN

Informa: M. L. Gil.

Los receptores tipo toll (TLR), presentes en muchos tipos de células maduras del sistema inmunitario tienen

una función esencial en el reconocimiento de microorganismos y en la consiguiente puesta en marcha de la respuesta inmunitaria. Recientemente se ha descrito que los TLR se expresan en células madre y progenitores hematopoyéticos (HSPC), lo que sugiere que estos receptores podrían participar en la modulación de la hematopoyesis. El grupo de investigación «Inmunología de las infecciones fúngicas», en el Departamento de Microbiología y Ecología de la Universitat de València ha puesto a punto una metodología, basada en el trasplante de HSPC de ratones B6Ly5.1 (cuyas células expresan el aloantígeno CD45.1) en ratones TLR2^{-/-}, TLR4^{-/-} o MyD88^{-/-} (aloantígeno CD45.2), lo que permite seguir *in vivo* la diferenciación de las mismas en respuesta a ligandos puros de los TLR como único estímulo. En este modelo, los ratones receptores no reconocen los ligandos de los TLR inyectados, por lo que no hay interferencias por mediadores solubles secretados por las células del ratón receptor. Con estos ensayos hemos demostrado, por primera vez, que la interacción directa de ligandos de TLR2, TLR4 y TLR9, con las HSPC ocurre *in vivo*, y que induce su diferenciación a macrófagos maduros. Estos resultados amplían las funciones conocidas de los TLR, interconectando la hematopoyesis con los procesos infecciosos, ya que el propio microorganismo podría modular la hematopoyesis hacia la producción de aquellos tipos celulares más eficientes para la eliminación del patógeno. Esto abre un nuevo campo para el desarrollo de estrategias inmunoterapéuticas basadas en la diferenciación dirigida de HSPC.

Megías J, Yáñez A, Moriano S, O'Connor JE, Gozalbo D, Gil ML. Direct Toll Like Receptor-Mediated Stimulation of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells Occurs in vivo and Promotes Differentiation Towards Macrophages. *Stem Cells.* 2012 Apr 17. doi: 10.1002/stem.1110. [Epub ahead of print]



Sigue a la SEM

facebook

twitter

Scoop.it!

www.semicrobiologia.org

PRODUCCIÓN DE BIOETANOL: MEJORA DEL PROCESO A PARTIR DE GRANO DE CEREAL Y DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA TRATADA CON STEAM EXPLOSIÓN

Autor: Ángeles Martínez-Alcalá García.

Directores: María Jesús Martínez y Miguel Jurado.

Centro: Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo superior de Investigaciones Científicas.

El incremento de la población y el desarrollo industrial han contribuido a disminuir las reservas de petróleo y aumentar la contaminación ambiental. Por esta razón son necesarias energías alternativas, más respetuosas con el medioambiente, que permitan asegurar el abastecimiento.

El bioetanol puede ser una alternativa para el sector del transporte. Actualmente se produce a partir de caña de azúcar, remolacha o semillas de cereales (etanol de primera generación, 1G). Sin embargo, para evitar que su producción interfiera con la cadena alimentaria se está tratando de producir bioetanol de segunda generación (2G), a partir de biomasa lignocelulósica. En este trabajo se han abordado diferentes aspectos de los dos procesos, utilizando grano y paja de trigo, respectivamente.

Tras el estudio y caracterización de las actividades enzimáticas presentes en 15 cócteles comerciales, se seleccionaron los más idóneos para optimizar la producción de etanol 1G a partir de grano de trigo. A escala de laboratorio, se han encontrado cócteles pocos conocidos, con alta actividad específica, que pueden ser una alternativa más eficaz para la producción.

Por otra parte, los pretratamientos físico-químicos (*steam explosion*) que se utilizan para desestructurar el material lignocelulósico y permitir el acceso de las enzimas a los polisacáridos de la pared celular vegetal, generan inhibidores que afectan negativamente el rendimiento del proceso 2G. Se ha comprobado que las lacasas fúngicas (oxido-reductasas fúngicas implicadas en la degradación de la lignina) detoxifican la paja de trigo pretratada por *steam explosion* (en presencia de vapor de agua o ácido diluido), permitiendo un mayor crecimiento de las lavaduras e incrementando, entre 2 y 3 veces, la producción de etanol.

GENOMOTIPIFICACIÓN DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* MEDIANTE MICROARRAYS DE ADN. ANÁLISIS DE MARCADORES Y DIVERSIDAD GENÉTICA

Autor: Andrea Guridi Kortaberria.

Directores: Aurora Fernández-Astorga y Rodrigo Alonso Monsalve.

Centro: Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.

Campylobacter jejuni es una de las principales causas de diarrea bacteriana a nivel mundial y el antecedente más común en neuropatías periféricas como el síndrome Guillain Barré y Miller Fisher.

La búsqueda de marcadores genéticos en *Campylobacter* ha sido un objetivo largamente perseguido en los últimos años para establecer estrategias eficaces de control y reducir la presencia de *C. jejuni* en la cadena alimentaria.

Debido a esto, la finalidad del trabajo fue determinar el grado de variabilidad (diversidad y/o posible plasticidad) genómica entre cepas de *Campylobacter jejuni* procedentes de diversas áreas geográficas y diferentes fuentes de aislamiento, al objeto de detectar posibles genes que puedan emplearse como marcadores genéticos.

Tras la determinación de las condiciones experimentales más adecuadas para la hibridación y elaboración de una colección multigeográfica de cepas no clonales según alelos de la región SVR del gen *flaA* y MLST, se realizó el análisis CGH utilizando *microarrays* de ADN que contienen el pan-genoma de *C. jejuni*.

En combinación con los métodos bayesianos de inferencia filogenética se trató de encontrar algún posible marcador genético vinculado tanto a un origen geográfico como a una fuente concreta. Según el análisis, las cepas de origen humano y pollo presentaron una alta similitud

en cuanto a su contenido genético, no detectándose ningún marcador de fuente de aislamiento. La única relación filogenómica encontrada entre las cepas estudiadas correspondió a los complejos clonales, encontrándose uno o varios genes claramente relacionados de manera exclusiva con un complejo clonal concreto.

Paralelamente, mediante estudios comparativos con el genoma de la cepa NCTC11168, determinamos que aproximadamente el 70 % de los genes presentaban un alto grado de conservación, definiéndose éstos como especie específicos de *C. jejuni*. La base principal de la variabilidad genética en *C. jejuni* se localizó en las regiones hipervariables descritas por otros autores y las dos nuevas regiones descritas en este trabajo. Además, la presencia de cuatro islas genómicas (CJIE) descritas en la cepa RM1221 y la posible adquisición de plásmidos contribuyeron también a la variabilidad genómica de nuestras cepas. En cuanto a la influencia geográfica, principalmente se apreció en la variabilidad genética global y/o en relación al porcentaje de hibridación según el origen de la sonda. Tal fue el caso de las cepas neozelandesas o el conjunto de cepas de origen no europeo que mostraron los porcentajes más altos de ausencia de genes accesorios y el caso de las cepas españolas, entre las cepas de origen europeo, en las que se observó el mayor porcentaje de variabilidad genética en cuanto a genes plasmídicos (pTet) e islas genómicas.

