

# SEM@foro

*Revista de la Sociedad Española de Microbiología*

JUNIO 2014

N.º 57



## Especial hongos filamentosos y levaduras

[www.sem microbiologia.org](http://www.sem microbiologia.org)

ESPECIAL AÑO DE LA BIOTECNOLOGÍA

Microbiomas y Probióticos por Daniel Ramón Pág. 30

CLAVE DICOTÓMICA PARA LA IDENTIFICACIÓN

DE HONGOS FILAMENTOSOS Pág. 70



# Déjese Impresionar

## Nuevos Consumibles Eppendorf para Cultivo Celular

La nueva línea de consumibles Eppendorf para Cultivo Celular fascinará a sus células. Excelente diseño, fiabilidad y pureza basados en más de 50 años de experiencia.

Productos creados por expertos y desarrollados por perfeccionistas.

¡Déjese impresionar!

> Insuperable calidad, claridad, pureza y esterilidad, proporcionan condiciones de cultivo celular más fiables.

> Diseño significativamente mejorado para mayor seguridad y consistencia.

> Máxima seguridad y confianza durante el almacenamiento y el transporte.



[www.eppendorf.com/cc](http://www.eppendorf.com/cc)

### Información de contacto:

Eppendorf Ibérica S.L.U. · Tel.: 91 651 76 94 · E-mail: [eppendorf@eppendorf.es](mailto:eppendorf@eppendorf.es)

Eppendorf® y el logo de Eppendorf son marcas registradas de Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania. Todos los derechos reservados, incluidos gráficos e imágenes. Copyright © 2014 by Eppendorf AG.

# SUMARIO

SEM@foro



Visite la página web  
de la SEM:

[www.sem microbiologia.org](http://www.sem microbiologia.org)

Encontrará información  
actualizada sobre  
congresos, reuniones,  
cursos y becas

**Socios protectores  
de la SEM:**

Francisco Soria Melguizo, S.A.



Fundación Medina



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

**Sociedad Española  
de Microbiología**

C/ Rodríguez San Pedro, 2  
Planta 2ª – despacho 210  
28015 Madrid

Tel. 91 561 33 81

[secretaria.sem@sem microbiologia.org](mailto:secretaria.sem@sem microbiologia.org)

<b>Editorial</b>	
Microbiología y la impronta de Gutenberg.....	3
<i>Ricardo Guerrero</i>	
<b>Microbiología, femenino singular</b>	
Ida Albertina Bengtson.....	5
<i>Mercè Piqueras</i>	
<b>Nuestros Grupos</b>	
Informes de los grupos especializados.....	8
<b>Jóvenes investigadores de la SEM</b> .....	12
<b>Colección española de cultivos tipo</b>	
Papel relevante de España en la fase preparatoria de MIRRI, la primera infraestructura europea sobre recursos microbianos.....	13
<b>Formación on-line</b>	
Cursos de formación continuada on-line de la SEM. Cinco años de actividad .....	15
<b>Opinión</b>	
Ambición, liderazgo y emoción, por <i>Juan Ayala</i> .....	18
Piedra, papel o tijera, por <i>Victor J. Cid</i> .....	19
<b>Microrreportajes</b>	
Martha Trujillo, Presidenta Electa de BISMIS.....	21
<b>Sociedades hermanas</b>	
Sociedad Científica Peruana de Microbiología (SOCPMI) .....	23
<b>Cursos</b>	
XII WORKSHOP «Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria».....	25
<b>Artículo</b>	
<i>Spiribacter salinus</i> : por fin una auténtica bacteria halófila moderada, por <i>Antonio Ventosa</i> .....	27
<b>ESPECIAL: 2014, Año de la Biotecnología</b>	
Microbiomas y probióticos: dos caras de la misma moneda .....	30
El dilema de la Patente Unitaria Europea y su influencia en la Biotecnología.....	32
<b>Especial hongos filamentosos y levaduras</b>	
Introducción, por <i>B. Patiño, A. di Pietro, J. Cansado y H. Martín</i> .....	34
Regulación por la luz del desarrollo de los hongos .....	35
Transducción de señales en <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	37
Grupo de inmunología de las infecciones fúngicas.....	41
Levaduras de interés industrial.....	43
Homeostasis de cationes y tolerancia a estreses abióticos en levaduras .....	45
Hongos productores de micotoxinas: detección y control.....	47
Genómica Funcional de Levaduras: reguladores, efectores y rutas de señalización implicadas en la integridad celular .....	50
Candidiasis y otras infecciones humanas asociadas a biopelículas microbianas.....	53
Interacción microorganismo-hospedador: Proyecto Proteoma Humano .....	56
CCCC Group: Ciclinas, CDK's, Ciclo Celular, Cáncer.....	59
Genética Molecular de la Patogénesis Fúngica: El modelo <i>Fusarium oxysporum</i> .....	61
Grupo de investigación de fisiología de levaduras .....	63
Mecanismos señalizadores y reguladores de la respuesta a estrés abiótico inducido por cationes y la alcalinización del pH ambiental en <i>Aspergillus nidulans</i> .....	66
Grupo de investigación en microbiología aplicada y medioambiental.....	69
<b>Clave dicotómica para la identificación de hongos filamentosos</b> .....	70
<b>Premio Fleming 2014</b> .....	72
<b>Tesis doctorales</b>	
Resúmenes de tesis doctorales.....	74
<b>Nuestra ciencia</b>	
Reseña de artículos científicos de nuestros socios.....	76
<b>Carta al presidente</b>	
Felipe Cava.....	78

[www.sem microbiologia.org](http://www.sem microbiologia.org)

# Junta Directiva de la SEM

## Presidente

### Ricardo Guerrero Moreno

Institut d'Estudis Catalans.  
C/ Carmen, 47. 08001 Barcelona. rguerrero@iec.cat

## Presidente Electo

### Antonio Ventosa Ucero

Dpto. Microbiología. Facultad de Farmacia.  
Universidad de Sevilla.  
C/ Prof. García González, s/n. 41012 Sevilla. ventosa@us.es

## Vice-Presidente

### Francisco García del Portillo

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

## Secretario

### Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.  
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.  
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid. jayala@cbm.uam.es

## Tesorerera

### Irma Marín Palma

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

## Editores de publicaciones

### International Microbiology

#### José Berenguer (Codirector - Madrid)

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.  
Departamento de Biología Molecular.  
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.  
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.  
jberenguer@cbm.uam.es

#### Ricardo Guerrero (Codirector - Barcelona)

Institut d'Estudis Catalans.  
C/ Carmen, 47. 08001 Barcelona. rguerrero@iec.cat

### SEM@foro

#### Víctor Jiménez Cid

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

### NoticiaSEM

#### Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología.  
Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.  
Campus de Cartuja. 18071 Granada. equesada@ugr.es

## Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

### Rosa Aznar Novella

Dpto. Microbiología y Ecología.  
Facultat de Ciències Biològiques. Univ. de Valencia.  
C/ Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot, València.  
rosa.aznar@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

### M<sup>a</sup> José Figueras Salvat

Unitat de Biologia i Microbiologia. Facultat de Medicina i  
Ciències de la Salut. Universitat Rovira i Virgili.  
C/ Sant Llorenç, 21. E-43201 Reus  
mariajose.figueras@urv.cat

### Jesús López Romalde

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

### Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología.  
Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.  
Campus de Cartuja, 18071 Granada. equesada@ugr.es

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

### David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria.  
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.  
Carretera de Burgos, Km.119. 47071 Valladolid.  
ita-rodla@itacyl.es

## Presidentes de Grupos

### Biodeterioro y Biodegradación

#### Asunción 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)

#### Humberto Martín Brieua

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

### Biología de Microorganismos Patógenos

#### Ángel Domínguez Olavarrí

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

### Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

#### Francisco Javier Pastor Blasco

Dpto. Microbiología.  
Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.  
Avda. Diagonal 645. 08028 Barcelona.  
fpastor@ub.edu

### 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

#### Bruno González Zorn

Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).  
Universidad Complutense.  
Av. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid.  
bgzorn@ucm.es

### Microbiología del Medio Acuático

#### Juan José Borrego García

Dpto. Microbiología. Facultad de Ciencias.  
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.  
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.  
29071 Málaga.  
adevicente@uma.es

### Protistología

#### Ana Martín González

Dpto. Microbiología III. Facultad de Biología.  
Universidad Complutense.  
C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid.  
anamarti@bio.ucm.es

### Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

#### Antonio Ventosa Ucero

Dpto. Microbiología. Facultad de Farmacia.  
Universidad de Sevilla.  
C/ Prof. García González, s/n  
41012 Sevilla.  
ventosa@us.es

### Docencia y Difusión de la Microbiología

#### Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genética i de Microbiologia.  
Universitat Autònoma de Barcelona.  
Cerdanyola del Vallès. 08193 Barcelona.  
Montserrat.llagostera@uab.cat

## 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: **Víctor Jiménez Cid**. E-mail: **vicjid@ucm.es**.

Co-editores de la sección especial Hongos Filamentosos y Levaduras: **Belén Patiño, Antonio di Pietro, José Cansado y Humberto Martín**.

Co-editor de la sección «Año de la Biotecnología»: **F. Javier Pastor Blasco**

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: M-12838-2013

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.sem microbiologia.org/sec/SEMaFORO**

# Microbiología y la impronta de Gutenberg

Ricardo Guerrero

Presidente de la SEM

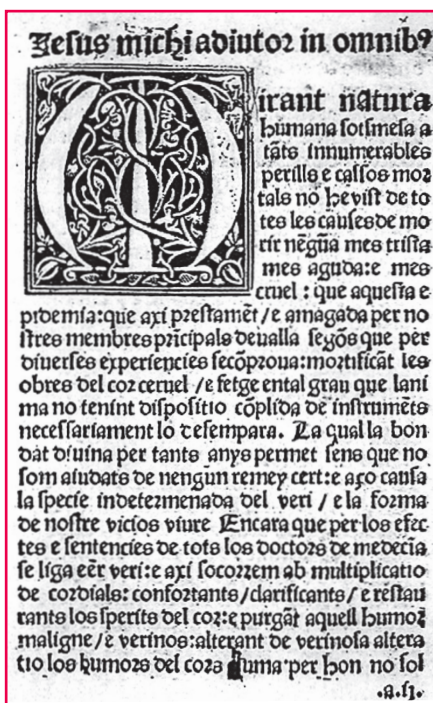


ás de un lector se preguntará si el título que precede a estas líneas es una errata. No lo es. Johannes Gutenberg (Maguncia, c.1398–1468) fue uno de los inventores del sistema de producción múltiple de textos que fue conocido posteriormente como «imprenta». Gutenberg perfeccionó y popularizó el sistema de utilizar tipos móviles entintados e «imprimirlos» repetidamente sobre un papel. Y no se limitó a copiar individualmente cientos de hojas sueltas, aunque esto solo ya hubiera sido un invento revolucionario. Gutenberg reunió las hojas, las cosió por el lomo y las encuadernó, produciendo los primeros libros impresos que conocemos. Uno de los más famosos es la *Biblia*, realizada entre 1449 y 1456. Esta última fecha marca el inicio de una nueva era de la civilización occidental. Una era que permitió la difusión de las ideas y del pensamiento y que abrió el camino al Renacimiento y a la primera Revolución Científica.

Pero Gutenberg hizo algo más que enseñarnos a imprimir libros. Cada página de su *Biblia*, escrita en latín, está dividida en dos columnas de 42 líneas, utiliza una tipografía inspirada en la escritura manual gótica alemana y separa párrafos y secciones mediante letras capitulares de bella factura. Con pocas variaciones, la visión de Gutenberg de la página y del texto impreso se mantiene hoy en día en el formato de nuestros libros y artículos. Gutenberg no solo nos dio la imprenta, sino que además nos dejó una impronta: la manera de presentar los textos escritos, que hoy producimos y leemos en el ordenador.

Uno de los primeros libros impresos sobre una enfermedad contagiosa, la peste, es el «Regiment preservatiu e curatiu de la pestilencia», del médico y poeta valenciano Lluís Alcanyís (1440–1506). Salió de la imprenta valenciana de Nicolás Spindeler hacia 1490. El incunable es un tratado práctico de experiencia médica de tan solo

unas 20 páginas, y del cual se conservan únicamente dos ejemplares. El texto comienza con una elegante y afiligranada letra M capital, y es de por sí muy bello y poético: «Mirant natura humana sotsmesa a tants innumerables perills e casos mortals no he vist de totes les causes de morir nenguna mes trista mes aguda e mes cruel que aquesta epidemia que així prestament e amagada per nostres membres principals devalla segons que per diverses experiencies se comprova mortificant les obres del cos cervel e fetge en tal grau que l'anima no tenint dispositio complida de instruments necessariament lo desempara». («Al mirar la naturaleza humana sometida a tantos peligros y casos mortales, no he visto entre todas las causas de morir ninguna más triste, más aguda y más cruel que esta epidemia, que desciende rápida y oculta por nuestros miembros principales, según se ha podido comprobar por experiencias diversas, mortificando las funciones del cuerpo, del cerebro y del hígado, de tal manera que el alma, falta de apoyo e instrumentos, tiene que abandonarlo».)



La letra M mayúscula es el cuadratín que dirige cada familia de letras. Cuando se diseña un nuevo tipo de letra, se empieza dibujando la M. Esta letra tiene su origen en un símbolo jeroglífico egipcio: una sencilla línea ondulada que representaba el mar. Los fenicios adoptaron este símbolo y lo llamaron *mem*, «agua», y tal vez para ahorrar espacio lo pusieron vertical. Las variantes vertical y horizontal convivieron amigablemente en griego, en etrusco y, durante algún tiempo, también en latín. En tiempos de Augusto (63 aC–14 dC), la letra quedó plana y bien asentada sobre sus tres patas, que es como ha llegado hasta nosotros.

