NUMERO 54

Bacterias halófilas: biodiversidad, quorum sensing y aplicaciones biotecnológicas

Emilia Quesada, Victoria Béjar, Ana del Moral, Fernando Martínez-Checa y Inmaculada Llamas. Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Campus de Cartuja s/n 18171 Granada Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. equesada@ugr.es.



(1) Inmaculada Llamas Company (Profesora Titular), (2) M.º Dolores Ramos Barbero (contratada predoctoral), (3) Ana del Moral García (Catedrática), (4) Ali Tahrioui (becario postdoctoral), (5) Rocío Luque Aznar (becaria postdoctoral) (6) Fernando Martínez-Checa Barrero (Profesor Titular), (7) Victoria Béjar Luque (Catedrática), (8) Emilia Quesada Arroquia (Catedrática y responsable del grupo), (9) Nahid Oueriaghli (contratada predoctoral), (10) Hakima Amjres (contratada postdoctoral), (11) Carmen M.º González Domenech (contratada postdoctoral), y (12) Marta Torres Béjar (Becaria predoctoral), junto con otros estudiantes y colaboradores.

Nuestro grupo de investigación «Exopolisacáridos Microbianos» (BIO 188; Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo de la Junta de Andalucía) está compuesto por doce investigadores, nueve de los cuales son doctores. En nuestra página web se puede hallar más

información sobre sus componentes y actividades (www. ugr.es/~eps/es/index.html).

La línea de investigación de nuestro grupo es el estudio de bacterias halófilas, incluyendo sus potenciales aplicaciones en biotecnología y medicina, los estudios de quorum

64

sensing, quorum quenching y el análisis de la biodiversidad de ambientes hipersalinos.

Actualmente nuestra investigación se subvenciona gracias a cuatro proyectos de investigación, dos del Plan Nacional de I+D (AGL2009-07656 y CGL2011-25748) y dos proyectos de Excelencia de la Junta de Andalucía (P10-CTS-5859 y P10-CVI 06226). Asimismo tenemos diversos contratos de transferencia de resultados con empresas del sector biotecnológico interesados en la aplicación de los exopolisacáridos producidos por nuestras cepas halófilas.

Trabajamos en colaboración con equipos de investigación de las siguientes entidades: Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada (Dr. I. Molina), Fundación Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores de Andalucía (Fundación MEDINA) (Dr. G. Bills), Universidad de Sevilla (Dr. A. Ventosa), Universidad de Santiago de Compostela (Dr. J.L. Barja y Dra. A. Otero), Universidad de Texas en Dallas, USA (Dr. J.E. González), Universidad de Florencia, Italia (Dr. C. Vitti), Centro Internacional de Investigación ICGEB en Trieste, Italia (Dr. V. Venturi) y Universidad de Nottingham, U.K. (Dr. M. Cámara y Dr. S. Heebs). Nuestro grupo pertenece a la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos desde su fundación a principios de los noventa. La red engloba actualmente una veintena de grupos de investigación distribuidos por universidades y centros del CSIC de todo el país.

Nuestros principales logros investigadores pueden resumirse en lo siguiente:

- Puesta a punto de la metodología necesaria para el aislamiento, identificación y estudio fisiológico de bacterias halófilas moderadas, en lo que nuestro equipo fue pionero a nivel internacional.
- Descubrimiento de una veintena de especies y de varios géneros de bacterias halófilas aisladas del medio ambiente, entre las que destacamos Halomonas maura y Halomonas stenophila que tienen interés biotecnológico debido a las propiedades funcionales y biológicas de sus exopolisacáridos.
- Estudios de biología molecular en bacterias del género Halomonas. Caracterización de los genes carAB implicados en la síntesis del exopolisacárido producido por Halomonas eurihalina, y del operón epsAB-CJ responsable de la síntesis del exopolisacárido en Halomonas maura.
- Estudios de sistemas quorum sensing y de regulación global en bacterias halófilas En nuestros estudios hemos identificado por primera vez la producción de moléculas señal del tipo N-acilhomoserín lactonas en distintas especies del género Halomonas y caracterizado el sistema hanR/hanI y el sistema de dos componentes gacS/gacA en Halomonas anticariensis FP35^T.
- Descripción de la biodiversidad de hábitats hipersalinos utilizando técnicas de ecología molecular y técnicas clásicas de cultivo. El ambiente que con mayor