Por otro lado, la alta prevalencia de genes plasmídicos o fágicos asociados a las islas genómicas apoyan la hipótesis del origen plasmídico de la isla CJIE3 y del origen fágico de las islas CJIE1, CJIE2 y CJIE4. En estas últimas, el número de genes fágicos presentes varió según la isla, destacando CJIE4 como la isla con una pérdida más acusada de estos genes. Asimismo, la presencia de las islas genómicas en *C. jejuni* podría sugerir un papel biológico relacionado con la supervivencia. Tal es el caso de las islas que codifican nucleasas, ya que proporcionarían resistencia a la infección por fagos y, además, colaborarían en la estabilidad genética evolutiva, al interferir negativamente en la competencia natural de *C. jejuni*.

EDWARDSIELLA TARDA: PATÓGENO EMERGENTE EN EL CULTIVO DEL RODABALLO

Autor: Nuria Castro Iglesias.

Directoras: Alicia Estévez-Toranzo y Beatriz Magariños Ferro.

Centro: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología / CIBUS, Universidad de Santiago de Compostela.

Edwardsiella tarda es bacteria gram negativa perteneciente a la familia de las Enterobacterias. Desde su primer aislamiento, a mediados del s. xx, ha sido descrita como causante de infecciones en un amplio abanico de organismos, entre los que se encuentran: reptiles, aves, anfibios, peces, mamíferos (tanto marinos como terrestres) e incluso humanos. Aunque su devastador efecto en los cultivos de peces ha sido descrito desde hace años, no ha sido hasta mediados de esta década cuando se ha convertido en uno de los patógenos importantes en los cultivos de rodaballo en Europa causando graves pérdidas económicas en la industria acuícola.

En esta tesis doctoral se ha realizado una amplia caracterización a nivel fenotípico, bioquímico, serológico y molecular de una colección de cepas de *E. tarda*, todas ellas aisladas de epizootias ocurridas en cultivos de rodaballo de diferentes áreas geográficas de Europa en los últimos años.

La caracterización bioquímica y fenotípica demostró que todas las cepas de *E. tarda* forman un grupo muy homogéneo, independientemente de su origen geográfico y hospedador. El análisis de ácidos grasos reveló también una alta homogeneidad para todas las cepas de *E. tarda*, aunque se comprobó que el medio de cultivo y la temperatura de incubación pueden influir en la composición de ácidos grasos. A nivel serológico sí pudieron establecerse diferencias dentro de la especie, constituyendo los aislados de rodaballo un grupo independiente del resto de aislados de *E. tarda* procedentes de otros hospedadores.

En cuanto a la caracterización molecular, a pesar de que todos los aislados de *E. tarda* de rodaballo mostraron un alta homogeneidad, se pudieron encontrar pequeñas diferencias intraespecíficas empleando las técnicas RAPD y REP-PCR. Además, en todas las cepas de rodaballo se detectó la

existencia de dos plásmidos, uno de 12 Kb, presente también en cepas procedentes de otros hospedadores, y otro de 2,5 Kb que parece ser específico de los aislados de rodaballo. Aunque mediante el análisis proteómico con la técnica MALDI-TOF no se pudieron establecer diferencias entre cepas en función de su hospedador, esta técnica puede ser una herramienta eficaz para la identificación de cepas de *E. tarda*.

Con respecto a las técnicas de diagnóstico de la enfermedad, se describieron dos protocolos de PCR, uno específico para *E. tarda* y otro de multiplex-PCR junto con *Tenacibaculum maritimum*, que resultaron altamente sensibles y específicos y aplicables tanto a nivel de laboratorio como de campo. También se evaluó un medio de cultivo selectivo-diferencial para el aislamiento de *E. tarda* resultando altamente eficaz para el diagnóstico de la edwardsiellosis y que podría llegar a ser de gran utilidad en estudios epidemiológicos del patógeno.

Los estudios de patogenicidad demostraron que esta bacteria representa un grave riesgo para el rodaballo, debido a su alto grado de virulencia independientemente de la ruta de inoculación y temperatura empleadas, siendo también patógena para otras especies como el lenguado y la lubina. Además, los aislados estudiados causaron mortalidades en animales homeotermos (ratones), con el consecuente riesgo de salud pública que ello podría suponer. Los resultados obtenidos en la búsqueda de genes implicados en la virulencia y en los ensayos de correlación genotipo-virulencia y genotipo-fenotipo parecen indicar que determinadas enzimas de degradación e invasivas pueden jugar un papel importante en la patogénesis de la bacteria.

Por último, se desarrolló una vacuna adyuvantada con aceite no mineral la cual, administrada por vía intraperitoneal, confiere una tasa de protección frente a *E. tarda* en rodaballo superior al 90% durante, al menos, 6 meses.

ANÁLISIS GENÓMICO DE LA INTEGRIDAD CELULAR EN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Autor: Patricia Arias López.

Directores: José Manuel Rodríguez Peña y Javier Arroyo Nombela.

Centro: Departamento de Microbiología II. Universidad Complutense de Madrid.

La pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* es una estructura esencial para el mantenimiento de la integridad celular y protección de la célula frente al medio externo preservando su integridad osmótica. Así, cuando se produce un daño sobre esta estructura, la célula desarrolla un complejo mecanismo de respuesta mediado principalmente por la ruta de integridad celular (CWI), a través de la activación de la MAPK Slt2. Este mecanismo implica, entre otros aspectos, la inducción de la expresión de genes necesarios para sobrevivir en estas circunstancias, entre ellos, destaca el gen *MLP1*.

Con el objetivo de identificar, a escala genómica, genes de la levadura cuya delección conduce a la activación de la ruta CWI como consecuencia de defectos en su regulación o alteraciones en la integridad de la pared celular, se ha desarrollado un rastreo genómico mediante la transformación de la colección completa de mutantes de *S. cerevisiae* delecionados individualmente en cada uno de los genes no esenciales identificados en este organismo (aproximadamente 5000), con un plásmido que incluye la región promotora del gen *MLP1* fusionada al gen de resistencia frente al antibiótico nourseotricina. Utilizando esta estrategia se identificaron 174 mutantes capaces de crecer a concentraciones del antibiótico superiores a las de la cepa silvestre. El análisis de la activación de la MAPK Slt2 en este grupo reveló que 64 mutantes presentaron niveles de fosforilación de esta proteína superiores a los de la cepa silvestre. Desde un punto de vista funcional, dentro de este grupo se incluyen principalmente genes relacionados con pared celular y procesos de morfogénesis y genes de función desconocida, así como genes relacionados con transducción de señales, transporte y transcripción. En general, se observó un elevado grado de correlación entre los niveles de fosforilación de la MAPK Slt2 en los mutantes analizados y los niveles de activación transcripcional.

Dentro del grupo de mutantes que no presentaron activación basal de Slt2 (110), se han confirmado 38 cepas resistentes al antibiótico, y en general con niveles de expresión de *MLP1* superiores a los de la cepa silvestre. En este grupo, se han identificado mutantes, como *ssd1Δ* y *pmt2Δ*, en los cuales existe una elevada activación transcripcional de genes relacionados con la integridad celular dependiente de la actividad de la MAPK Slt2 o del

factor de transcripción Rlm1, en ausencia de incrementos detectables en la fosforilación de la MAPK.