Las letras son el elemento esencial de la comunicación escrita. En nuestros artículos utilizamos principalmente textos, que van acompañados de un material complementario que consiste en gráficos, figuras, fotografías, tablas, y otros. Al comunicar los resultados de

una investigación, que es el objetivo principal de la publicación, es muy importante escribir claramente lo que queremos decir e incluir en el texto el material complementario adecuado. Ello permitirá la lectura rápida e inequívoca por parte de otras personas interesadas en el tema, y su comprobación o contestación, que es un elemento esencial del método científico.

Las sociedades científicas han sido durante décadas o centurias las entidades responsables del progreso científico en su campo de saber específico. Y eso en tres aspectos: en su gestación (observación, experimento y descubrimiento), en su financiación (es decir, en la captación y distribución de los recursos económicos, que se conseguían y gastaban a través de la sociedad) y, finalmente, en su difusión (mediante unas publicaciones propias, que tenían un gran prestigio). La realidad actual es bien diferente. La investigación se ha profesionalizado y se lleva a cabo en las universidades y centros de investigación. El dinero lo distribuyen los políticos, a veces hasta con cierto criterio y acierto. Y la difusión se hace a través de revistas científicas que están mayoritariamente en manos de unas pocas macroeditoriales comerciales, que han ido absorbiendo empresas procedentes de la fusión de editoriales pequeñas. Para muchas editoriales comerciales internacionales la publicación de revistas científicas es ahora el 80 o el 90 % de su negocio.

Muchas sociedades internacionales de prestigio tienen sus propias revistas. Unas bajo el sistema de suscripción (paga el lector, generalmente su universidad o centro), y otras bajo el sistema de acceso abierto (Open Access, en el que paga el autor o el organismo que subvenciona su investigación). La Ley de la Ciencia (14/2011 del 1 de junio de 2011), vigente actualmente en España, opta por el modelo del acceso abierto. En su Artículo 37 (Difusión en acceso abierto), expone claramente en sus dos primeros puntos que:

1. Los agentes públicos del Sistema Español de Ciencia, Tecnología e Innovación impulsarán el desarrollo de repositorios, propios o compartidos, de acceso abierto a las publicaciones de su personal de investigación, y establecerán sistemas que permitan conectarlos con iniciativas similares de ámbito nacional e internacional.
2. El personal de investigación cuya actividad investigadora esté financiada mayoritariamente con fondos de los Presupuestos Generales del Estado hará pública una versión digital de la versión final de los contenidos que le hayan sido aceptados para publicación en publicaciones de investigación seriadadas o periódicas, tan pronto como resulte posible, pero no más tarde de doce meses después de la fecha oficial de publicación.

Las publicaciones de la SEM, la revista trimestral *International Microbiology*, este boletín semestral *SEM@foro* y nuestro boletín electrónico mensual *NoticiaSEM*, se publican bajo el régimen de acceso abierto total, permitiendo su consulta inmediata de los textos completos desde cualquier

parte del mundo. *International Microbiology* ha dedicado especial atención al tema del acceso abierto, que ha sido tratado en sus páginas en diversas ocasiones (R. Guerrero & M. Piqueras, 7[2004]:157-160; E. Abadal, 16[2013]:199-203; J. Barquero, 16[2013]: 253-257). Especialmente el «informe Finch» (resumen en J. Finch *et al.*, 16[2013]:125-132) es el estudio más completo que se ha hecho sobre el tema. Tiene 140 páginas y ha sido preparado por dieciséis expertos pertenecientes al Working Group on Expanding Access to Published Research Findings. El acceso abierto se va imponiendo poco a poco en todo el mundo, en algunos casos con revistas tan potentes y prestigiosas como *PLoS* o *eLife*, que no tienen ya versión impresa, porque publican únicamente en formato digital.

La publicación de artículos en revistas de prestigio es un elemento esencial en la carrera investigadora, y actualmente el principal instrumento de evaluación de la producción científica, tanto de los investigadores individuales como de los centros a los que pertenecen. Hoy día disponemos de enormes recursos digitales para difundir el conocimiento de nuestra especialidad de manera inmediata, universal y gratuita. El concepto de «número» o «volumen» de revista ha dado paso al uso casi exclusivo del artículo aislado, que además se difunde a través de internet sin necesidad de ser impreso. Y aunque hay diversos formatos que permiten la «presentación» de artículos de maneras diferentes, por el momento seguimos prefiriendo el «formato PDF», lo leamos en el ordenador, en la tableta o en el teléfono «inteligente» (que son los sistemas de mayor uso actual, pero que serán sustituidos o ampliados por otros en el futuro).

La presentación de los artículos, la disposición de texto, figuras, tablas, etc., sigue recordando la presentación de las páginas en

los balbuceos de la imprenta, en la segunda mitad del siglo xv. A pesar de McLuhan, ha cambiado el medio, pero se mantiene el mensaje. Somos los científicos quienes sabemos qué hay que decir y cómo podemos hacerlo.

Debemos y podemos mejorar la calidad de las publicaciones de nuestras sociedades. Es un esfuerzo colectivo que contribuirá a que las sociedades científicas recuperen una parte significativa de las funciones para las que fueron creadas, y hagan que sus asociados se sientan orgullosos de su modesta contribución al progreso de la ciencia y de la Sociedad.

**La publicación de artículos en revistas de prestigio es actualmente el principal instrumento de evaluación de la producción científica**



# Ida Albertina Bengtson

Mercè Piqueras

*International Microbiology, Associate Editor*



**E**n 1916, el Laboratorio de Higiene del Servicio Público de Salud de los Estados Unidos (precursor de los actuales Institutos de Salud, NIH) contrató por primera vez a una bacterióloga. Eran años de guerra y el estudio de las enfermedades infecciosas en el ejército era uno de los objetivos de dicho laboratorio. Allí se descubrió que la causa de algunos brotes de carbunco entre los soldados tenía su origen en brochas de afeitarse que estaban contaminadas y también que las gasas con que se cubrían las lesiones post-vacunales de la viruela podían contener esporas de tétanos. Era una época de gran desarrollo de la bacteriología y a Ida Albertina Bengtson (1881-1952), que compaginaba su doctorado en bacteriología con la actividad profesional, le

ofrecieron un salario de 1800 dólares anuales, que era muy bueno para la época.

Muchos grandes científicos han relatado en alguna ocasión haber sentido atracción por la ciencia desde la infancia. No es el caso de Bengtson, que decidió estudiar bacteriología a los treinta años, cuando llevaba ya ocho trabajando como bibliotecaria. Ida Albertina Bengtson nació el 17 de enero de 1881 en Harvard (Nebraska, EE. UU.) en una familia de inmigrantes suecos. Recibió una educación liberal y, en una época en la que no era frecuente que las mujeres realizasen estudios universitarios, ella se graduó en la Universidad de Nebraska en 1903. En seguida empezó a trabajar en la biblioteca del Servicio de Estudios



Ida A. Bengtson (1881-1952) (Public Health Service, dominio público).

Geológicos de los Estados Unidos, donde entabló amistad con una científica que trabajaba para el Gobierno. La profesión de su amiga le pareció más atractiva e interesante que la de bibliotecaria, por lo que en 1911 decidió dejar su trabajo y estudiar bacteriología en la Universidad de Chicago, con química y fisiología como asignaturas optativas. Después de obtener un máster en 1913, realizó estudios de doctorado y en 1919 obtuvo el título correspondiente. Mientras, había trabajado en el Departamento de Salud de Chicago y en 1916 fue nombrada ayudante de bacteriología en el mencionado Laboratorio de Higiene. Bengtson era muy meticulosa y minuciosa en las tareas de laboratorio y publicó, como única autora, bastantes trabajos sobre temas variados de microbiología, aunque su carrera como bacterióloga se centró básicamente en tres campos concretos: las bacterias anaerobias y sus toxinas, el tracoma, y las enfermedades causadas por rickettsias. En 1919 otra mujer entró a trabajar en el Laboratorio de Higiene. Era Alice C. Evans (1881-1975), que sería también una destacada microbióloga y la primera mujer que presidió la Society of American Bacteriologists (ahora American Society for Microbiology), con una dilatada carrera profesional que duró casi hasta su fallecimiento a los 94 años.

El estudio de las bacterias anaerobias y sus toxinas fueron el centro de atención de Bengtson durante dos períodos de su carrera profesional: de 1902 a 1923 y de 1934

### Ida Bengtson estudió las bacterias anaerobias y sus toxinas y, más tarde, patógenos intracelulares, como las rickettsias

a 1939. En la primera época identificó una nueva variedad de *Clostridium botulinum* que producía una toxina que se conoce como toxina C. Un investigador envió al Laboratorio de Higiene los cadáveres de un cobaya y varios pollos, así como larvas de mosca verde (*Lucilia caesar*) conservadas en glicerina para que estudiaran la presencia de un microbio patógeno desconocido que él creía que podía ser la causa de la enfermedad del cuello flácido (del inglés *limberneck*) en pollos de granja. En una muestra obtenida de la mosca verde, Bengtson aisló un clostridio que producía una toxina hasta entonces desconocida, la que ahora se conoce como toxina C.

Pronto se asoció dicha toxina a la enfermedad de cuello flácido en aves domésticas, pero hasta la década siguiente no se estableció su relación con la enfermedad en las aves acuáticas salvajes que azotaba los Estados Unidos y otros países. Era una zoonosis que había pasado casi desapercibida hasta 1910 y que en pocos años alcanzó proporciones catastróficas. En 1912, en solo un mes (del 22 de agosto al 21 de septiembre) se recogieron y quemaron más de 44.000 aves en las marismas de la orilla norte del Gran Lago Salado de Utah y la cantidad fue aún mayor en el mismo período del año siguiente. Bengtson obtuvo las primeras preparaciones estándar de las antitoxinas específicas para los tipos A, B y C.

En 1924 Bengtson fue destinada a Rolla (Missouri), a una zona donde se daban casos de tracoma, para estudiar la etiología de dicha enfermedad en un hospital del Servicio de Salud. El tracoma es una conjuntivitis folicular crónica y, aunque se sabía que era de origen infeccioso, no se conocía su agente causal. El japonés Hideyo Naguchi (1876-1928) lo atribuyó a una bacteria que denominó *Bacterium granulosis* y que parecía causar la enfermedad experimentalmente en monos. Ahora se sabe que el tracoma está causado por *Chlamydia trachomatis*, una bacteria que es un parásito intracelular obligado, por lo que su cultivo requiere técnicas parecidas a las que se emplean en virología. Bengtson pasó siete años en Rolla y aunque el ritmo de sus publicaciones descendió, el trabajo que realizó fue una buena preparación para la última fase de su carrera, porque entre los posibles agentes causales del tracoma que consideró se encontraban las rickettsias.

En 1937, como miembro de la "Unidad de Tifus", el principal objeto de su trabajo fueron las enfermedades causadas por rickettsias, primero la fiebre de las Montañas Rocosas y el tifus exantemático endémico y epidémico; luego también la fiebre de Tsutsugamushi o tifus de los matorrales, descrita en Japón en 1930, y la fiebre Q, causada por *Coxiella*, otra bacteria intracelular obligada, descrita en Australia en 1935. En 1938, el estadounidense Herald Rea Cox (1907-1986) descubrió que el saco vitelino del embrión de pollo era un medio adecuado para el crecimiento prolífico de las rickettsias y, gracias a este descubrimiento, Bengtson inició la fase más productiva de su carrera. Mediante algunas modificaciones a la prueba



CLASSIFICATION OF THE RICKETTSIAE OF ROCKY MOUNTAIN SPOTTED FEVER AND OF ENDEMIC (MURINE) TYPHUS

IDA A. BENGTON<sup>1</sup>

National Institute of Health, Bethesda, Maryland

Received for publication November 30, 1946

An impediment to a logical classification of the rickettsiae pathogenic for man has been the use of the generic term *Dermacentrozeus* for the organism of Rocky Mountain spotted fever. This designation was applied by Wolbach (1919), the term being derived from the generic name of the arthropod host, *Dermacentor andersoni*. The rickettsia was named *Dermacentrozeus rickettsi*. The same generic term was employed by Wolbach and Todd (1920) to designate the organism seen in sections of the capillaries, arterioles, and veins of Mexican typhus fever subjects. This organism was named *Dermacentrozeus typhi*. The use of *Dermacentrozeus* as applied to the organism of endemic (murine) typhus has not been recognized, and the term *Rickettsia* is universally accepted as the proper generic name of the organism of this disease as it is closely related to that of epidemic typhus, *Rickettsia prowazekii* (type species).

The purpose of classification is to arrange organisms which possess genetic relationships in groups. Just what criteria are to be used in making such arrangements is often debatable. The partial localization of the rickettsiae of Rocky Mountain spotted fever in the nucleus of cells in Rocky Mountain spotted fever in contrast to the intracytoplasmic localization of typhus rickettsiae has been cited as justification for the separation of the organism of spotted fever from those of epidemic (European) typhus and endemic (murine) typhus (Pinkerton, 1936).