- profundidad hemos investigado en los últimos cinco años ha sido Rambla Salada (Murcia) encontrando que *Halomonas* es el microorganismo más frecuentemente aislado y que, sin embargo, aguas y suelos salinos contienen una plétora de bacterias y arqueas no cultivadas hasta el presente, pertenecientes a los phyla *Euryarchaeota*, *Crenarchaeaota*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes*.
- Aislamiento, aplicando nuevas técnicas, de procariotas halófilos que no habían podido ser cultivados por métodos convencionales. Con dichas técnicas estamos hallando e identificando nuevos microorganismos pertenecientes a phyla donde antes no se habían descrito microorganismos halófilos cultivables.

PRINCIPALES PUBLICACIONES DE LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS

- Oueriaghli N, Béjar V, Quesada E, Martínez-Checa, F. (2012).

 Molecular-ecology techniques reveal both spatial and temporal variations in the diversity of archaeal communities in Rambla Salada, Spain. Microbial Ecol (en prensa).
- Torres M, Romero M, Prado S, Dubert J, Tahrioui A, Otero A, Llamas I. (2012). N-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from hatchery bivalve cultures. Microbiol Res (en prensa).
- **Tahrioui A, Quesada E, Llamas E. (2012).** Genetic and analysis of the GacS/GacA system in *Halomonas anticariensis*, a moderately halophilic bacterium. Microbiology SGM (en prensa).
- Luque R, Béjar V, Quesada E, Martínez-Checa F, Llamas I. (2012). Halomonas ramblicola sp. nov., a moderately halophilic bacterium from Rambla Salada, a mediterranean hypersaline rambla in southeast Spain. Int J Syst Evol Microbiol. 62: 2903-2909.
- Llamas I, Amjres H, Mata JA, Quesada E, Béjar V. (2012). The potential biotechological applications of the exopolysaccharide produced by the halophilic bacterium *Halomonas almeriensis*. Molecules 17: 7103-7120.
- Luque R, González-Domenech CM, Llamas I, Quesada E, Béjar V. (2012). Diversity of culturable halophilic archaea isolated from Rambla Salada, Murcia, Spain. Extremophiles 16: 205-213.
- **Tahrioui A, Quesada E, Llamas I. (2011).** The HanR/HanI quorum-sensing system of *Halomonas anticariensis*, a moderately halophilic bacterium. Microbiology 157: 3378-3387.
- Amjres H, Béjar V, Quesada E, Abrini J, Llamas I. (2011). Halomonas rifensis sp. nov., an exopolysaccharide-producing, halophilic bacterium isolated from a solar saltern. Int J Syst Evol Microbiol 61: 2600-2605.
- Llamas I, Béjar V, Martínez-Checa F, Martínez-Cánovas MJ, Molina I, Quesada E. (2011). *Halomonas stenophila* sp. nov., a halophilic bacterium that produces sulphate exopolysaccharides with biological activity. Int J Syst Evol Microbiol 61: 2508-2514.
- Ruiz-Ruiz C, Srivastava GK, Carranza D, Mata JA, Llamas I, Santamaria M, Quesada E, Molina IJ. (2011). An exopolysaccharide produced by the novel halophilic bacterium Halomonas stenophila strain B100 selectively induces apoptosis in human T Leukaemia cells. Appl Microbiol Biotechnol 89: 345-355.
- Gonzalez-Domenech CM, Martínez-Checa F, Béjar V, Quesada E. (2010). Denitrification as an important taxonomic marker within the genus *Halomonas*. Syst Appl Microbiol 33: 85-93.

Gonzalez-Domenech CM, Martínez-Checa F, Quesada E, Béjar V. (2009). *Halomonas fontilapidosi* sp. nov., a moderately halophilic, denitrifying bacterium. Int J Syst Evol Microbiol 59: 1290-1296.