Finalmente, con el fin de caracterizar funcionalmente alguno de los genes seleccionados en el rastreo genómico, uno de los elegidos fue el gen *YPL158C* cuya función hasta el momento es desconocida. Se ha determinado que esta proteína se localiza tanto en el cuello como en el núcleo de la célula y su ausencia conduce a: i) una activación de la ruta CWI que depende del sensor Wsc1, ii) a fenotipos de hipersensibilidad frente a agentes que afectan a la integridad celular, iii) aparición de células multigemadas y, iv) a un retraso en la salida de la fase G1 del ciclo celular. Todos estos resultados sugieren un papel de la proteína Ypl158c en procesos morfogénicos en *S. cerevisiae*.

VARIABILIDAD INTRAESPECÍFICA Y CARACTERÍSTICAS DEL GENOMA DEL PATÓGENO *LACTOCOCCUS GARVIEAE*

Autor: Pilar Reimundo Díaz-Fierros.

Director: José Agustín Guijarro Atienza.

Centro: Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo.

Lactococcus garvieae es el agente etiológico de la lactococosis, una importante patología en acuicultura. Esta bacteria es ubicua y ha adquirido relevancia como agente zoonótico en los últimos años. A pesar de ello, los conocimientos que se tienen sobre la biología, la variabilidad entre cepas procedentes de diferentes hospedadores, los mecanismos de patogenicidad, etc., de este microorganismo son limitados.

Con el fin de aportar nuevos datos que ayuden a mejorar esta situación, en la presente Tesis Doctoral se han abordado un conjunto de estudios que han permitido, en primer lugar, la caracterización del sistema de incorporación de D-alanina a los ácidos teicoicos y lipoteicoicos de la pared celular de *L. garvieae*, poniéndose de manifiesto su implicación en patogenicidad. En segundo lugar, se ha evaluado la virulencia de dos aislados de la bacteria procedentes de trucha arcoiris (cepa 074) y de humano (cepa HF) en dos modelos animales. Los resultados indican que la cepa 074 es capaz de saltar la barrera de especie y producir un proceso patológico en ratón. Asimismo, la variabilidad genética entre las cepas 074 y HF ha sido analizada mediante la técnica denominada «hibridación sustractiva supresora» (Suppressive Subtractive Hybridization, SSH). De este modo, se han identificado diferencias génicas entre ambas cepas que han sido utilizadas para extender el análisis a una colección de cepas procedentes de diferentes ambientes y hospedadores. Los resultados confirman la existencia de una importante variabilidad genética intraespecífica. Finalmente, se ha secuenciado y analizado el genoma de la cepa 074 lo que ha conducido a la identificación de, entre otros, seis islas genómicas y numerosos elementos móviles, genes de origen fágico, elementos de inserción y secuencias repetidas. Además, se ha puesto de manifiesto la presencia de diversos genes cuyos productos posiblemente ejerzan un papel importante en los mecanismos de patogenicidad de *L. garvieae*.

En conclusión, los resultados obtenidos en este trabajo aportan nuevos conocimientos sobre este microorganismo patógeno y pueden constituir un punto de partida para la futura caracterización de las claves genéticas de su virulencia.

PAPEL DEL COMPLEJO SWI/SNF EN LA TRANSCRIPCIÓN REGULADA POR LA RUTA DE INTEGRIDAD CELULAR EN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Autor: Ana Belén Sanz Santamaría.

Directores: José Manuel Rodríguez Peña y Javier Arroyo Nombela.

Centro: Dpto de Microbiología II. Universidad Complutense de Madrid.

El programa transcripcional necesario para la adaptación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* a situaciones de estrés sobre la pared celular está coordinado principalmente a través de la ruta de integridad celular (CWI). Así, la exposición de la levadura a agentes que

desestabilizan esta estructura conduce a la activación de la MAPK Slt2. Slt2 actúa sobre diferentes factores de transcripción, siendo Rlm1 el principal responsable de la expresión de la mayoría de los genes inducidos en estas condiciones. En este trabajo definimos por primera vez la participación del complejo remodelador de cromatina SWI/SNF en la regulación de la respuesta transcripcional global mediada por Slt2 y Rlm1. Mutantes *swi/snf* presentan una drástica reducción en la expresión de genes de respuesta a estrés sobre la pared celular e hipersensibilidad a compuestos que interfieren con esta estructura. En condiciones de estrés, Rlm1 interacciona físicamente con SWI/SNF para dirigir su asociación con los promotores diana. Allí, el complejo SWI/SNF produce el desplazamiento de nucleosomas favoreciendo la entrada de Rlm1 y en último lugar, de la RNA polimerasa II. La unión de la RNA Pol II al DNA depende de la presencia de Rlm1, la MAPK Slt2 y el complejo SWI/SNF. En conjunto, nuestros resultados definen los mecanismos moleculares implicados en la regulación de la mayor parte de la respuesta transcripcional en situaciones de estrés sobre la pared celular, a través de la ruta CWI.

BIORREMEDIACIÓN EN HÁBITATS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS. ESTUDIOS DE LOS PARÁMETROS INDICADORES DE LA VIABILIDAD DE LOS PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN

Autor: Gloria Andrea Silva Castro.

Directores: Concepción Calvo Sainz y Jesús González López.

Centros: Departamento de Microbiología e Instituto Universitario de Investigación del Agua. Universidad de Granada.

Centro de presentación: Instituto Universitario de Investigación del Agua. Universidad de Granada.

Agradecimientos: Estudio financiado por el Ministerio de Medio Ambiente (MMA.A487/2007/20-01.1).

La biorremediación es una tecnología que estimula la actividad microbiana y acelera el proceso natural de degradación de un compuesto contaminante. Las prácticas vigentes de extracción, procesamiento, almacenamiento, transporte y distribución de hidrocarburos del petróleo así como los derrames accidentales han causado y causan problemas medioambientales prácticamente en todos los sitios de nuestro planeta. Actualmente, la biorremediación se considera una tecnología eficaz, poco costosa y ambientalmente segura.

El objetivo fundamental de este proyecto de tesis doctoral fue generar una base amplia de conocimientos que permitiera evaluar los factores físico-químicos y biológicos implicados en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos y determinar la eficacia e idoneidad de distintos tratamientos combinados en la recuperación de estos suelos contaminados. Como agentes bioestimulantes se evaluaron: Fertilizante NPK, surfactante Ivey, Biorrem como agente estructurante y etanol como cosustrato. Asimismo, se evaluó el efecto de la oxidación química con reactivo Fenton a bajas concentraciones.

Como parámetros indicadores de la evolución del proceso se determinó la evolución de la microbiota total heterótrofa y degradadora de hidrocarburos, la actividad deshidrogenasa, la producción de CO₂ y los cambios en la biodiversidad mediante análisis de TGGE (electroforesis en gel con gradiente de temperatura).