There are, on the other hand, many characteristics which relate the spotted fever organism to those of epidemic and endemic typhus. These organisms are similar morphologically; they have common antigenic factors with certain *Proteus* strains; they show slight resistance to heat and chemical agents; they are nonfilterable; they occur in the endothelial cells of the small blood vessels; they are all concerned in diseases of man characterized by fever and exanthema; and there is evidence of some immunological relationship, Castañeda and Silva (1941) having shown that recovered typhus-infected guinea pigs are markedly more resistant to highly virulent spotted fever strains than are normal guinea pigs to the same strain. All are transmitted to man by arthropods.

If *Dermacentrozeus* should be considered acceptable as the generic designation for the organism of Rocky Mountain spotted fever, then it follows that other organisms of the rickettsial group which might be as closely related to one another as is the organism of Rocky Mountain spotted fever to *Rickettsia prowazekii* would also fall in different genera, each of which would consist of only one or two species. It is well recognized that many other organisms designated as rickett-

<sup>1</sup> Senior Bacteriologist (retired).

335



Ida A. Bengtson recibe la Medalla de la Comisión del Tifus (noviembre 1947) (Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos, dominio público.)

Último artículo científico de Ida A. Bengtson

de fijación del complemento la adaptó para la detección y diferenciación de las infecciones por rickettsias. Su técnica pronto alcanzó gran difusión y el trabajo que realizó en el cultivo en tejido de las rickettsias causantes del tifus exantemático fue de gran importancia para el desarrollo de una vacuna contra una enfermedad que, en tiempo de guerra, era una de las principales infecciones que se transmitían entre los soldados. Se jubiló en 1946, después de su trabajo en la Unidad de Rickettsias y su último artículo en una revista científica, publicado en el *Journal of Bacteriology* en 1947 trata de la clasificación de las rickettsias de la fiebre de las Montañas Rocosas y del tifus murino. Ese mismo año recibió la medalla de la Comisión del Tifus de los Estados Unidos. Después aún escribió el capítulo sobre la familia *Rickettsiaceae* para la sexta edición del *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ida Albertina Bengtson, que falleció en 1952, fue un modelo para otras investigadoras que entraron a trabajar en el Laboratorio de Higiene.

## BIBLIOGRAFÍA

- Barry J (1960) Notable Contributions to medical research by Public Health Service Scientists. A Bibliography to 1940. US Dept Health, Education & Welfare, Washington D.C.
- Bengtson IA (1921) Standardization of botulism antitoxins. *Am J Public Health* 11:352-357
- Bengtson IA (1922) Preliminary note on a toxin-producing anaerobe isolated from the larvae of *Lucilia caesar*. *Public Health Reports* 37:164-170
- Bengtson IA (1923) A toxin-producing anaerobe isolated principally from fly larvae. *Public Health Reports* 38:340-344
- Bengtson IA (1936) The official United States and international unit for standardizing gas gangrene antitoxin (hystoliticus). *Public Health Reports* 51:1263-1272
- Bengtson IA (1945) Applications of the complement-fixation test in the study of rickettsial diseases. *Am J Public Health* 35:701-707
- Bengtson IA (1947) Classification of the Rickettsiae of Rocky Mountain spotted fever and of endemic (murine) typhus. *J Bacteriol* 53:325-327
- Evans AC (1953) Obituary Ida Albertina Bengtson. *J Washington Acad Sci* 43:238-240

## DOCENCIA Y DIFUSIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA

**Montserrat Llagostera**  
Presidenta del Grupo D+D SEM



**E**n este medio año que ha transcurrido desde la última reseña de las actividades de nuestro grupo, la actividad de nuestro grupo se ha centrado en los eventos que os comento a continuación:

### Próxima reunión del grupo D+D SEM

Anotaros en vuestra agenda consultar la web <http://ddm2014.blogspot.com.es/> de la II Reunión del grupo D+D SEM que se celebrará los días 5 y 6 de Septiembre en Alicante. Se trata de una reunión abierta a cualquiera de nuestros colegas interesados en la temática de la difusión de la Microbiología y de su docencia en los diferentes niveles educativos. Los organizadores nos ofrecen múltiples actividades además de **sesiones de pósteres y de comunicaciones orales**. Entre ellas destaca una **mesa redonda** cuyo título es «Sensacionalismo científico y medios de comunicación: de la sal sin productos químicos al virus del cólera» y el espacio «**Microdemostración**» en el que los participantes que lo soliciten podrán presentar vídeos, monólogos o realizar una demostración práctica de su metodología docente o de su difusión. Además, como novedad destaca el **taller docente** y el **taller de difusión** que serán impartidos por miembros del grupo D+D SEM. Nuestra reunión es pues no tan solo un espacio de intercambio de experiencias y de opiniones sino también un espacio donde podremos aprender de forma práctica cómo mejorar nuestra docencia y cómo iniciarnos en la difusión de nuestra ciencia.

Nuestro agradecimiento a los organizadores por dedicar todos sus esfuerzos a ofrecernos un programa tan original y de gran interés para todos los docentes y comunicadores de la Microbiología.

### Curso de iniciación a la Investigación en Microbiología

Este curso es considerado por gran parte de los miembros de nuestra Sociedad como una de nuestras actividades estrella y fue un honor para nuestro grupo que la Junta Directiva de la SEM nos encargara su organización a partir del año 2011. Desde entonces el grupo se ha encargado de elaborar las bases que deben regir su organización, las cuales fueron aprobadas por nuestra Junta Directiva. Asimismo, ha contactado con diferentes miembros del grupo para solicitarles que fueran los organizados de las ediciones del 2011, 2013 y 2014 de dicho curso. Nuestro objetivo es

que el curso se realice en lugares diferentes de la geografía española, que acoja a los 20 mejores estudiantes que soliciten su participación, subvencionándoles su estancia, y que en el curso se trate de una amplia variedad de temas que representen a los diferentes grupos especializados de la SEM. Además, también hemos contemplado la posibilidad de que asistan al curso un reducido número de estudiantes de la zona en que se realice sin que ello conlleve ninguna ayuda económica para dichos estudiantes.

Siguiendo estos principios, la XVIII edición del curso de Iniciación a la Investigación se realizará en la Universidad del País Vasco (UPV/EHU) del 19 al 20 de junio del 2014 y será organizado por nuestra colega Inés Arana. La organización de un curso como éste requiere una gran dedicación y también imaginación ya que su presupuesto es limitado, sobre todo en los tiempos que corren. Por ello nuestro grupo agradece profundamente a Inés su compromiso con nuestro grupo y con la SEM. ¡Estamos seguros de su éxito!

### Grupo de trabajo de Jóvenes Investigadores de la SEM (JISEM)

Este grupo de trabajo, cuya puesta de largo tuvo lugar en el pasado Congreso de la SEM del 2014 en l'Hospitalet del Llobregat, cuenta ya con una web propia que pretende recoger el máximo de información, eventos y noticias que puedan ser de interés para los jóvenes microbiólogos investigadores. Su dirección es <https://sites.google.com/site/jovenesinvestigadoressem/home>. Os recomendamos encarecidamente que la visitéis ya que, aun cuando tengáis juventud acumulada, podréis encontrar informaciones muy útiles como por ejemplo oferta de becas, ayudas, contratos y prácticas, y diferentes cursos relacionados con la Microbiología. Una página destacada de dicha web es la que ofrece una **lista de los Másteres Oficiales de Microbiología** o relacionados que se imparten en las universidades españolas, con conexión a dichos másteres para que podáis consultar su contenido. Es nuestro objetivo tener esta lista actualizada. Por ello os pedimos que si detectáis cualquier error o si el máster que se imparte en vuestra universidad no figura en dicha lista, os pongáis en contacto con los administradores de esta web ([jovenesinvestigadoressem@gmail.com](mailto:jovenesinvestigadoressem@gmail.com)) para que nos ayudéis a mantener esta interesantísima información actualizada.

### Concurso «Relatos Microbiológicos»

Como os indicamos en el número anterior, Víctor J. Cid y la editorial Hélice han estudiado las diferentes posibilidades de editar los mejores relatos del concurso. Finalmente, se ha decidido editar en formato de libro electrónico dichos relatos. Para ello, actualmente se está trabajando en su ilustración y esperamos que en breve podáis disfrutar de su lectura.

Nos encontrareis en <http://www.semicrobiologia.org/ddm/index.php> Muchas gracias a todos por vuestra colaboración.

**¡Nos vemos en Alicante!**

**HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS**



**Humberto Martín**  
Presidente del Grupo

**TAXONOMÍA, FILOGENIA Y BIODIVERSIDAD**



**Antonio Ventosa**  
Presidente del Grupo

Cuando se publique este número de SEM@foro, dedicado a nuestro Grupo, estará a punto de comenzar el **XII Congreso Nacional de Micología**, que se celebrará en **Bilbao del 18 al 20 de junio de 2014**. Animaos todos aquellos que no lo hayáis hecho a inscribiros, ya que reúne todas las características para convertir estas fechas en inolvidables. Podéis encontrar toda la información del Congreso en la dirección <http://aemicol.org/CNM2014/>.

Por otra parte, os recordamos que ya se ha fallado el **premio Fleming 2014**, concedido bienalmente al mejor trabajo de investigación presentado a concurso en el ámbito de la Micología y realizado en un laboratorio de España en los dos años previos. La comisión compuesta por la Junta Directiva del grupo especializado y el Presidente del próximo Congreso Nacional de Micología ha otorgado el premio «Fleming 2014» al trabajo titulado «*Extracellular cell wall  $\beta(1,3)$  glucan is required to couple septation to actomyosin ring contraction*», publicado el año pasado en «*The Journal of Cell Biology*» y cuyos autores son Javier Muñoz, Juan Carlos G. Cortés, Matthias Sipiczki, Mariona Ramos, José Angel Clemente-Ramos, M. Belén Moreno, Ivone M. Martins, Pilar Pérez y Juan Carlos Ribas. Este trabajo será expuesto por el Dr. Ribas en la charla de clausura del XII Congreso Nacional de Micología y pueden leer una reseña en la página 72 de esta número de SEM@foro.

**BIODETERIORO, BIODEGRADACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN**



**Asunción de los Ríos**  
Presidenta del Grupo

El Grupo ha comenzado con los trámites para llevar a cabo la **renovación total de la Junta Directiva** (Presidencia, Vicepresidencia, Secretaría y tres Vocalías) por haberse cumplido el periodo de 4 años establecido en la normativa. Está previsto realizar una votación on-line en los próximos meses, tras cumplirse los plazos establecidos para presentación de candidaturas, proceso electivo, etc. Se irá informando a los miembros del Grupo por correo electrónico de todo el proceso.

El grupo especializado de Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad celebrará su **xv Reunión en Alcalá de Henares (Madrid), del 3 al 5 de julio de 2014**, organizada por José Luís Copa Patiño y Juan Soliveri (Presidente y Secretario del Comité Organizador). El formato de esta reunión será semejante al de anteriores reuniones; el programa incluye algunas conferencias invitadas, así como sesiones de comunicaciones orales y en panel, dándole la oportunidad a los investigadores más jóvenes para que expongan sus trabajos en forma de comunicación oral o bien de panel, con sesiones de discusión de los mismos. Se tiene prevista la participación como conferenciantes invitados de los Dres. Juan Antonio Saez Nieto (INS Carlos III) y Alberto López Bueno (CBM, CSIC), así como José Carlos Cordero Pérez (Servicio de Criminalística, Guardia Civil), que nos presentarán investigaciones de actualidad que seguro serán de interés para los participantes al congreso.

La reunión se celebrará en la Sala de Conferencias Internacionales de la Universidad de Alcalá, reconocida como Patrimonio de la Humanidad. La información detallada está disponible en la página web [www.taxon2014.com](http://www.taxon2014.com). Se ha hecho un esfuerzo importante para incentivar la asistencia a la reunión mediante el pago de unas cuotas de inscripción muy ajustadas. El plazo para la inscripción mediante la cuota reducida finaliza el 13 de junio de 2014. Confiamos en veros el próximo mes de julio en la Reunión y os animamos a participar activamente, especialmente a los jóvenes investigadores y a que con vuestras aportaciones continuemos en la línea de anteriores reuniones, con un altísimo nivel científico.

Por otro lado, considero de interés informar acerca del reciente congreso «**BISMIS 2014 – Defining Microbial Diversity in the Genomic Era**», el segundo congreso organizado por BISMIS (*Bergey's International Society for Microbial Systematics*), tras el éxito de la reunión inaugural celebrada en Beijing (China) hace 3 años. En esta ocasión el congreso se celebró en Edimburgo (Reino Unido), organizado por Fred A. Rainey y Brian Austin, durante los días 7 a 10 de abril de 2014 y si bien la asistencia fue mucho más reducida que en el congreso anterior, la calidad de las presentaciones y sobre todo los debates posteriores fueron de enorme interés. Debemos mencionar la excelente representación de investigadores españoles y las aportaciones realizadas por los mismos y de manera muy especial el nombramiento de nuestra compañera **Martha Trujillo como Presidente-Electo de BISMIS** (v. artículo en pág. 21). ¡Enhorabuena Martha! Está previsto que la próxima reunión del congreso BISMIS se celebre en 2017 en India.