Mata JA, Béjar V, Bressollier P, Tallon R, Urdaci MC, Quesada E, Llamas I. (2008). Characterization of exopolysaccharides produced by three moderately halophilic bacteria belonging to the family Alteromonadaceae. J Appl Microbiol 105: 521-528.

Gonzalez-Domenech CM, Béjar V, Martínez-Checa F, Quesada E. (2008) *Halomonas nitroreducens* sp. nov., a new nitrate and nitrite reducing species. Int J Syst Evol Microbiol 58: 872-876.

Gonzalez-Domenech CM, Martínez-Checa F, Quesada E, Bejar V. (2008) Halomonas cerina sp. nov., a moderately halophilic denitrifying exopolysaccharide-producing bacterium. Int J Syst Evol Microbiol 58: 803-809.

Martinez-Checa F, Toledo FL, El Mabrouki K, Quesada E, Calvo C. (2007) Characteristics of bioemulsifier V2-7 synthesized in culture media added of hydrocarbons: chemical composition, emulsifying activity and rheological properties. Bioresour Technol 98: 3130-3135.

Arahal DR, Vreeland RH, Litchifield CD, Mormile MR, Tindall BJ, Oren A, Béjar V, Quesada E, Ventosa A. (2007) Recommended minimal standars for describing new taxa of the family *Halomonadaceae*. Int J Syst Evol Microbiol 57: 2436-2446.

Taxonomía de microorganismos de moluscos y peces

Jesús López Romalde.

Departamento de Microbiología y Parasitología. CIBUS-Facultad de Biología Universidad de Santiago de Compostela

El equipo de la Universidad de Santiago comenzó sus trabajos de patología de peces y moluscos en la década de los 80, con el análisis de vibrios patógenos para ostra y rodaballo. Desde entonces y gracias a la obtención de diferentes proyectos del Plan Nacional, Europeos y Autonómicos hemos avanzado en el estudio de la microbiota de peces y moluscos bivalvos, aplicando aproximaciones polifásicas que correlacionen fenotipo y genotipo de patógenos potenciales, así como la evaluación de factores de virulencia.

Con respecto al estudio de la microbiota de moluscos bivalvos, la caracterización polifásica, incluyendo métodos fenotípicos, genético-moleculares (AFLP, secuenciación, hibridación DNA-DNA) y quimiotaxonómicos permitió la descripción, como integrantes de la microbiota de almeja cultivada (Venerupis philippinarum y Venerupis decussata), de siete nuevas especies dentro del género Vibrio: V. breoganii, V. gallaecicus, V. artabrorum, V. atlanticus, V. celticus, V. toranzoniae y V. cortegadensis, y una nueva especie dentro del género Alivibrio: A. finisterrensis. Además, el estudio poblacional de Vibrio tapetis permitió la descripción de una nueva subespecie V. tapetis subsp. britanniensis, compuesta por cepas

aisladas de las Islas Británicas. Por otro lado, de la microbiota asociada a vieira (*Pecten maximus*) cultivada en Noruega, se describió dentro de la familia *Oceanospirillaceae* un nuevo género, *Kamskjellia norvegica* gen. nov. sp. nov., de bacterias aerobias Gram negativas, con una pigmentación marrón suave y una similitud menor del 93% con *Amphritea japonica*, la especie más cercana filogenéticamente. En la actualidad estamos terminando la caracterización de cepas que constituirán probablemente nuevas especies dentro de los géneros *Pseudoalteromonas* y *Alteromonas*, asociadas a la microbiota de varias especies de bivalvos.

Durante el último año, hemos comenzado el estudio de la microbiota asociada a estas especies de moluscos mediante técnicas de (electroforesis en geles con gradiente desnaturalizante (DGGE), con el fin de comparar las poblaciones cultivables y no cultivables (Fig. 1), cuyos resultados nos darán información valiosa sobre la importancia real de las diferentes poblaciones sobre el estado sanitario de los moluscos.

En cuanto a los estudios con microorganismos patógenos para peces, nos hemos centrado en las bacterias *Yersinia ruckeri*, agente causal de la enfermedad de la boca