Los ensayos se realizaron en dos fases de escalado: I Ensayos a escala de laboratorio donde se valoró la influencia del tipo y concentración del contaminante, del tipo de suelo y la dosis de los tratamientos aplicados. II Ensayos en un sistema a escala de planta piloto donde se valoraron los tratamientos seleccionados en la etapa precedente.

Los resultados obtenidos mostraron que el surfactante IVEY® y el pre-tratamiento Fenton ambos aplicados de forma combinada con el fertilizante NPK aumentaba la eficiencia del proceso de degradación de los hidrocarburos cuando el contaminante se caracterizaba por un alto grado de envejecimiento.

Las condiciones experimentales a escala piloto permitieron establecer que, en condiciones de humedad inferiores a 15% los mayores

rendimientos de degradación se obtuvieron con el fertilizante NPK, mientras que con valores superiores al 30% de humedad el tratamiento combinado NPK+Ivey incrementó la degradación de los hidrocarburos de alto peso molecular. El pre-tratamiento con reactivo Fenton estimuló la biodegradación de todas las fracciones de hidrocarburos, siendo su efecto más notable en las condiciones de humedad superiores al 20%.

Los estudios de biodiversidad basados en la técnica de TGGE mostraron diferencias en las poblaciones microbianas dependiendo de los tratamientos y de la zona muestreada. Indicar que el tratamiento con reactivo FENTON produjo grandes cambios en la biodiversidad del suelo, quedando reflejado por la obtención de un patrón de bandas muy diferente al del resto de biotratamientos.

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y BASES GENÉTICAS DE LA RESISTENCIA Y VIRULENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS DE DIFERENTE ORIGEN

Autor: María de los Ángeles Argudín Regueiro

Directores: María del Rosario Rodicio Rodicio y María Cruz Martín Martín.

Centros de realización: Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo, España. Federal Institute for Risk Assessment, Berlín, Alemania.

Centro de presentación: Universidad de Oviedo, Oviedo, España.

Staphylococcus aureus es una bacteria comensal y patógena, que se encuentra en el ser humano y en animales tanto en estado portador como causando enfermedad. Su estructura poblacional es altamente clonal, lo que está facilitado por la presencia de sistemas de restricción-modificación (RM) que modulan el intercambio genético. A pesar de ello, existen fenómenos de transferencia horizontal que permiten la dispersión o intercambio de elementos genéticos móviles (EGM) y sistemas reguladores entre clones del mismo linaje e incluso de diferentes linajes. La presente Tesis Doctoral analiza la estructura poblacional de una amplia colección de aislamientos de *S. aureus* de diverso origen y examina la distribución de determinantes de resistencia y virulencia entre los linajes encontrados. Los aislamientos analizados proceden de pacientes de dos hospitales, de portadores sanos, de muestras de alimentos y de manipuladores de alimentos, todos ellos del Principado de Asturias (PA). También se incluyeron en el estudio aislamientos de origen animal de Alemania, pertenecientes al clon emergente ST398. Los aspectos desarrollados fueron los siguientes:

- Identificación de los linajes circulantes en el PA y de su variabilidad interna mediante el uso de distintas técnicas de tipificación: electroforesis en campo pulsante (PFGE), secuenciación de múltiples loci, secuenciación del gen de la proteína A (*spa*) y amplificación de los genes *sau1hsdS1* y *sau1hsdS2* del sistema RM Sau1. Se estableció la presencia de 15 linajes en la región (CC1, CC5, CC8, CC9, CC12, CC15, CC22, CC25, CC30, CC45, CC59, CC72, CC88, CC97, CC121) siendo mayoritarios CC5, CC30 y CC45. Además, se desarrolló un protocolo para la tipificación por PFGE del clon emergente ST398 no tipificable anteriormente con esta técnica.
- Detección de determinantes de virulencia y de EGM implicados en su dispersión. A diferencia del clon ST398, los aislamientos del PA presentaron un número muy elevado de determinantes de virulencia asociados a EMG (islas genómicas, islas de patogenicidad, profagos, y plásmidos), combinados en numerosos perfiles. Estos resultados ponen de manifiesto la elevada plasticidad del genoma de *S. aureus*, lo cual facilita su adaptación a los distintos nichos ecológicos que ocupa. Este apartado se completó con la caracterización molecular de un plásmido híbrido de virulencia-resistencia, que representa un interesante ejemplo de ingeniería evolutiva.
- Estudios de resistencia. Se encontraron elevados porcentajes de resistencia, especialmente frente a β-lactámicos, aminoglicosidos, macrólidos y lincosamidas, y de multiresistencia, en aislamientos clínicos del PA y en ST398, con respecto a los aislamientos recogidos en la comunidad. Se identificaron los genes responsables de las

resistencias y los EGM implicados en su dispersión (transposones y plásmidos), y se estableció su distribución en los diferentes linajes. La determinación de los tipos SCCmec en aislamientos resistentes a metilina permitió identificar los clones MRSA circulantes en la región y dentro del ST398.

La Tesis Doctoral amplía el conocimiento sobre la estructura poblacional de *S. aureus*, y sobre las propiedades de resistencia y virulencia de los linajes y clones detectados. Además, identificó los clones epidémicos, esporádicos y emergentes que han estado circulando en el PA, cuyo seguimiento epidemiológico debe continuar en el futuro.

CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA Y MOLECULAR DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE HIDROCARBUROS AISLADAS DE FONDOS MARINOS (DEL PRESTIGE)

Autor: Imane Uad.

Directores: Concepción Calvo Sainz, Jesús González López y Maximino Manzanera Ruiz.

Centros de realización: Departamento de Microbiología e Instituto Universitario de Investigación del Agua. Universidad de Granada.

Centro de presentación: Instituto Universitario de Investigación del Agua. Universidad de Granada

Agradecimientos: Estudio financiado por la Agencia Española de Cooperación Internacional, por Repsol YPF y por el grupo de investigación RNM270

Este proyecto de investigación presenta el estudio de 18 cepas bacterianas, aisladas de muestras de agua y sedimentos marinos procedentes de la zona del hundimiento del petrolero Prestige (4.000 m de profundidad), así como de muestras de fuel que se encontraba en los tanques de almacenamiento del pecio.

Estas cepas se seleccionaron debido a su potencial biotecnológico en la biorremediación de ecosistemas contaminados con hidrocarburos, ya que eran capaces de degradar hidrocarburos y de exopolisacáridos con actividad emulgente.

Las 18 cepas pertenecieron a los géneros *Bacillus* (siete cepas), *Brevibacterium* (una cepa), *Halomonas* (cuatro cepas), *Thalassospira* (dos cepas), *Marinobacter* (una cepa), *Pseudomonas* (dos cepas) y *Pseudoalteromonas* (una cepa). Crecieron en un amplio rango de salinidad (0,5 y 15% p/v) y presentaron una gran variabilidad metabólica independientemente de su encuadramiento taxonómico.

Asimismo, se estudió la capacidad de estos microorganismos para producir bioemulgentes (BE), obteniéndose producciones superiores a 1g/l para *B. thuringiensis* W1, *B. pumilus* W15, F20 y S22, *B. casei* F2, *H. alkanartctica* W3, *Halomonas variabilis* W4 y W10, *Halomonas* sp. W12, *Thalassospira* sp. W5 y W7, *Marinobacter* sp. W8, *Pseudoalteromonas elyakovii* W18, *Pseudomonas fluorescencia* S21 y *Pseudomonas grimontii* S24.