## PROTISTOLOGÍA



**Ana Martín González**  
Presidenta del Grupo

**D**el 5 al 10 de septiembre de 2015, tendrá lugar el **VII Congreso Europeo de Protistología (ECOP)**, en **Sevilla**. Esta actividad está promovida por la Federación Europea de Sociedades de Protistología (FEPS), cuyo actual Secretario General es el Dr. Aurelio Serrano, anterior Presidente del Grupo Especializado de Protistología de la SEM y Presidente del Comité Organizador del Congreso. Como novedad, este congreso se celebrará, por primera vez, de manera conjunta con el de la Sociedad Internacional de Protistólogos (*International Society of Protistologists*, ISOP), por lo que en la práctica, se tratará de una reunión a nivel mundial. Los preparativos del Congreso ECOP-ISOP están bastante avanzados y ya han aparecido amplias reseñas del mismo, en dos revistas internacionales de la especialidad (*Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2014, 61: 224-5 y *European Journal of Protistology*, 2014, 50: 106), donde, entre otra información, aparece pormenorizado los miembros del Comité Organizador del Congreso y una amplia reseña histórica del Grupo Especializado de Protistología de la SEM, desde su creación en 1993. Ya se dispone de una primera versión del logo del Congreso, diseñado por nuestro socio el Dr. Juan C. Gutiérrez, que aparece adjunto a este texto.



En este congreso se contemplan todos los aspectos más actuales sobre la biología de protistas, tanto ecológicos y evolutivos como celulares y moleculares, tanto básicos como aplicados en el ámbito sanitario o biotecnológico. Se prevé un número de unos 12 simposios y otras tantas mesas redondas, algunas de las cuales serán simultáneas. Además, en el programa está previsto la inclusión de varias conferencias plenarias y sesiones de posters. ISOP se ha comprometido a ayudar económicamente al congreso y esponsorizar tres simposios y dos conferencias plenarias, una de ellas dedicada al Premio Hutner, para investigadores jóvenes. Asimismo, se van a solicitar subvenciones a diversos organismos nacionales e internacionales, con el fin de que las cuotas de inscripción para los congresistas sean razonables y se puedan establecer cuotas reducidas para estudiantes. Desde aquí, animo a todos los socios de la SEM y especialmente a los miembros del grupo especializado de Protistología a participar en este Congreso. Información disponible en FEPS: <http://feps-protists.eu/ecop/>).

## MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO



**Juan José Borrego**  
Presidente del Grupo

## X Congreso de Microbiología del Medio Acuático de la SEM

El próximo Congreso del Grupo se celebrará del **7 al 9 de Septiembre de 2014 en Elche y Orihuela**, organizado por el Dr. Antonio Martínez Murcia de la Universidad Miguel Hernández <http://www.geneticpcr.com/xcongreso-nacional-de-microbiologia-mma.html>. El Comité Organizador desea animar vuestra participación presentando los trabajos de vuestros equipos de investigación y alentando el protagonismo de los investigadores más jóvenes, a quienes se les ofrecerá la exposición oral de sus trabajos científicos. El programa científico se encuentra especificado en la web, y los plazos a recordar son:

- Remisión de los abstracts e inscripción antes del 15 de junio de 2014 a la Secretaría del Congreso: [xcmma@geneticpcr.com](mailto:xcmma@geneticpcr.com)
- El resumen de la comunicación debe seguir el formato siguiente:
  - **Documento entero:** Justificado, interlineado simple, espaciado de párrafo 0 puntos.
  - **Título:** Arial, 12 negrita. Línea en blanco bajo el título.
  - **Autores:** Arial, 10 normal, gris (35 % claro).

- **Direcciones:** Arial, 10 normal, gris (35 % claro). Línea en blanco bajo de las direcciones.
- **Resumen:** Arial, 10 normal. Tamaño máximo que no supere el folio.

[http://www.geneticpcr.com/images/stories/PDF/Docx/Plantilla\\_Res%C3%BAmenes\\_MMA\\_2014.docx](http://www.geneticpcr.com/images/stories/PDF/Docx/Plantilla_Res%C3%BAmenes_MMA_2014.docx)

## Premio de Investigación en Microbiología del Medio Acuático

Como en ediciones anteriores se ha abierto el plazo para la presentación del candidatura al **Premio a la mejor Tesis Doctoral** defendida durante los años 2012 y 2013 en nuestra especialidad. El plazo está abierto hasta el 31 de mayo de 2014. La documentación requerida (Tesis en formato pdf, CV del candidat@ y acreditación de la fecha de lectura de la Tesis Doctoral) debe ser enviada por e-mail a la Secretaria del grupo ([dcastro@uma.es](mailto:dcastro@uma.es)). El Premio incluye la presentación de un resumen del trabajo premiado en el X Congreso de Microbiología del Medio Acuático.

## MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA

**Francisco Javier Pastor Blasco**  
Presidente del Grupo



## Microbiología industrial y biotecnología microbiana

El V Congreso de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana (CMIBM'14) tendrá lugar en Oviedo los días

15 al 17 de Octubre de 2014 (<http://cmibm14.uniovi.es/>). El Congreso se celebrará en el Auditorio Príncipe Felipe de Oviedo, que se encuentra a escasos minutos del centro histórico de la ciudad. Está organizado por Jose Antonio Salas Fernández (Presidente del Comité Organizador), M<sup>a</sup> Carmen Méndez Fernández (Vicepresidenta) y Carlos Olano Alvarez (Secretario). Contará con las siguientes conferencias y sesiones:

- Sesiones científicas: Biotecnología de los Alimentos, Bioenergía y Biocombustibles, Biotecnología Farmacéutica, Biología Sintética y Biotecnología, Biotecnología Agrícola, Biotecnología Enzimática y Bioprocesos, Biotecnología ambiental.
- Sesiones de posters sobre cada una de esas temáticas.
  - «*La vida privada de las bacterias ambientales: individualidad y división de trabajo en Pseudomonas putida*». Victor de Lorenzo, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid. Conferencia Inaugural.
  - «*Veinticinco años o más de Biotecnología en España*». José Luis Garcia, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), Madrid. Conferencia de Clausura.

Como en congresos anteriores, esta es una gran ocasión para reunir a investigadores académicos y de empresas interesados en las aplicaciones de los microorganismos y sus productos en el campo de la industria y de la biotecnología. El congreso pretende ser un foro de discusión e intercambio de experiencias tanto entre investigadores de reconocido prestigio ya establecidos, como de jóvenes investigadores que pretenden obtener una formación en el campo de la Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana, con la participación asimismo de especialistas del sector empresarial e industrial. Por lo tanto desde aquí os animamos a participar en este evento y a presentar vuestras comunicaciones.

**SEM@foro** y **NoticiaSEM** publican artículos de opinión y divulgación sobre Microbiología, así como todo tipo de reseñas e información sobre la actividad de los Grupos Especializados de la SEM, congresos, simposios, seminarios, etc.

Además, **SEM@foro** y **NoticiaSEM** admiten **PUBLICIDAD** de las actividades, servicios o productos de tu empresa o institución.

Solicita los precios de publicidad a los directores de las publicaciones o a [secretaria.sem@semicrobiologia.org](mailto:secretaria.sem@semicrobiologia.org).

# Jóvenes Investigadores Sociedad Española de Microbiología

**Ignacio Belda**

Facultad de Biología,  
Universidad Complutense de Madrid



Desde el pasado año 2013, un reducido grupo de Jóvenes Investigadores microbiólogos hemos tenido la posibilidad de poner en marcha una inquietud, una idea posiblemente compartida por muchos otros jóvenes microbiólogos. Hablamos de la creación del **grupo de trabajo de Jóvenes Investigadores de la SEM (JISEM)**.

El germen de este grupo surge de las lecciones aprendidas en la conferencia inaugural de la I reunión de nuestro grupo D+D en Madrid (Septiembre, 2012) en la que Sara Burton, investigadora miembro del grupo de Docencia de nuestra Sociedad homóloga inglesa (SGM), dedicó el grueso de su charla a desglosar las actividades que dicha Sociedad dedica a los Jóvenes Investigadores, siendo conscientes de que los ahora becarios son, ni más ni menos, el futuro inmediato de la Microbiología.

Nuestra Sociedad cuenta ya con distintas iniciativas dedicadas a los microbiólogos en sus primeras etapas científicas: el ya veterano «Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología» o el Premio Jaime Ferrán, cubriendo espectros muy distintos de jóvenes investigadores. El grupo de trabajo JISEM surge con la intención de apoyar el mantenimiento y desarrollo de estas actividades así como la promoción de otras eventuales que contribuyan a la promoción de la Microbiología en los estratos más basales de la investigación, favoreciendo su asentamiento en «tiempos revueltos».

En estos pocos meses de actividad hemos procurado sentar las bases de un grupo extraordinariamente transversal, concretando objetivos y la forma de abordarlos. Hasta el momento, el sitio web de JISEM (<https://sites.google.com/site/jovenesinvestigadoressem/>) ha permitido dar dinamismo y difusión, dando a conocer cursos, convocatorias, congresos o noticias de interés, en gran parte gracias a la contribución, a través del correo electrónico, de distintos miembros de la SEM.

Cabe reseñar la gran acogida del **Compendio de Másteres en España relacionados con la Microbiología** que se publicó en nuestra página. Esta lista ofrece un gran apoyo a todos aquellos estudiantes de últimos cursos de Grado que, ante la enorme oferta docente y sus posibles dudas

personales, pueden ver la Microbiología como salida preferente y organizada, conociendo todas las áreas científicas en las que está presente.

Además, nos gustaría agradecer la acogida de la Dra. Inés Arana (UPV/EHU), organizadora del próximo Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología, a la iniciativa de incluir un Joven Investigador postdoctoral entre su espectro de ponentes de un curso que, un año más, confiamos sea exitoso y fructífero.

El próximo mes de Septiembre se celebrará en Alicante la **II Reunión del grupo D+D**, cita a la que JISEM asistirá y participará de forma activa en una sesión destinada a los Jóvenes Investigadores y que, gracias a la iniciativa de los organizadores de este Congreso, contará con asistencia gratuita previa inscripción para fomentar la participación de investigadores pre- y postdoctorales así como de estudiantes de máster y últimos años de grado. En los próximos meses se concretará el contenido de esta sesión, la cual esperamos que pueda enriquecernos a todos en nuestra tarea docente e investigadora y sentar definitivamente las bases del recién formado grupo JISEM.

La creación y la coordinación en estos primeros meses de vida de JISEM ha sido posible gracias al trabajo que, junto con Blanca Vera de la Universidad de Sevilla y Sergio Bárcena de la Universidad de Navarra, hemos llevado a cabo, contando en estos últimos meses con el trabajo de Daniel Thomas de la Universidad Complutense de Madrid, Joven Investigador pionero miembro de la Junta Directiva del Grupo de Biología Molecular de la SEM. Tras estos meses de estabilización queremos invitar a todos los miembros, jóvenes y senior, de la SEM a participar en la próxima reunión del grupo D+D (Alicante, Septiembre, 2014) que pretendemos sirva como punto de inflexión en la democratización y la definición de objetivos del grupo de Jóvenes Investigadores de la SEM. Por otra parte, nos mostramos abiertos a establecer nuevas iniciativas y escuchar sugerencias de cualquier miembro de la SEM. Pueden ponerse en contacto con nosotros a través del email [jovenesinvestigadoressem@gmail.com](mailto:jovenesinvestigadoressem@gmail.com).

# Papel relevante de **España** en la fase preparatoria de **MIRRI**, la primera infraestructura europea sobre **recursos microbianos**



Rosa Aznar

Directora de la CECT



En el número 55 de SEM@foro (Junio 2013, páginas 12-14) ya os presentamos el proyecto europeo «*Microbial Resource Research Infrastructure*» (MIRRI, [www.mirri.org](http://www.mirri.org)), que comenzó en noviembre de 2012 y que ahora se encuentra en el ecuador de la fase preparatoria. El objetivo último de esta iniciativa es construir una infraestructura de investigación paneuropea y distribuida para mejorar el acceso a los recursos microbianos de calidad, a la información sobre los mismos y a los servicios asociados, necesarios para acelerar la investigación y potenciar la innovación en biotecnología. En este artículo queremos resaltar algunos resultados intermedios sobre todo en lo referente a la participación española en las encuestas lanzadas en el seno del proyecto.

La Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) lidera el grupo de trabajo encargado de reunir la información básica para diseñar la infraestructura. Para ello han sido consultados tanto los proveedores como los usuarios de recursos microbianos mediante cuatro cuestionarios diseñados con diferentes fines:

**a) «ECCO-CC questionnaire»:** dirigido a las colecciones de cultivo de acceso público que son miembros de la Organización de Colecciones de Cultivo Europeas (*European Culture Collections' Organization*,

*ECCO*). Diseñado para establecer un perfil completo de las colecciones en relación al tipo de recursos conservados, sistemas de gestión de calidad, grado de informatización, etc.

- b) «non-ECCO-CC questionnaire»:** dirigido a colecciones de cultivo que no forman parte de ECCO mantenidas en laboratorios de institutos europeos de investigación, centros de salud pública, universidades, laboratorios nacionales de referencia y hospitales. Se trata de una versión reducida del cuestionario anterior y centrada en conocer el tipo de recursos albergados y la experiencia de los grupos de investigación que las han generado en diferentes ámbitos de la microbiología.
- c) «User questionnaire»:** dirigido a los actuales y potenciales usuarios de recursos microbianos y servicios relacionados. Diseñado para establecer el perfil de usuario de recursos microbianos y servicios asociados.
- d) «Innovative Services questionnaire»:** dirigido, como el anterior, a los actuales y potenciales usuarios de recursos microbianos y servicios relacionados. Diseñado para sondear el interés de los usuarios sobre los aspectos innovadores que supone MIRRI frente a las colecciones de cultivos tradicionales.

Este cuestionario se encuentra todavía abierto y se puede participar en el mismo a través de la siguiente página <https://www.surveymonkey.com/s/HV3DY7Z>.

En la Tabla 1 aparecen recogidos los resultados de participación por países en las cuatro encuestas. Cabe destacar la elevada participación de España en todas ellas lo que demuestra el interés de los principales «stakeholders» (proveedores y usuarios) en la iniciativa y nos avala en el apoyo que necesitamos de MINECO para que España continúe en la fase de construcción de la infraestructura (2015-2016).

La situación de las Colecciones de Cultivos europeas difiere en gran medida tanto en cuanto a tipo y número de microorganismos que albergan o servicios que ofrecen como a la aplicación de normas y procedimientos de calidad, grado de informatización, etc. Además, diferentes

países parecen seguir diferentes políticas en cuanto a la gestión de sus recursos en colecciones de cultivo. Así por ejemplo, en Francia, Bélgica o Reino Unido existen varias colecciones con diferentes especializaciones bajo el amparo de entidades públicas como son el «INRA», «BELSPO» o «Public Health England». En otros países, como Alemania, existe una única colección pública, la DSMZ, con una amplia oferta de microorganismos y servicios.

En España existen dos colecciones de microorganismos públicas, la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Valencia) que actualmente mantiene alrededor de 8.000 cepas incluyendo arqueas, bacterias, hongos filamentosos y levaduras, y el Banco Español de Algas (BEA, Gran Canaria) especializado en microalgas y cianobacterias. Además, existen otras colecciones de cultivos microbianos no públicas que albergan microorganismos procedentes de la actividad

ENCUESTA	A. ECCO-CC	B. NON-ECCO-CC	C. USER	D. INNOVATIVE SERVICES
Tasa de respuesta	80 %	Approx. 30 %	Desconocido	Desconocido
Tipos de encuestados por sector/ categoría	Colecciones que participan en MIRRI (34) Otras colecciones ECCO (26)	Gobierno (60) Universidad (57) Laboratorio Nacional de Referencia (13) Hospital (6) Laboratorio de Salud Pública (5) Empresa (3) Otros (14)	Público (875) Privado (271)	Público (572) Privado (293)
Cobertura Geográfica Los de fuera de Europa en cursiva	Francia (8) Bélgica (7) Reino Unido (6) Italia (4) Federación Rusa (4) República Checa (3) Alemania (3) Grecia (3) Portugal (3) Dinamarca (2) Finlandia (2) Polonia (2) <b>España (2)</b> Bulgaria (1) Estonia (1) Hungria (1) Letonia (1) Suecia (1) Suiza (1) Eslovaquia (1) Eslovenia (1) Holanda (1) Turquía (1)	<b>España (43)</b> Italia (27) Bélgica (14) Francia (11) República Checa (9) Alemania (9) Finlandia (8) Portugal (8) Grecia (7) Federación Rusa (4) Reino Unido (4) Letonia (3) Holanda (3) Eslovaquia (2) Suecia (2) Georgia (1) Hungria (1) Noruega (1) Eslovenia (1)	<b>España (256)</b> Alemania (129) Italia (86) Portugal (80) Francia (54) Reino Unido (52) Holanda (44) Bélgica (40) República Checa (31) Suiza (24) Suecia (20) Dinamarca (17) Federación Rusa (17) Austria (14) Irlanda (10) Finlandia (8) Hungria (7) Turquía (7) Noruega (6) Polonia (6) Grecia (5) Otros <sup>1</sup> (19) Asia (98) América del Norte (75) América del Sur (16) África (14) Australia y Oceanía (11)	<b>España (278)</b> Alemania (108) Italia (57) Holanda (30) Portugal (30) Bélgica (27) Suiza (27) Francia (31) Reino Unido (20) Dinamarca (17) República Checa (13) Grecia (13) Suecia (13) Austria (11) Finlandia (9) Polonia (9) Hungria (8) Bulgaria (7) Turquía (7) Irlanda (6) Otros <sup>1</sup> (36) Asia (57) América del Norte (29) América del Sur (22) África (11) Australia y Oceanía (7)

<sup>1</sup>Otros países europeos con menos de 5 encuestados.

Table 1. Respuesta global recibida a través de las cuatro encuestas diseñadas para MIRRI.



científica de grupos de investigación y que están ubicadas en centros y laboratorios del CSIC, INIA, universidades, así como en organismos o instituciones autonómicas (IVIA, IRTA, IFAPA, etc.). A través de la encuesta «**non-ECCO-CC questionnaire**», a la que contestaron 43 colecciones de investigación en España, sabemos que en su mayoría (34) albergan microorganismos de interés agroalimentario contabilizándose un total de 19.000 bacterias, 10.000 levaduras y algo más de 3.300 hongos filamentosos. Así mismo, existen colecciones con otros enfoques científicos, en las que se encuentran arqueas (6.200), bacterias (3.200), hongos filamentosos (45), microalgas (25) y virus (55).

A nivel europeo se han detectado colecciones no públicas que albergan organismos de difícil conservación como fitoplasmas, consorcios, viroides y virus de microalgas, lo que las hace muy valiosas para la comunidad científica por su singularidad. Sin embargo, estos recursos microbianos no se encuentran disponibles actualmente puesto que solo algunos laboratorios los suministran a terceros bajo deman-

da (40 %), los comparten sólo en el marco de proyectos de investigación en colaboración (36 %) o no los hacen accesibles en ningún caso (24 %). No obstante, alrededor del 75 % ha manifestado su interés en promocionar las cepas destacables a través de las colecciones de cultivos públicas y el 82 % en asociarse a redes como MIRRI para facilitar el acceso a sus colecciones de microorganismos.

La información recopilada mediante estas encuestas está siendo analizada para establecer el contenido de la infraestructura, los criterios de participación en la misma y las normas de funcionamiento. Estos aspectos serán desarrollados durante la segunda parte del proyecto en su fase preparatoria. A continuación, los países interesados en formar parte de MIRRI deberán firmar la adhesión a la infraestructura lo que llevará asociado un compromiso de aportación monetaria y/o en especies. Por este motivo resulta primordial que los microbiólogos españoles expresen su interés en la iniciativa participando activamente en el proyecto o colaborando puntualmente mediante la participación en las encuestas.

# Cursos de formación continua *on-line* de la SEM

## Cinco años de actividad



**Diego A. Moreno y Ana M. García**  
Coordinadores de los Cursos SEM *On-line*

### ANTECEDENTES

La SEM tiene entre sus objetivos «Contribuir a la educación microbiológica, a nivel formativo, interprofesional y de educación continuada, prestando atención especial

a la programación de cursos de especialización para postgraduados».

La creciente tendencia a la actualización continua del conocimiento hace que muchos microbiólogos y otros profesionales relacionados con la Microbiología sientan la necesidad de ampliar y perfeccionar su formación sin saber muy bien dónde dirigirse. La Junta Directiva de la SEM en mayo de 2009 decide, a propuesta de los profesores Diego A. Moreno y Ana M. García, iniciar esta labor formativa, que en otros campos se lleva a cabo habitualmente por los colegios profesionales.

De los diversos modelos de formación continua, la formación a distancia, conocida también como formación *on-line* o *e-learning*, es quizás la que mejor se adapta a las disponibilidades de estos profesionales. La enseñanza *on-line* permite que el participante complemente sus conocimientos en el horario más adecuado, compatible con su vida laboral y familiar. Para ello sólo necesita un ordenador y una conexión a internet. La documentación y demás recursos didácticos se encuentran alojados en un servidor al que se accede mediante una contraseña individualizada y al finalizar el curso, tras superar las pruebas de evaluación, el participante obtiene un certificado de aprovechamiento donde consta el número de créditos, el programa del curso y la calificación obtenida.

## OFERTA FORMATIVA

Hasta la fecha se han impartido los cursos que aparecen en la Tabla 1.

Para el próximo semestre está prevista la celebración de los cursos que figuran en la Tabla 2.

Todos los Cursos SEM Formación *on-line* son de 4 créditos ECTS. Un crédito ECTS equivale a unas 25-30 horas de trabajo académico del participante. Los cursos se imparten a través de la Plataforma Moodle. En la página web de la SEM se puede encontrar la Guía de cada Curso en la que se indica el profesorado, objetivos, temario, bibliografía, metodología, recomendaciones para el estudio, evalua-

ción y cronograma (<http://www.semicrobiologia.org/sec/formacion.php>).

## CURSOS DE CALIDAD

El principal objetivo de los Cursos de la SEM es contribuir a una formación específica de calidad. Por ello, se hace una selección de la oferta formativa relacionada con el contenido de los cursos y el profesorado. Los profesores de los Cursos SEM son profesionales y reconocidos expertos en cada una de sus áreas de conocimiento. Adicionalmente, en su primera edición, los Cursos SEM son seguidos por un evaluador externo que emite un informe sobre la calidad del Curso y los aspectos a mejorar.

También los alumnos realizan, al finalizar el curso, una encuesta de satisfacción. Los resultados de estas encuestas han sido bastante satisfactorios, obteniéndose una valoración por encima de 4 puntos (escala de 1 a 5) en aspectos como la organización, accesibilidad, calidad del material docente y satisfacción personal por haber participado en un Curso de la SEM a través de internet.

La SEM conserva el Acta de cada Curso impartido, en el que figuran los participantes y sus calificaciones numéricas y alfabéticas, firmadas por sus respectivos profesores.

Los participantes que superan los Cursos SEM Formación *on-line* reciben un certificado de aprovechamiento que se les envía por correo postal certificado. Estos certificados tienen un número de registro correlativo y están firmados por el Presidente de la SEM y los Coordinadores de los Cursos. Se lleva un archivo con el registro de todos los certificados emitidos.

## PATROCINADOR DE LOS CURSOS

La Empresa THOR Especialidades S.A. (<http://www.thor.com/>) patrocina desde 2012 las actividades de formación continua *on-line* de la SEM.

**El *e-learning* permite al participante complementar sus conocimientos en un horario compatible con su vida laboral y familiar**

TÍTULO DEL CURSO	PROFESORADO	FECHAS DE CELEBRACIÓN
Biodeterioro y Biodegradación de Materiales (Patrocinado por THOR Especialidades, S.A.)	Diego A. Moreno Ana M. García	Octubre-Diciembre (2010, 2011, 2012)
Biotecnología y Seguridad Microbiológica de los Alimentos	Mercedes Berlanga	Octubre-Diciembre (2010, 2011) Marzo-Mayo (2013, 2014)
Microbiología y Conservación de Cosméticos	Pilar Orús Sonia Leranoz	Marzo-Mayo (2011, 2012, 2013, 2014)
Técnicas Independientes de Cultivo en Microbiología de los Alimentos	Baltasar Mayo	Octubre-Diciembre (2013)

Tabla 1. Cursos SEM Formación *on-line* impartidos.

TÍTULO DEL CURSO	PROFESORADO
Biodeterioro y Biodegradación de Materiales (Patrocinado por THOR Especialidades, S.A.)	Diego A. Moreno Ana M. García
Técnicas Independientes de Cultivo en Microbiología de los Alimentos	Baltasar Mayo
Aplicaciones Biotecnológicas para la Prevención y Control de Virus Emergentes	Juan Carlos Saiz
Bioseguridad y Prevención de Riesgos Laborales en los Laboratorios de Microbiología	María Mazariegos

Tabla 2. Cursos SEM Formación on-line a impartir de Octubre a Diciembre de 2014.

TIPO DE MATRÍCULA	PRECIO*
Socios de la SEM	150€
Matrícula libre	250€
Miembros de sociedades con acuerdos con SEM Formación on-line	200€
Participantes Latinoamericanos	175€
Participantes Latinoamericanos socios de la ALAM	100€

\*Los Cursos SEM on-line están exentos de IVA.

Tabla 3. Precio de los Cursos SEM on-line.

## ACUERDOS DE COLABORACIÓN CON ASOCIACIONES CIENTÍFICAS Y PROFESIONALES

La oferta de Cursos SEM Formación on-line se hace llegar habitualmente a los socios de la SEM vía e-mail, a través de la web de la SEM, de NoticiaSEM y ocasionalmente de SEM@foro. No obstante, con la finalidad de contribuir a la difusión de los Cursos SEM Formación on-line se han establecido acuerdos con diversas sociedades científicas y asociaciones profesionales tales como AEFI (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria), SEQC (Sociedad Española de Químicos Cosméticos) y Stanpa (Asociación Nacional de Perfumería y Cosmética).

Los resultados de las encuestas de satisfacción realizadas por los alumnos han sido bastante satisfactorios

## PRECIO Y BECAS

El precio de los cursos ha permanecido invariable desde su inicio y oscila entre 250 € y 100 € según el tipo de matrícula, tal y como se recoge en la Tabla 3.

El precio incluye el acceso a la documentación del curso, la realización de los ejercicios y evaluaciones y el certificado de aprovechamiento correspondiente.

Los Cursos son **bonificables por la Fundación Tripartita**, si bien la gestión debe realizarla el interesado.

Asimismo, se otorgan un **10% de becas por rendimiento académico** consistentes en la devolución íntegra de la matrícula a aquellos alumnos que mejores resultados obtengan al finalizar el curso.

Hasta la fecha, 392 participantes se han beneficiado de la oferta formativa de los Cursos SEM on-line y se han concedido 40 becas. Aproximadamente el 10% de los participantes se hacen socios de la SEM.