Para comparar la eficacia de las cepas productoras y determinar las mejores condiciones de producción se desarrolló un índice de calidad bioemulgente (Ic) que relacionara la productividad con la actividad emulgente. La aplicación de este índice seleccionó a los bioemulgentes producidos por *H. alkanartctica* W3, *H. variabilis* W4 y W10, *Halomonas* sp. W12.

Respecto al crecimiento en presencia de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) (naftaleno, fenantreno, antraceno y pireno), *B. thuringiensis* W1, *B. pumilus* W15, W16, F17 y F20, *B. casei* F2, *Thalassospira* sp. W5 y W7 y *Marinobacter* sp. W8 crecieron en presencia de estos cuatro compuestos aromáticos. Los estudios de degradación en medio líquido mostraron que *H. variabilis* W10 y *Marinobacter* sp. W8 fueron las más eficientes en la degradación de naftaleno. Asimismo se demostró que *B. pumilus* F17, *Halomonas* sp. W12, *P. elyakovii* W18 y *P. grimontii* S24 degradaban eficazmente distintas fracciones de hidrocarburos presentes en el de crudo Kirkuk.

Como base para el desarrollo de futuras herramientas biotecnológicas, se inició el estudio de la caracterización de los promotores de *Halomonas variabilis* W10, para su uso como modelo de búsqueda de promotores que respondieran a señales de contaminación (HPA). Se construyó una genoteca para la búsqueda de promotores que respondieran a naftaleno, utilizando como fondo genético la cepa *Escherichia coli* XL1Blue. La librería construida presentó variabilidad de 37,5% y algunos clones se identificaron por presentar promotores inducibles.

PRODUCCIÓN DE OCRATOXINA A EN LAS PRINCIPALES ESPECIES DE ASPERGILLUS SECCIÓN CIRCUMDATI. ESTUDIO DE LOS GENES IMPLICADOS, MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CONTROL

Autor: Jéssica Gil Serna.

Directoras: Belén Patiño Álvarez y Covadonga Vázquez Estévez.

Centros de realización: Departamento de Microbiología III, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina con propiedades tóxicas frente a animales y humanos que se ha encontrado frecuentemente en una gran variedad de sustratos comunes en la dieta. Incluidas dentro de *Aspergillus* sección Circumdati se encuentran importantes especies ocratoxigenas como *A. ochraceus*, *A. steynii* y *A. westerdijkiae*, algunas de las cuales han sido poco estudiadas hasta el momento debido a su reciente descripción. Esta tesis se ha centrado en el estudio de la producción de OTA en estas especies así como en el desarrollo de nuevos métodos para su detección y control.

Las técnicas moleculares para la detección de hongos tóxicos son sensibles y específicas, y suponen una reducción importante en el tiempo de análisis. En este trabajo, se han desarrollado ensayos de PCR para la discriminación de *A. ochraceus*, *A. westerdijkiae* y *A. steynii* y se ha demostrado que se pueden aplicar para la detección de estas especies directamente en sustratos naturales. Por otro lado, se ha puesto a punto un ensayo de PCR a tiempo real para la detección y cuantificación de *A. ochraceus* y *A. westerdijkiae* en uvas y café verde.

La capacidad de producir OTA de estas especies también ha sido estudiada y se ha comprobado que *A. ochraceus* no es la principal productora de la sección Circumdati como se pensaba hasta el momento, sino que *A. westerdijkiae* y, principalmente, *A. steynii* producen OTA a niveles más elevados y su porcentaje de cepas productoras es mucho mayor. Además, se ha establecido el efecto de la temperatura, la actividad de agua y la composición del sustrato sobre el crecimiento y la producción de OTA en estas dos últimas especies y se ha comprobado que *A. westerdijkiae* es capaz de crecer más que *A. steynii* en todos los casos, mientras que *A. steynii* puede producir niveles muy altos de toxina en un mayor rango de condiciones.

La ruta de síntesis de OTA en el género *Aspergillus* está muy poco estudiada hasta el momento. En esta tesis, se ha demostrado mediante RT-PCR a tiempo real la implicación de tres genes en la ruta biosintética de OTA en *A. westerdijkiae* (*pks*, *p450-B03* y *nrps*) y se ha caracterizado un gen, *p450ste*, cuyos niveles de expresión se relacionan con la concentración de OTA extracelular.

Por último, se ha estudiado la posible utilización de *Debaryomyces hansenii* CYC 1244 como agente de biocontrol frente a *A. westerdijkiae* ya que se ha demostrado que su presencia supone una disminución en el crecimiento y la capacidad de producir OTA del hongo. El agente seleccionado podrá ser útil también para la detoxificación de productos alimentarios al ser capaz de adsorber la OTA a la superficie de su pared celular.

BIOFILM DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE: GENÉTICA, COMPOSICIÓN Y TERAPIA

Autor: Miriam Domenech Lucas.

Directores: Miriam Moscoso Naya y Ernesto García López.

Centros: Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC). Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Microbiología III. Universidad Complutense de Madrid.

Actualmente se estima que los biofilmes están implicados en más de la mitad de las infecciones bacterianas humanas y, hasta en un 80%, en las infecciones crónicas, debido fundamentalmente a que las bacterias que forman parte de los biofilmes se muestran refractarias tanto a los agentes antimicrobianos como a los mecanismos de defensa del sistema inmunitario del hospedador. Hasta el momento, el modo de vida sésil de *Streptococcus pneumoniae* apenas ha sido investigado y, sin embargo, la otitis media, y, posiblemente, la neumonía y la

meningitis son enfermedades neumocócicas asociadas a la formación de biofilmes.

En esta Tesis hemos concluido que, la formación del biofilm es un proceso multifactorial en el que intervienen genes implicados en muy diversas funciones celulares. Además de genes del metabolismo de carbohidratos y síntesis de poliaminas, se describe por primera vez, la implicación de la proteína PhtE (candidata para una nueva vacuina proteica) en el desarrollo de un biofilm neumocócico.

En general, el polisacárido capsular de neumococo puede constituir una barrera física que impide o, al menos, dificulta, las primeras etapas de formación del biofilm. No obstante, la estructura química del polisacárido capsular influye en la formación del biofilm ya que, dentro del mismo serogrupo capsular, se ha observado que los neumococos de los serotipos 19A y 19F son buenos formadores de biofilm mientras que los de serotipos 19B y 19C, no.

Entre los componentes de la matriz del biofilm neumocócico se encuentran el ADN-extracelular y las proteínas, son importantes tanto para la formación como para el mantenimiento del biofilm. Además es muy probable la existencia de complejos ADN-proteína y, más concretamente, con la lisozima LytC. En dicha matriz se ha demostrado la existencia de uno o más polisacáridos que contienen residuos de Glc $\beta(1\rightarrow4)$ y GlcNAc $\beta(1\rightarrow4)$. La proteína LytB podría desempeñar un papel esencial en las etapas iniciales de la formación del biofilm, ayudando a la diseminación de las células hijas sobre la superficie a colonizar.

Los biofilmes de *S. pneumoniae* son capaces de evadir el sistema del complemento del hospedador ya que las bacterias que forman el biofilm presentan un menor depósito de C3b, C1q y CRP en su superficie que las bacterias planctónicas. La evasión del sistema del complemento conlleva una menor opsonofagocitosis de las bacterias que forman parte del biofilm.

Compuestos como el xilitol y la *N*-acetil-L-cisteína pueden utilizarse para prevenir la formación de biofilmes neumocócicos. Además, la *N*-acetil-L-cisteína ha mostrado una potencial acción terapéutica. Las hidrolasas de pared de neumococo LytA y LytC, las endolisinas fágicas Pal, Ejl, Cpl-1 y Cpl-7 y combinaciones de las mismas, como LytA + Cpl-1, constituyen una prometedora alternativa para el tratamiento de las infecciones neumocócicas asociadas a biofilmes.

VINO Y SALUD: MEJORA DE LA CALIDAD SANITARIA DEL VINO POR HONGOS DE LA VID Y MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA HUMANA POR POLIFENOLES DEL VINO

Autor: Carolina Cueva Sánchez.

Directoras: Begoña Bartolomé Sualdea y M^a Victoria Moreno Arribas.

Centros: Departamento de Biotecnología y Microbiología de los Alimentos Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC-UAM Departamento de Química-Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid.

En la actualidad, los consumidores están cada vez más concienciados de la importancia que tiene una alimentación equilibrada y segura sobre la salud. El vino, entendido como un alimento, es un producto de origen fermentativo que no está exento de riesgos y contaminaciones

de origen microbiano, como la presencia de elevadas concentraciones de aminas biógenas. Por otro lado, el vino también se caracteriza por poseer compuestos con potenciales efectos beneficiosos, entre los que destacan los compuestos fenólicos o polifenoles, a los que se les atribuye un efecto cardioprotector. Un aspecto menos estudiado respecto a la bioactividad de los polifenoles del vino es su interacción con la microbiota humana (oral e intestinal), que engloba tanto el efecto de los compuestos fenólicos sobre las bacterias como el metabolismo microbiano de los compuestos fenólicos.

Con el objetivo global de avanzar en el conocimiento de cómo el vino puede contribuir al mantenimiento de la salud, la presente Tesis doctoral propone la utilización de hongos aislados de la vid como una nueva estrategia natural, para minimizar el contenido de aminas biógenas en los vinos y para su potencial uso en la producción de antimicrobianos en la industria alimentaria. Por otro lado, mediante estudios dirigidos a evaluar la capacidad de los polifenoles del vino (y de sus metabolitos microbianos) para modular la microbiota bacteriana de la cavidad oral y del colon, se pretende aportar nuevas evidencias científicas sobre los efectos en la salud humana del consumo moderado de vino.

En relación a las propiedades biotecnológicas de los hongos de la vid, se llevó a cabo el aislamiento e identificación molecular de 290 cepas de hongos del ecosistema de la vid, para la búsqueda por un lado de actividades enzimáticas amino oxidasas, implicadas en la degradación de aminas biógenas, y, por otro, la producción de metabolitos antimicrobianos. Se ha comprobado que los hongos de la vid presentan elevada capacidad para degradar las aminas biógenas histamina, tiramina y putrescina, y en concreto una cepa de *Penicillium citrinum* (CIAL-274,760) se ha protegido mediante patente y se ha depositado en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT 20782), por su elevado potencial para eliminar estas aminas biógenas en vinos. Además, los hongos del ecosistema de la vid producen compuestos capaces de inhibir selectivamente microorganismos patógenos de alimentos, sin afectar a las bacterias probióticas, lo que les convierte en potenciales aditivos para la industria alimentaria para prevenir el deterioro de los alimentos, así como las infecciones alimentarias.

En el marco de los polifenoles del vino y la microbiota humana, se evaluó la capacidad de compuestos y extractos obtenidos de uva y vino, para modular la microbiota de la cavidad oral y del colon. Se ha demostrado la capacidad de algunos compuestos fenólicos del vino, en especial el ácido gálico y el etilgalato, y de extractos fenólicos derivados de uvas o de vino, para inhibir selectivamente el crecimiento de bacterias patógenas respiratorias de la cavidad oral. A nivel intestinal se ha comprobado que la microbiota es capaz de metabolizar los polifenoles del vino, dando lugar a una amplia gama de metabolitos intermedios y ácidos fenólicos, alguno de los cuales, como es el caso de la 5-(3',4'-dihidroxifenil)- γ -valerolactona se ha propuesto como marcador del catabolismo de flavan-3-oles. Entre los ácidos fenólicos formados se encuentran ácidos fenilpropiónicos, fenilacéticos y benzoicos, que a su vez son capaces de inhibir bacterias patógenas intestinales. El catabolismo de los polifenoles del vino está a su vez acompañado de cambios en la microbiota intestinal a favor de las bacterias beneficiosas y/o comensales, lo cual podría contribuir a la prevención del desarrollo de determinadas enfermedades. Además, se ha demostrado que entre la población anaerobia facultativa y/o aerobia del intestino hay bacterias tolerantes a los polifenoles del vino. En conjunto, estos estudios confirman el potencial efecto modulador de los polifenoles del vino sobre la microbiota humana.

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

SEM@foro publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas por miembros de la SEM. Deben enviarse a la Secretaría de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al Director Editorial (vicjid@farm.ucm.es) por correo electrónico, siguiendo el formato: Título, Autor, Director(es), Centro de realización, Centro de presentación (si es distinto) y Resumen (máximo, unas 200 palabras).

SEM@foro se reserva el derecho a no publicar la información si el resumen es excesivamente largo o el tema del trabajo no guarda suficiente relación con la Microbiología.

Miguel Sánchez Pérez (1955-2012): investigador y profesor

Víctor J. Cid y César Nombela. Dpto. de Microbiología II.
Universidad Complutense de Madrid.



Miguel Sánchez Pérez (1955-2012).

de hacer un homenaje a su trayectoria científica, íntimamente ligada a la de sus maestros, sus compañeros y sus discípulos, y que Miguel gustaba de compartir con generosidad, su memoria se confunde con la nuestra propia y la implicación emocional que suponen estas líneas es enorme. Dramática, diría él.

Miguel Sánchez Pérez, que se enorgullecía de haber nacido asturiano y ejerció como salmantino, comenzó su carrera investigadora según la tradición de la escuela científica que creara el Profesor Julio Rodríguez Villanueva, desde 1966 en la Universidad de Salamanca. Un grupo cuyas posibilidades y horizontes se ampliaron con el tiempo al consolidarse el Instituto de Microbiología y Bioquímica gracias a la feliz convergencia de la Universidad y el CSIC en la ciudad del Tormes. Finalizados sus estudios de Biología en 1978, Miguel se incorporó a este núcleo de trabajo microbiológico, pionero de tantas cosas, para estudiar aspectos bioquímicos de la pared celular fúngica. De hecho se unió al equipo del que ya formaban parte el también prematuramente desaparecido Tomás Santos y Francisco del Rey bajo la dirección de César Nombela, recién regresado de Estados Unidos tras un período postdoctoral. Tomó contacto con la experimentación científica estudiando la regulación de glucanasas en el hongo *Penicillium*¹, lo que fue su iniciación en la investigación microbiológica, lo que iría seguido de sus esfuerzos con estas mismas actividades enzimáticas en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Desde el principio se desarrolló en tareas orientadas a buscar la funcionalidad biológica, en estos primeros compases a través de evidencias bioquímicas.