## INFORMACIÓN Y CONTACTO

El plazo de matrícula se abre dos meses antes del inicio del curso. Para matricularse o recibir cualquier información acerca de los Cursos SEM Formación on-line, solo hay que enviar un correo electrónico a uno de los coordinadores:

- Ana M. García ([ana.garcia.ruiz@upm.es](mailto:ana.garcia.ruiz@upm.es))
- Diego A. Moreno ([diego.moreno@upm.es](mailto:diego.moreno@upm.es))



# Ambición, liderazgo y emoción

Juan Ayala

Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» CSIC-UAM.  
Secretario de la SEM

En un reciente artículo, Fernando Baquero, loando las virtudes del penúltimo premio Jaime Ferrán, que otorga la SEM a sus más jóvenes y destacados socios<sup>1</sup>, nos ilustra sobre las virtudes que deben presidir la condición de científico. En resumen, ambición, liderazgo y emoción. Todas ellas son cualidades, o quizás mejor dicho «calidades» como remarca el autor, que no siempre son bien entendidas en la sociedad en general y en la vida del investigador en particular. En primer lugar, ambición, pero ¿para qué? ¿Es buena la ambición? ¿En qué medida? Puede llegar a ser avaricia? De nuevo el autor nos ilumina con su gran destreza sobre lo que implica esa ambición, «hambre de saber, de hacer progresar, de arrastrar a otros a tu propio camino, de conseguir, de competir», que como podemos ver rápidamente no tiene ninguna de las acepciones que la gran mayoría entendería por ambición, como la define la Wikipedia (Del latín *ambitio*, *-ōnis*) es el deseo ardiente de poseer riquezas, fama, poder u honores. Otra de las peculiaridades de este término en la vida científica, que nos indica Fernando, es que debe ser «proporcional a las capacidades personales». ¿Qué difícil llevar a la práctica este silogismo! ¿Quién de los que llegó a estar en el ambiente científico no se considera con las mayores capacidades personales para conseguir los mayores logros? Y qué difícil es reconocer el lugar exacto donde estamos y hasta donde llegan nuestras capacidades. Yo suelo decir que «no hay mayor idiota que el que piensa que tener cinco dedos en cada mano es un logro personal». Y nuestro autor lo resume mucho más acertadamente: «Los imbéciles ambiciosos se sitúan ellos mismos en los más horrosos de los círculos infernales, porque tarde o temprano se darán cuenta de su propia estupidez». Así pues, ambición sí, pero en su justa medida y en sus justos términos.

La segunda «calidad» es liderazgo, y este término tiene su justa expresión en la dicción inglesa «group leader», pero no tan buena en la española «jefe de grupo». Ya que como de nuevo nos instruye Fernando, «la capacidad de construcción de grupo es en nuestros días una condición del éxito científico», y esto no es tarea fácil. ¿Por qué es tan difícil? Ser jefe es muy fácil, uno manda y los demás obedecen, pero jefe es una cosa y líder es otra. De nuevo Fernando nos indica el camino. «Hay que conjugar la excelencia personal frente a la de los demás y la humildad de nuestra absoluta necesidad de los que nos rodean». ¡Ahí está el secreto! Mostrar una gran humildad para que los que nos rodean puedan desarrollar sus propias y legítimas ambiciones, pero al mismo tiempo manteniendo una rela-

ción de amistad y afecto. Y todo ello con la mano firme que nos dicta la «ambición» y la «emoción».

Y llegamos a la tercera «calidad»: la emoción. Esta es la que a mí me parece la más innata de las cualidades de un científico. Las anteriores también valdrían para otros menesteres de la sociedad, pero esta es algo inherente e inseparable de la condición de científico. ¿Y qué es esa «emoción»? pues como dice Fernando, «temblar, casi (y yo diría sin casi) físicamente, ante una nueva idea, o frente a una observación inesperada y clarificadora», «poseer la inocencia de creer que podemos saber, hacer, enfrentarnos a la oscuridad con nuestra inteligencia y nuestra experiencia», y sobre todo «sentir la pulsión interna de que nada, ni nadie, conseguirá apartarnos de investigar ese hecho nuevo». No he podido evitar incluir literalmente estas referencias, porque difícilmente se podría relatar mejor. Eso es la «emoción». «La emoción de descubrir» que diría el cronista dando título a la biografía del fundador de nuestro centro «Severo Ochoa»<sup>2</sup>.

En este momento mercantilista que nos está tocando vivir, parece imposible que quede alguien en este país capaz de poseer las tres «calidades». Y en este contexto, vienen a cuanto las palabras del rey Juan Carlos pronunciadas en 1982 con motivo de la concesión a Severo Ochoa del Premio Ramón y Cajal del Ministerio de Educación y Ciencia. Tienen, en mi opinión, demasiado y, lo que es peor, no lo han perdido después de más de 30 años de ser pronunciadas.

«Con ello he querido dar testimonio de mi voluntad de amparar y promover la dedicación a las tareas de investigación, sea esta básica o aplicada, a sabiendas de que no habrá desarrollo sin avance en las ciencias y en las técnicas sin fomento de la investigación pura. Deseo también afirmar que al lado del impulso del Estado, tiene que estar también el aliento y la colaboración de la sociedad a través de fundaciones y empresas privadas (...) pero confío en que vuestra constante y creciente atención a estos quehaceres evite que los jóvenes y futuros investigadores tengan que trabajar en otras partes por no encontrar aquí los estímulos y recursos necesarios».

Así sea.

## REFERENCIAS

1. Baquero F. «Bruno González Zorn: semblanza» (2011) ActualidadSEM 52, p. 49
2. Gómez Santos M. «Severo Ochoa: la emoción de descubrir» (1993) Ed. Pirámide, ISBN 9788436807325.

# Piedra, papel o tijera



Víctor J. Cid

Departamento de Microbiología II. Universidad Complutense de Madrid.  
Director Editorial de SEM@foro

**D**urante los últimos meses los socios de la SEM hemos recibido y realizado una encuesta vinculante sobre nuestro deseo de recibir en **papel** las revistas de la Sociedad —la científica *International Microbiology* y ésta, *SEM@foro*, el boletín informativo-divulgativo de los socios— o, por el contrario, prescindir del envío físico en favor de un formato electrónico. La encuesta discernía entre ambas publicaciones por motivos obvios: las revistas científicas hoy día se consultan en formato pdf u *on-line* en un 99,9 % de los casos, mientras que la «hoja parroquial» de la Sociedad es un concepto distinto, más emparentado en su actual avatar con *Microbe (ASM)* y *Microbiology Today (SGM)* o, en nuestro entorno, la revista de la SEBBM, por ejemplo. De los 886 socios que acusásteis recibo de la encuesta, la mayoría os abstuvisteis de contestarla y tan solo 135 socios manifestasteis el deseo de recibir *SEM@foro* en vuestra casa o en el laboratorio. Para quienes trabajamos en haceros llegar una revista de calidad e interés, la primera en la frente. **Piedra.**

Esta encuesta surge de un debate recurrente en la Junta Directiva que gira sobre dos ejes: uno ecológico y otro económico. El ecológico es comprensible y es fácil adscribirse a tan razonable argumento. Imprimir 1800 ejemplares de una revista de 80 páginas con la calidad que estamos disfrutando supone unas 144.000 piezas de papel de suficiente calidad para imprimir en color a doble cara y, si bien en España ya reciclamos casi el 75 % del papel que consumimos, el planeta no está para esos trotes. Sin embargo, tengo la impresión de que lo que ha empujado a la SEM a tomar esta decisión es el contagio de la paranoia *austericida* que nos invade y que los investigadores y las universidades sufrimos tan dolorosamente en nuestro día a día. En el caso de nuestra revista, el ahorro puede ser

significativo tanto en el capítulo de reducción de la tirada en imprenta como en la distribución, en sellos de correos. **Tijera.**

Desde esta tribuna quiero volcar algunas reflexiones sobre el futuro de las publicaciones no científicas de la SEM, su función y su calidad. *SEM@foro* y *NoticiaSEM* pretenden ser un foro de divulgación para los socios de la SEM. En su formato virtual mensual, *NoticiaSEM* cubre de forma excelente esa faceta. La diferencia con la revista impresa es que *SEM@foro* cumple esa función también hacia fuera de la SEM. Los socios la reciben y la dejan en la hemeroteca de sus centros y departamentos, en la sala de seminarios, en la sala del café... De esta forma, ofrecemos una imagen atractiva de la Sociedad a posibles nuevos socios, jóvenes o colegas de disciplinas afines. La reducción de la tirada en papel puede disminuir significativamente este «escaparate» de la SEM. Puede darse el caso de que centros de investigación bandera en nuestro campo no reciban ningún ejemplar para su hemeroteca. Otra reflexión a la que conduce esta situación es que hay unos pocos socios que recibirán gratuitamente la revista frente a un grueso que no, a pesar de que todos pagamos la misma cuota. Alguien podría pensar con objetividad que hay socios de primera y socios de segunda, aun conscientes de que estos últimos lo son *motu proprio*.

También podemos encontrar algunos argumentos puramente emocionales o caprichosos, como los que puede aportar quien disfruta al encontrar —¡oh, sorpresa!— la revista de la SEM en su buzón y sentir el tacto del papel y el aroma de los pliegos recién impresos. También hay un argumento más frío, de justicia: puesto que pago mi cuota a la sociedad anual y religiosamente, la Sociedad me envía su revista, en la que se me informa directa o subliminalmente, de las ven-



tajas de pertenecer a una «comunidad microbiana» activa. El objeto físico proporciona una gratificante sensación de reciprocidad que el objeto virtual no puede emular.

Pero si realmente el papel es un medio obsoleto, ya tenemos un excelente boletín virtual mensual, NoticiaSEM. ¿Qué sentido tiene relegar al espacio virtual a una segunda? Si los tiempos exigen que la información ha de circular *on-line*, ¿no sería mejor trabajar en una página web más dinámica, en su adaptación para dispositivos móviles, en una mayor presencia de la SEM en las redes sociales u otras estrategias en esta línea? Tanto nuestro webmaster, Jordi Urmeneta, como nuestros *community managers* del grupo D+D SEM realizan una labor encomiable. No se les puede pedir más. Pero la SEM podría plantearse una inversión en estos ámbitos si le interesa actualizar la difusión de sus actividades.

Se nos ha preguntado y hemos elegido tijera. La tijera ha recortado el papel y, desde estas líneas, en calidad de editor y defensor a ultranza de SEM@foro, con estas reflexiones lanzo una piedra. A mi propio tejado, tal vez, pero con la esperanza de construir una revista mejor sobre esa piedra. En cualquier caso, aunque hay que adaptarse a los tiempos, creo firmemente que SEM@foro, antes Actualidad SEM y antes simplemente «el boletín» de la SEM, no es reemplazable por un objeto virtual, si bien su exposición pública en la web es necesaria y pertinente. También creo que son los socios los que deben demandar a la Sociedad lo que desean que ésta les aporte, quienes deben decidir, en definitiva, en qué debe utilizar la SEM sus recursos y qué quieren recibir a cambio de su cuota. Sea cual sea el formato, no dejéis de considerar este medio como el foro para la divulgación de vuestras actividades e ideas.

# Martha Trujillo, Presidenta Electa de BISMIS

Grupo de Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Informa: Antonio Ventosa (Presidente)

Nuestra compañera, la Dra. Martha Trujillo de la Universidad de Salamanca, ha sido recientemente elegida para el cargo de Presidenta Electa de la *Bergey's International Society for Microbial Systematics (BISMIS)*, en la reunión celebrada en Edimburgo, Reino Unido, cargo que ocupará durante el periodo 2014-2016, pasando posteriormente a desempeñar la Presidencia de dicha sociedad.

El proyecto BISMIS se remonta a los años 2006-2007 cuando los miembros del *Bergey's Manual Trust (BMT)* discutieron sobre la necesidad de crear una Sociedad especializada en Sistemática Microbiana. Los resultados de una encuesta realizada a nivel internacional y la presentación formal de la propuesta en el año 2008 durante el congreso de IUMS en Estambul, Turquía, sirvieron como plataforma para dar un paso adelante y los miembros del MBT, durante su reunión anual, votaron a favor de su creación.

Así, la Sociedad BISMIS se creó en el año 2009 con la idea de apoyar y promover la investigación en el área de la Sistemática Microbiana, además de ofrecer un foro internacional para facilitar la comunicación entre investigadores de esta indispensable, aunque muchas veces poco valorada disciplina.

En este sentido, uno de los objetivos planteados por BISMIS es trabajar y colaborar para describir, y sobre todo comprender la inmensa diversidad procariota (dominios *Archaea* y *Bacteria*), incluyendo su información genética, enzimática y su potencial biotecnológico, pues a pesar de todos nuestros esfuerzos es la reserva biológica más abundante pero menos conocida en la Tierra.

La sociedad mantiene dos publicaciones periódicas online, *The BISMIS Bulletin* y *The Microbial Taxonomist*. Todos los miembros de la sociedad reciben estas publicaciones y tras 6 meses están disponibles para todo el público en general a través de la página web de la Sociedad, <http://www.bismis.org/>. En la página web también está disponible toda la información de los congresos así como el procedimiento para ingresar como miembro de la Sociedad.

El congreso inaugural de BISMIS tuvo lugar en Beijing, China en mayo de 2011, con el tema «*Microbial Systematics: Concepts, Practices and Recent Advances*» reuniendo a más de 350 participantes. Durante el evento, además de la exposición de todos los aspectos relacionados con la sistemática microbiana y su relación con otras disciplinas



Figura 1. Martha Trujillo, profesora de la Universidad de Salamanca, pronto al frente de BISMIS.

se hizo la entrega del Premio Bergey a nuestro compañero Antonio Ventosa (como ya se publicó en SEM@foro numero 56). En esta primera reunión de BISMIS también se informó sobre los resultados de las votaciones para elegir a la junta directiva. En esa ocasión Brian Austin fue designado Presidente-Electo, Martha Trujillo asumió la Secretaría y Fred Rainey pasó a ocupar el cargo de Presidente. Por su parte Barney Whitman (University of Georgia) fue nombrado tesorero de BISMIS.