Miguel seguiría un dilatado período postdoctoral en EEUU en el que se introdujo a fondo en el campo de la Inmunología, trabajando con Stephen Shaw (NIH) en interacciones linfocitarias y el papel de determinados antígenos HLA. A su regreso a España, mediados los ochenta, de nuevo se adentraría en la Microbiología de la pared celular fúngica utilizando la levadura como sistema experimental. El departamento de la Facultad de Farmacia en la Universidad Complutense, en donde fue acogido de nuevo por César Nombela, sería su destino en esta etapa de madurez. Su balance fue espléndido en los quince años que duró esta etapa de su vida de intensa actividad docente e investigadora.

Difícil resulta sustraerse al sentimiento de tristeza por la desaparición —tan temprana— de un compañero tan querido y admirado como Miguel, para plasmar en unas líneas lo que su presencia y su trabajo significaron para todos nosotros. Por breve que haya de ser esta semblanza queremos sobre todo hacer justicia a su memoria. Sería más fácil ilustrar con mil anécdotas la originalidad, brillantez y el enorme magnetismo de su persona, que quienes le conocimos tendremos siempre tan presente, o su extraordinaria capacidad para comunicar tanto la Ciencia como la ilusión por la investigación. Pero cuando se trata

De izquierda a derecha,
Francisco del Rey, Miguel
Sánchez, César Nombela
y Tomás Santos en Salamanca
en 1978.



Su labor fue verdaderamente ingente, como integrante del equipo, en el que colaboró como co-director, aportando creatividad científica y dedicación intensa, además de su excelente sentido del humor. Compaginó inicialmente su participación en estudios sobre la bioquímica de las glucanasas de *Candida* con la dirección de líneas en Inmunología. En la primera línea, trabajó por vez con Concha Gil y María Molina, con quienes mantendría una relación científica muy duradera. En el contexto de la línea inmunológica, centrada en estudios moleculares sobre el complejo principal de histocompatibilidad², dirigió las tesis doctorales de Rosalía Díez Orejas y Javier Arroyo, hoy investigadores con una dilatada carrera.

Fue en este entorno, en el que el grupo de César Nombela, compartiendo el timón con Miguel y María Molina, realizó el hallazgo que habría de marcar la trayectoria de sus investigaciones durante años. Utilizando aproximaciones genéticas y moleculares para entender la funcionalidad de la pared celular de la levadura, la doctoranda Lourdes Torres se centró en mutantes deficientes en la integridad celular, por incapacidad para generar una pared funcionalmente estable a temperatura no permisiva. De hecho, se utilizaron estirpes con estas mutaciones que habían sido obtenidas bastantes años antes por otro integrante de la escuela de Salamanca, Angel Durán, cuando trabajaba en el laboratorio de Enrico Cabib en el NIH. Lourdes realizó un hallazgo que tenía mucho de inesperado: el gen afectado, que fue clonado y denominado *SLT2*, no codificaba una proteína fundamental para la biosíntesis de componentes de la pared celular, sino una proteína-quinasa del tipo MAP (*Mitogen Activated Protein*)³. El enfoque del trabajo de nuestro grupo sobre la pared celular se habría de volcar desde entonces en la regulación de un proceso

de notable complejidad, conectado a los fenómenos básicos de la división celular y la morfogénesis. El descubrimiento de la MAP quinasa *SlT2p* fue esencial para definir la ruta de transducción de señales de integridad celular, que atrajo la atención de muchos grupos en todo el mundo. La tesis de Humberto Martín completaba la caracterización inicial de este gen, y Miguel coordinaría la escritura de una revisión que consolidaría internacionalmente el concepto de «integridad celular»⁴ y que fue la publicación más citada de la Microbiología española durante los últimos años de la década de los 90.

Otro aspecto esencial en el que el grupo llegó a ser pionero fue el desarrollo de materiales y estrategias de Biología Molecular en *Candida albicans*, modelo fundamental de hongo patógeno. Miguel co-dirigió igualmente estos esfuerzos cuando se incorporó al grupo Jesús Pla para llevar a cabo la clonación de las primeras quinasas MAP de este hongo patógeno, al tiempo que se desarrollaban vectores y genotecas que han sido utilizados en muchos laboratorios. También por esta época Miguel fundó y dirigió el Centro de Citometría de Flujo de la Universidad Complutense, aportando técnicas para el análisis de la lisis celular y la expresión génica en levaduras⁵. Pero fue la apuesta decidida de nuestro grupo por la Genómica y la Proteómica en un momento clave para su implantación en nuestro país lo que caracterizó los últimos años de Miguel en Madrid. Participó tanto en proyectos de secuenciación -primero en el pionero, el de *S. cerevisiae*, y luego en el de otros modelos de importancia, como *Schizosaccharomyces pombe* y *Aspergillus fumigatus*- como en la caracterización funcional de los genes de función desconocida resultantes de la anotación del genoma de *Saccharomyces*. En el campo de la Proteómica, impulsó junto con Concha Gil la puesta

a punto de técnicas de análisis bidimensional de proteínas inmunogénicas de *Candida albicans*⁶. Como conocedor tanto de la biología del hongo como del sistema inmune, debemos destacar que la interacción entre *Candida* y el hospedador era quizás el tema favorito de Miguel, que mantuvo siempre activo de manera constante en el punto más productivo de su carrera.

Por último, otra contribución de Miguel a la biología celular en levaduras se basó en sus estudios de la regulación del ciclo celular en relación con la morfogénesis. El descubrimiento de que algunos mutantes autolíticos de levadura estaban afectados en realidad en genes que codificaban reguladores del ciclo celular, como la septina Cdc10 o la quinasa Cdc15, llevaron a nuestro grupo a describir nuevos fenómenos de regulación morfogénica⁷. Miguel habría de trasladar estos estudios a *Candida albicans* cuando regresó a Salamanca para ocupar la cátedra que había dejado vacante el Profesor Villanueva. Serían ya sus últimos esfuerzos científicos porque su salud se resentía. No obstante, siguiendo su impronta la línea fue sacada a flote y defendida con denuedo por sus fieles últimos discípulos, Javier Jiménez y Alberto González-Novo, con el apoyo de otros compañeros y amigos, como Francisco del Rey, Carlos R. Vázquez de Aldana y Jaime Correa. Los logros principales de esta línea han sido la clonación del gen *CDC14* de *C. albicans* y el descubrimiento de su implicación y el de las septinas en la regulación de la transición dimórfica. Son 57 las publicaciones internacionales las que dan cuenta de la intensidad actividad, la creatividad y la capacidad de colaboración investigadora de Miguel Sánchez Pérez. Un legado científico que, si fue tan prematuramente cercenado por una terrible enfermedad, constituye un testimonio de su lucidez y vocación investigadora.

De justicia es recordar igualmente su implicación en la Sociedad Española de Microbiología, en otras sociedades científicas y en tantos esfuerzos de cooperación entre profesores e investigadores comprometidos con el avance de la Ciencia en España. Pionero en el manejo medios audiovisuales, aportó mucho al Congreso nacional de la SEM de 1995, en el que recordamos el cincuentenario de nuestra sociedad. Igualmente presidió el grupo especializado de Micología.

Miguel es ya parte de nuestra historia. Nos ha dejado pero su espíritu sigue vivo entre nosotros. Nos sigue inspirando su actitud de profesor con la que motivaba a los estudiantes pre-graduados (en la Facultad era conocido como «el americano» por la botas que calzaba); de director, por lo que estimulaba a los doctorandos desde una enorme curiosidad intelectual y una proverbial ambición por conquistar el conocimiento desde las fronteras; de universitario, capaz de interpelar a los colegas proponiendo objetivos ambiciosos para el departamento y la facultad, todo ello manejando cuando fuera necesario la argumentación precisa y la más fina ironía. Por ello, sintiendo su muerte celebramos su vida y su legado.

ALGUNAS PUBLICACIONES CLAVE DEL PROF. MIGUEL SÁNCHEZ PÉREZ

1. Santos T, Sanchez M, Villanueva JR, Nombela C. 1978. Regulation of the beta-1,3-glucanase system in *Penicillium italicum*: glucose repression of the various enzymes. *J Bacteriol.* 133:465-471.
2. Arroyo J, Alvarez AM, Nombela C, Sánchez-Pérez M. 1995. The role of HLA-DP beta residue 69 in the definition of antibody-binding epitopes. *Hum Immunol.* 43:219-226.
3. Torres L, Martín H, García-Saez MI, Arroyo J, Molina M, Sánchez M, Nombela C. 1991. A protein kinase gene complements the lytic phenotype of *Saccharomyces cerevisiae* *lyt2* mutants. *Mol Microbiol.* 5:2845-2854.
4. Cid VJ, Durán A, del Rey F, Snyder MP, Nombela C, Sánchez M. 1995. Molecular basis of cell integrity and morphogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Rev.* 59:345-386.
5. Alvarez-Barrientos A, Arroyo J, Cantón R, Nombela C, Sánchez-Pérez M. 2000. Applications of flow cytometry to clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 13:167-195.
6. Pitarch A, Sánchez M, Nombela C, Gil C. 2002. Sequential fractionation and two-dimensional gel analysis unravels the complexity of the dimorphic fungus *Candida albicans* cell wall proteome. *Mol Cell Proteomics.* 1:967-982.
7. Jiménez J, Cid VJ, Cenamor R, Yuste M, Molero G, Nombela C, Sánchez M. 1998. Morphogenesis beyond cytokinetic arrest in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol.* 143:1617-1634.



VIII REUNIÓN DEL GRUPO
DE PROTISTOLOGÍA
6/7, SEPTIEMBRE, 2012
A CORUÑA



XVIII Congreso Nacional de
Microbiología
de los **alimentos**

25 - 28 de septiembre de 2012



SEM



UNIVERSIDAD
DE LA RIOJA

CIVA
Centro de Investigación Aplicada y Multidisciplinar
del Vino y de la Agroalimentación

D+D



SEM

Madrid

12-13 de julio de 2012

I Reunión de Docencia y Difusión de la Microbiología

El Grupo Especializado en Difusión y Docencia de la Microbiología (**D+D SEM**) anuncia su primera reunión a nivel nacional. Si eres un profesional de la enseñanza o un amante de la divulgación de nuestra ciencia, esta es tu cita.

Más información en www.ucm.es/info/mfar/ddm

SEM@foro

NUEVOS SOCIOS DE LA SEM

- Aguirre Durán, Angel Alfonso
- Almuzara Sánchez, David
- Álvarez Álvarez, Rubén
- Aragón Cortés, Isabel María
- Bailo Vergara, Rebeca
- Bañuelos Bernabé, M^a Antonia
- Benito Casado, Begoña
- Bernáldez Rey, M^a Victoria
- Cabezas Arambarici, Pedro
- Cámara Rey, Elena
- Coll Almela, Luis
- Costafreda Salvany, María Isabel
- Costoya Seco, Lilliana
- De Boer, Albert
- Del Castillo Figueruelo, Borja
- Dzunkova, María
- Fillol Homs, Mireia
- García Moyano, Antonio
- Garre García, Elena
- Gómez Gómez, Felipe
- Gómez Santos, Nuria
- González Menéndez, Ángel
- Gutiérrez Fernández, Diana
- Haro Hidalgo, Rosario
- Hormeño García, Lorena
- Huertas Capilla, Blanca
- Infante, Carmen
- Jalenques, François
- Jiménez Fernández, Alicia
- Landete Iranzo, José María
- Lasa González, Aide
- León León, María José
- López Hermoso, Clara
- Margolles Barros, Abelardo
- Martínez Burgos, Yolanda
- Martínez Ovejero, Cristina
- Martínez Toledo, María Victoria
- Maza Márquez, Paula
- Miguel Vior, Natalia
- Miras Maldonado, Josefa
- Montiel Moreno, Raquel
- Monzó Martos, Pascal
- Olano Álvarez, Carlos
- Padilla López, Beatriz
- Panades i Blas, Xavier
- Paredes Aguilar, Katihuska
- Pérez Pulido, Rubén
- Picazo Espinosa, Rafael
- Pozo Jiménez, María José
- Reboleiro Rivas, Patricia
- Rivadeneira Ruiz, María Angustias
- Rodríguez Jiménez, María Esther
- Rodríguez Olmos, Angel
- Rodríguez Vázquez de Aldana, Carlos
- Sánchez Fresneda Pinto, Ruth
- Sheth, Chirag
- Siles Martos, José Antonio
- Silván Jiménez, José
- Subires, Alicia
- Teijeira Romón, Fernando
- Thomas López, Daniel
- Vela Cano, María
- Vilchez Morillas, Juan Ignacio
- Vizcaino Rodríguez, María del Mar
- Zabala Alvarez, Daniel

Altas desde 19/4/2012 hasta 27/10/2012



**IX REUNIÓN GRUPO
MICROBIOLOGÍA
MOLECULAR**



**AUDITORIUM DE MALLORCA
PALMA de MALLORCA
14-16 Noviembre 2012**

<https://sites.google.com/site/micromolecular2012/home>

**Inscripción abierta
con cuota reducida
hasta el 15 de julio**

Reconstructing the essential bacterial cell cycle machinery

16 – 19 September 2012 | Real Sitio de San Ildefonso, Spain

**EMBO
Workshop**

The programme for this event
was reviewed and approved by the
EMBO Course Committee.



<http://events.embo.org/12-bacteria-cell-cycle>



IX CONGRESO SEM MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO



BARCELONA 2012

13 -15 de septiembre de 2012

Web: <http://www.SEMMMABCN.org>

Secretaría del Congreso: scb@iec.cat



9 778422 544396 >