La segunda edición del congreso BISMIS tuvo lugar en Edimburgo, Escocia, durante los días 7 a 10 de abril de 2014, con el tema «*Defining Microbial Diversity in the Genomic Era*». Durante esos días los allí presentes abordaron los retos, ventajas y limitaciones de la aplicación de las tecnologías genómicas para avanzar en la descripción de la biodiversidad de procariotas y de su impacto en la definición del concepto de especie. En esta ocasión la conferencia inaugural «*The genomic encyclopedia of Bacteria and Archaea project and its use for microbial taxonomy*», corrió a cargo del Dr. Hans-Peter Klenk, del Leibniz Institute DSMZ (Alemania), quién recibió el Pre-



Figura 2. Miembros de BISMIS en su segundo congreso, celebrado este año en Edimburgo.

mio Bergey 2014. También se dedicó una sesión del congreso a la enseñanza de la Taxonomía de Procariotas: «*Microbial Systematics in the Classroom*» donde Paul Lawson de la Universidad de Oklahoma y Amanda Jones de Northumbria University ofrecieron una serie de propuestas muy motivadoras para abordar la enseñanza de esta disciplina en las aulas universitarias.

Durante la celebración de este segundo congreso de BISMIS Martha Trujillo fue elegida Presidenta Electa y colaborará estrechamente con el actual Presidente, Brian Austin, en la organización del próximo congreso que tendrá lugar del 12-15 de septiembre de 2016 en Pune, India.

Martha Trujillo es actualmente Profesora Titular de la Universidad de Salamanca y Vicedecana de Relaciones Institucionales y Estudiantes de la Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Realizó los estudios de Licenciatura en Farmacia en la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (México) y posteriormente se trasladó a Inglaterra para incorporarse al grupo de Michael Goodfellow en Newcastle University para llevar a cabo estudios de investigación en el área de sistemática de actinobacterias; obtuvo el Doctorado por dicha Universidad. Posteriormente realizó una estancia posdoctoral en Basilea, Suiza, en el Departamento de Microbiología de la empresa farmacéutica Novartis, A.G. En España, se incorporó al Instituto

Biomar S.A. (León) como responsable del laboratorio de hongos marinos a través del programa Incorporación de Doctores en Empresas (ahora Torres-Quevedo). En 2002 se incorporó a la Universidad de Salamanca, en la que actualmente sigue desempeñando sus tareas docentes, investigadoras y de gestión universitaria.

Ha publicado 90 trabajos relacionados con la taxonomía y la ecología de las actinobacterias endófitas, con especial énfasis en el género *Micromonospora* y su relación con plantas leguminosas.

Martha es Editora Asociada de las revistas científicas *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology* (2008-actualidad), *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (2009-actualidad) y *Plos ONE* (2012-actualidad). Especialmente relevante fue su participación como Editora Asociada del volumen 5 del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (publicado en 2012). Desde el año 2011 Martha es miembro de la fundación *Bergey's Manual Trust*, siendo la primera mujer invitada a formar parte de la misma. En la actualidad participa de manera muy activa en la próxima edición del nuevo *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*.

Enhorabuena a nuestra compañera Martha por su nombramiento, a quien le deseamos los mayores éxitos.



# Sociedad Científica Peruana de Microbiología (SOCPEMI)

Lic. TM José María Olivo López y Lic. TM María del Carmen Quispe Manco

La Sociedad Científica Peruana de Microbiología – SOCPEMI, es una Institución sin fines de lucro, dedicada a la difusión, promoción e investigación del conocimiento científico en torno al campo de la Microbiología.

La SOCPEMI se funda el 18 de Enero del año 2007, en la ciudad de Lima, con la misión de agrupar a los profesionales que se desempeñan en el campo de la Microbiología, fomentando la integración, capacitación y perfeccionamiento, así como promover el intercambio científico a nivel nacional e internacional con la finalidad de favorecer la investigación científica.

Bajo este contexto, desde su creación la Misión de la SOCPEMI es estandarizar criterios, procedimientos, capacitación, investigación y promoción de la Microbiología Clínica, en el campo asistencial en beneficio de la población peruana, con las últimas actualizaciones y nuevas normativas, nuestra preocupación de resolver algunas deficiencias a nivel logístico o de conocer los estándares a nivel mundial en los diversos campos.

Se realizan una serie de Cursos Nacionales e Internacionales en distintas áreas de la Microbiología y contando con la participación de destacados Ponentes nacionales e internacionales, referentes en sus respectivas áreas de trabajo; así también, se han elaborado una serie de Manuales de Procedimientos a fin de poder estandarizar criterios entre los profesionales que laboran en los laboratorios de Microbiología clínica.

## CURSOS ORGANIZADOS

Con la participación de Nuestros miembros honorarios Dr. Patricio Godoy de Chile y Dr. Agenor Mesías de Brasil investigadores de la Universidad Federal de São Paulo, con ellos se realizó en el año 2007 el «I Curso Internacional de Micología, teórico-práctico», siendo este el primer curso organizado por la Sociedad.

En el año 2008, dentro del IV Congreso Internacional y VII Congreso Peruano de Tecnología Médica, organizado por el Colegio de Tecnólogos Médicos del Perú se desarrolló el curso Teórico-Práctico: *Helicobacter*, *Campylobacter* y *Arcobacter*, teniendo como Ponente a nuestro Miembro Honorario por sus investigaciones Dr. Heriberto Fernández del Instituto de Microbiología Clínica Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, actualizándonos en procedi-



Figura 1. Dres. Agenor Mesías y Patricio Godoy, durante el I Curso Internacional de Micología, teórico-práctico, organizado por la Sociedad Científica Peruana de Microbiología.

mientos de cultivo y detección de agentes causantes de diarrea, un problema importante en nuestro país.

Conscientes del problema que representa la Resistencia Bacteriana en nuestro país, la sociedad organizó en el 2008 «I Curso Internacional de Resistencia Bacteriana: Mecanismos y Detección», con el principal objetivo de brindar a los participantes las herramientas necesarias para afrontar con éxito las dificultades que implican el manejo de bacterias que expresan diversos mecanismos de resistencia.

En el año 2009 se realiza el «I Curso de Actualización en Microbiología» que tuvo como objetivo dar información sobre la aparición, la prevención y el control de enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes; sobre los últimos avances en vacunas, parásitos, el uso racional de los antimicrobianos y conocer los avances en técnicas inmunológicas y de biología molecular aplicadas al diagnóstico de las enfermedades infecciosas.

La primera experiencia fue muy valiosa y nos sirvió de apoyo para en el año 2012 organizar el «II Curso Internacional de Resistencia Bacteriana» y «XXVI Curso Latinoamericano de Actualización en Antimicrobianos», contando en esta oportunidad con la destacada participación de la Dra. Alejandra Corso y el Dr. Fernando Pasterán del Instituto Nacional de Enfermedades infecciosas «Dr. Carlos G. Malbrán» de Argentina. Curso en el cual participaron profesionales de la capital y de distintas provincias del interior del país y que sirvió para proporcionar a los participantes de los laboratorios de las Instituciones de salud, una revisión y actualización

de la detección fenotípica de los diferentes mecanismos de resistencia bacteriana y de la Vigilancia de la resistencia.



**Figura 2.** Miembros de la Junta Directiva de SOCPEMI junto a la Dra. Alejandra Corso y al Dr. Fernando Pasterán durante el «II Curso Internacional de Resistencia Bacteriana», organizado por la Sociedad Científica Peruana de Microbiología.



**Figura 3.** Dra. Alejandra Corso y Dr. Fernando Pasterán durante el taller del «II Curso Internacional de Resistencia Bacteriana».

Deseosos de actualizar y profundizar los conocimientos en torno al problema de la Resistencia en nuestro país es que este año 2014 (10, 11 y 12 de Junio), la Sociedad Científica Peruana de Microbiología está organizando el «III Curso Internacional de Resistencia Bacteriana» contando, al igual que en el año 2012, con la valiosa participación de la Dra. Corso y el Dr. Pasterán, y para lo cual hacemos extensiva la invitación a todos los Profesionales a acompañarnos en este importante Evento.

## DOCUMENTOS ELABORADOS

Con la finalidad de establecer Documentos que sirvan para homogenizar los Procedimientos Microbiológicos así también como los criterios de interpretación, la Sociedad creó en el año 2011 el Comité de Elaboración de Manuales Estandarizados en Microbiología – CEMMIC. Durante este tiempo se elaboraron los siguientes documentos:

**Manual de Procedimientos para el cultivo de orina – urocultivo.** Siendo iniciativa de la Sociedad Científica Peruana de Microbiología, la de iniciar la estandarización de documentos como uso o consulta por parte de los que laboramos en los laboratorios de microbiología de centros asistenciales de nuestro país. Dicho Manual se presentó en el «I Curso Manual de Procedimientos de Microbiología: Urocultivo» desarrollado en el año 2012.

**Un segundo documento elaborado por SOCPEMI ha sido el Manual de Procedimientos para la detección fenotípica de carbapenemasas** en el laboratorio de Microbiología como consecuencia del creciente problema de la resistencia a los antimicrobianos que en los últimos años ha sobrepasado la barrera nosocomial para afectar también a pacientes no hospitalizados, preocupación de la SOCPEMI para la detección temprana de este perfil de resistencia, importante a nivel latinoamericano y en el mundo que va en aumento, detectándose en el Perú por primera vez este año 2014.

## MIEMBROS HONORARIOS DE LA SOCPEMI

Miembros Honorarios Internacionales:

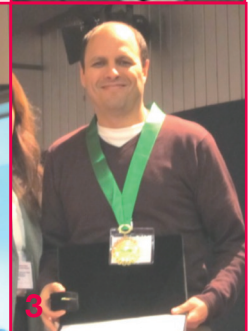
- Dr. Agenor Mesias (Brasil).
- Dr. Patricio Godoy (Chile).
- Dr. Heriberto Fernandez (Chile).
- Dra. Alejandra Corso (Argentina).
- Dr. Fernando Pasterán (Argentina).

Miembros Honorarios Nacionales:

- Dr. Rito Zerpa Larrauri.
- Dr. Alfredo Guillén Oneeglio

### Miembros Honoríficos de SOCPEMI.

1. Dr. Heriberto Fernández (Chile);
2. La Presidenta María del Carmen Quispe Manco otorga la mención a la Dra. Alejandra Corso (Argentina);
3. Dr. Fernando Pasterán (Argentina);
4. El anterior Presidente, Lic. Johnny Lucho Amado, otorga el título al Dr. Rito Zerpa Larrauri;
5. Dr. Alfredo Guillén Oneeglio.





## XII WORKSHOP

# «Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria»

[www.jornades.uab.cat/workshopmrama](http://www.jornades.uab.cat/workshopmrama)

Del 26 al 29 de noviembre de 2013, tuvo lugar el XII *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 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 20.000 alumnos y director de 120 estudiantes graduados (35 doctorados y 85 másteres); el Premio al Servicio Distinguido de la *Chinese American Microbiology Society* en 2009, por sus excepcionales funciones como presidente, tesorero y secretario (2000-2009); y el Premio de la Seguridad Alimentaria de la *International Association for Food Protection* (IAFP) en 2012, por la serie única de *workshops* en la KSU. 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 los temas 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 encargaron de la ponencia inaugural la **Sra. Corrie Allaert Vandevenne**, de CREOLIA Ltd, en Montpellier (Francia), y la **Dra. Cécile Lahellec**, directora honoraria de investigación de la *Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments* (AFSSA), en Alfort (Francia), que narraron diversas historias



## El XIII workshop MRAMA se celebrará del 25 al 28 de noviembre de 2014

sobre las sinergias humanas en la evolución de la microbiología. El **Dr. Armand Sánchez Bonastre**, director del Servicio Veterinario de Genética Molecular de la UAB y profesor de nuestro Departamento, transmitió a los asistentes sus amplios conocimientos sobre la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), método genético, en constante evolución, para detectar e identificar microorganismos. La **Sra. Montse Vila Brugalla**, del Servicio de Control alimentario de mercados centrales de la Agencia de Salud Pública de Barcelona, informó exhaustivamente sobre un patógeno de importancia como es *Listeria monocytogenes* y su presencia en comidas preparadas. El **Sr. Thibaut Mercey**, de *Prestodiag SAS*, en París (Francia), participó con una interesante ponencia sobre un método innovador para detectar e identificar rápidamente múltiples bacterias patógenas en muestras complejas. El **Sr. Jon Basagoiti Azpitarte**, consultor y auditor de *Imaging Management Systems SLU*, en Ermua, explicó su experiencia en gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos, e hizo especial hincapié en el microbioma de la empresa y su efecto en el producto. La **Dra. Noelia Sagarazu Grau**, del Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), en San Adrián, expuso la aplicación de la cromatografía líquida desnaturalizante de alta resolución (DHPLC) para la detección y el seguimiento de bacterias viables no cultivables. Y el **Sr. David Tomás Fornés**, responsable del laboratorio de Microbiología y Biología molecular de ainia. centro tecnológico, en Paterna, habló sobre normalización en microbiología de los alimentos, en general, y la actualización y las próximas normas ISO, en particular. También se presentaron las claves para acreditar una técnica de PCR, con el caso práctico de *Salmonella* spp. en leche y productos lácteos.

Además, asistieron importantes **empresas de microbiología**, que explicaron y mostraron sus productos y sus servicios (funcionamiento, ventajas y limitaciones, y técnicas en que se basan). Estas empresas, que patrocinaron el XII *workshop* MRAMA, fueron: 3M España S.A., Becton Dickinson GmbH (Alemania), bioMérieux España S.A., Bioser S.A., Biotecon Diagnostics GmbH (Alemania), Itram Higiene S.L., IUL S.A., Life Technologies S.A., Merck Millipore (división de Merck KgaA), MicroPlanet Laboratorios S.L., Nirco S.L. (parte de Grupo Deltalab), Oxoid S.A. (parte de Thermo Fisher Scientific Inc), Pall GeneDisc Technologies (Francia, parte de Pall Corporation), Promega Biotech Ibérica S.L., Scharlab S.L., y Sigma-Aldrich Química S.A.

También colaboran con el *workshop* MRAMA: Tiselab SL, la *Associació Catalana de Ciències de l'Alimentació* (ACCA), EyP S.A. – Revista *Alimentaria* (publicación oficial del *workshop*), Publica S.L. – Revista *Técnicas de Laboratorio*, Estrategias Alimentarias S.L. – Revista *Eurocarne*, la Sociedad Española de Microbiología (SEM), la Asociación de Consultores y Formadores de España en Seguridad Alimentaria (ACOFESAL), la Sociedad Española de Seguridad Alimentaria (SESAL), la Agencia de Salud Pública de Barcelona, la Sociedad Española de Químicos Cosméticos (SECC), y Redinnova Consulting S.L.

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 216 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, comidas preparadas, panificación y bollería, *chips*, *snacks* y frutos secos, bebidas analcohólicas —aguas, zumos de frutas, bebidas refrescantes— y alcohólicas —cervecero, cava—, alimentación ecológica, alimentación animal, ingredientes y aditivos, preparados alimenticios, envasado), biotecnológico, farmacéutico, productos para limpieza y desinfección, etc.

Profesores y estudiantes de la UAB (titulaciones de Ciencia y tecnología de los alimentos, Veterinaria, Microbiología; tercer ciclo; Departamentos de Ciencia animal y de los alimentos, Sanidad y anatomía animales, Farmacología, terapéutica y toxicología, Genética y microbiología, Química) y otros centros, como la *Universitat de Barcelona*, la *Universitat Ramon Llull* (Barcelona), la *Universitat de Lleida*, la Universidad de Castilla-La Mancha (Ciudad Real), el centro de enseñanza superior *Lea Artibai Ikastetxea SCOP* (Markina-Xemein), la *University of Plymouth* (Reino Unido), y la *Dokuz Eylül University* (İnciraltı-İzmir, Turquía).

Otros centros de investigación: *Institut de Microelectrònica de Barcelona-Centre Nacional de Microelectrònica* (IMB-CNM; Cerdanyola del Vallès), del CSIC; *Institut de Bioenginyeria de Catalunya* (Barcelona); y ainia.centro tecnológico.

Administración: *Laboratori Agroalimentari de Cabrils*; *Laboratori Municipal de Palma* (Palma de Mallorca); *Zentraler Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel* (Instituto Central del Servicio Médico del Ejército; Kronshagen, Alemania); *Kenya Bureau of Standards* (Nairobi, Kenia); *China National Center for Food Safety Risk Assessment* (CFSA; Pekín, China); e Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) – ANLIS «Dr Carlos G Malbrán» (Buenos Aires, Argentina).

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; (ii) No conformidades típicas en las auditorías de seguridad alimentaria (IFS, BRC y FSSC22000), a cargo de SGS ICS Ibérica SA; (iii) Detección de alérgenos y cuantificación de micotoxinas y organismos modificados genéticamente (OMGs), por inmunodifusión lateral, a cargo de Bioser SA con colaboración de Romer Labs Diagnostic GmbH (Austria).

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 Rodríguez Jerez**. 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 relevancia de la automatización en el laboratorio; la importancia y la exigencia de verificar internamente el 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.

# Por fin una auténtica bacteria halófila moderada

## *Spiribacter salinus*

Antonio Ventosa

Universidad de Sevilla

Presidente del Grupo de Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Las salinas marinas constituyen excelentes modelos para el estudio de los microorganismos halófilos ya que están constituidas por una serie de estanques que presentan un gradiente de salinidad, desde la correspondiente a la del agua de mar hasta la saturación de sales. Teniendo en cuenta lo abundantes que son las salinas en nuestras costas, con una enorme importancia histórica y comercial para la producción de sal común, no es de extrañar que muchos microbiólogos españoles hayamos dedicado nuestra atención al estudio de la microbiota de las mismas y a diferentes aspectos tanto de investigación básica como aplicada de los microorganismos que las habitan, especialmente las bacterias y arqueas halófilas y más recientemente los virus.

Como en otros muchos campos científicos, tratamos de clasificar a los diferentes organismos en categorías. En éste caso la clasificación se basa en las diferentes relaciones de los microorganismos con respecto a la sal; tradicionalmente se han utilizado varios criterios, como es el rango salino, si bien uno muy ampliamente utilizado por la comunidad científica se basa en la respuesta de los microorganismos (cultivos puros) frente al NaCl con respecto al crecimiento óptimo de los mismos en condiciones determinadas experimentalmente en el laboratorio. Esta clasificación se debe a Donn J. Kushner, científico canadiense a quien podemos considerar como el padre de la microbiología de los ambientes hipersalinos, por sus estudios pioneros en este campo, que tuvo una gran influencia en muchos de nosotros cuando nos iniciamos como jóvenes investigadores en el estudio de los microorganismos halófilos. En gran medida, su criterio de clasificación ha perdurado en el tiempo gracias a nuestro empeño y difusión de sus ideas.

En concreto, en dos de sus ya clásicos artículos de revisión (Kushner, 1978; Kushner y Kamekura, 1988) clasificaba a los microorganismos como «halófilos débiles», si crecen mejor en medios conteniendo entre 0,2 y 0,5 M NaCl, «halófilos moderados» si crecen mejor en medios conteniendo de 0,5 a 2,5 M NaCl y «halófilos extremos», cuando crecen mejor en medios conteniendo entre 2,5 a 5,2 M (saturación) NaCl. Además indicaba otras dos categorías: los microorga-

nismos «no halófilos», que crecen mejor en medios conteniendo menos de 0,2 M NaCl y los «halotolerantes», que no requieren NaCl en una cantidad sustancial pero que pueden tolerar altas concentraciones salinas. Esta clasificación sigue siendo ampliamente utilizada por la mayoría de los microbiólogos que nos dedicamos a estos estudios y con frecuencia forma parte de la introducción de artículos científicos, Tesis Doctorales, conferencias, etc... No obstante, el conocimiento más detallado de los ambientes hipersalinos y de los microorganismos halófilos que los habitan hace cada vez más difícil encuadrar a algunos de los nuevos aislados que obtenemos de los ambientes salinos en alguna de las citadas categorías. Por otra parte, la clasificación indica que las diferentes categorías se basan en el crecimiento óptimo en medios (de laboratorio) de la especie u organismo en cuestión, pero no tiene en cuenta la posible respuesta del microorganismo en el propio ambiente natural en el que se encuentra o a partir del cual se aisló.

Por otro lado, esta clasificación encajaba muy bien en la idea de que los microorganismos presentes en los ambientes hipersalinos eran tanto bacterias como arqueas (haloarqueas) que se encuadraban en las categorías de halófilas moderadas y halófilas extremas, respectivamente. Sin embargo, en el transcurso de los años y con el avance de los conocimientos hemos visto cómo muchas de las haloarqueas crecen de forma óptima a concentraciones de NaCl inferiores a las descritas inicialmente para los halófilos extremos y podrían encajar en la categoría de microorganismos halófilos moderados y por otro lado, se han aislado y estudiado un número significativo de bacterias que crecen óptimamente en el rango descrito para los microorganismos halófilos extremos, entre ellas *Salinibacter ruber*, una bacteria perteneciente al phylum *Bacteroidetes* que junto con la haloarquea *Haloquadratum walsbyi* constituyen la mayor parte de la microbiota de los estanques cristalizadores de las salinas, a cuyas aguas les imparten un color rojo-rosa característico debido a su pigmentación y a la elevada densidad celular de las mismas.

Una de las salinas que ha sido objeto de numerosos estudios microbiológicos, posiblemente el ambiente

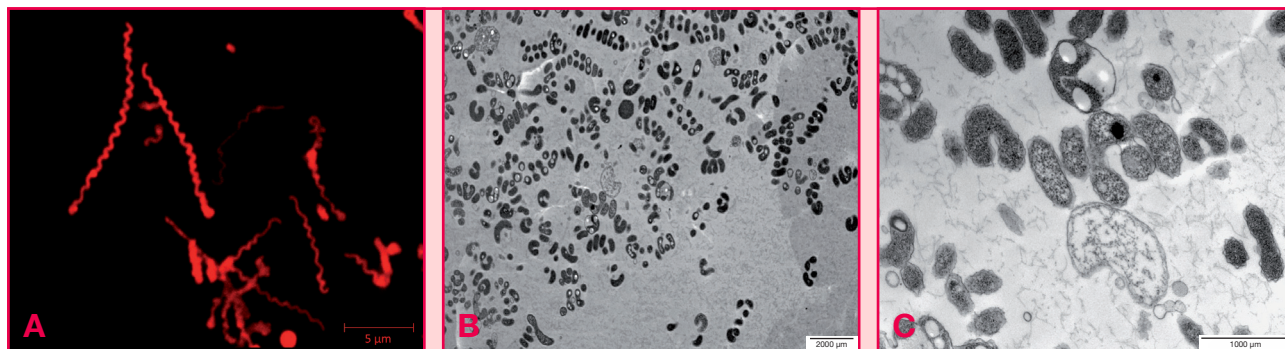
hipersalino mejor conocido de nuestro planeta, en el cual muchos de nosotros hemos realizado nuestros estudios de Tesis Doctoral y en algunos casos hemos venido investigando durante más de 30 años, son las salinas «Bras del Port» de Santa Pola, en la provincia de Alicante. Allí realizó sus estudios (pioneros) de Tesis Doctoral nuestro compañero el Prof. Francisco Rodríguez Valera, con quien comparto una gran amistad y a quien tanto admiro y reconozco, entre los años 1974-1978, que tuvieron una continuación en mis estudios de doctorado desde 1977 a 1981. Posteriormente son muchos investigadores los que han venido estudiando este ambiente, utilizando las diversas metodologías al uso en cada momento, basadas inicialmente en técnicas dependientes de cultivo y posteriormente en técnicas moleculares independientes de cultivo. Durante los últimos años nuestro grupo de investigación ha venido realizando, en colaboración con el del Dr. Rodríguez Valera (Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante), estudios basados en una aproximación metagenómica de diversos estanques de la citada salina de Santa Pola y más recientemente de una salina de Isla Cristina, en Huelva. Estos estudios nos han permitido conocer con detalle la diversidad tanto taxonómica como metabólica de la comunidad procariótica de una serie de estanques intermedios (con salinidades del 13, 19, 21 y 33 % de sales totales) denominados concentradores, así como de un cristizador con una concentración de sales del 37 %.

A pesar de los extensos estudios realizados en estos ambientes salinos durante tantos años, los resultados obtenidos hasta la fecha mediante una aproximación metagenómica han proporcionado un gran número de sorpresas, si bien han permitido corroborar otras investigaciones realizadas anteriormente. La microbiota de los estanques cristalizadores está constituida de forma mayoritaria por haloarqueas, fundamentalmente la bien conocida y no hace mucho tiempo aislada en cultivo puro haloarquea cuadrada *Haloquadratum walsbyi* y la bacteria halófila extrema *Salinibacter ruber*. No obstante, hemos determinado la presencia de forma más o menos abundante de otros grupos microbianos no aislados hasta la fecha, como la nanohaloarquea «*Candidatus Haloredivivus*» (Ghai y col., 2011). Es necesario, por tanto ponerse de nuevo a la caza de estos microbios no detectados anteriormente y a su aislamiento y caracterización. A diferencia de los cristalizadores, en los que tanto representantes de *Euryarchaeota* como *Bacteroidetes* son los grupos predominantes, en los estanques de salinidad intermedia estudiados hemos observado una gran diversidad, constituida fundamentalmente por representantes de siete phyla o clases diferentes, con un predominio de *Euryarchaeota*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucobacteria*, etc. y muy escasa representación de grupos que se aíslan muy frecuentemente de estos ambientes, como los pertenecientes al phylum *Firmicutes* (Fernández y col., 2014a, 2014b).

Los análisis detallados de las bases de datos metagenómicas nos han permitido realizar el ensamblaje de contigs y determinar con mayor detalle las característi-

cas de los microorganismos más abundantes en dichos ambientes salinos. Así, observamos entre otros, un grupo de gammaproteobacterias muy abundante en estanques con salinidades intermedias (que estimamos puede llegar a constituir hasta el 15 % del total de la microbiota de los mismos), relacionado filogenéticamente, aunque de forma remota, con especies de los géneros *Alkalilimnicola*, *Arhodomonas* y *Nitrococcus* y que no había sido aislado en cultivo puro anteriormente. Los estudios metagenómicos han sido fundamentales para poner de manifiesto su abundancia y diseñar medios y condiciones de cultivo que posibilitaran el aislamiento, no sin cierta dosis de paciencia y trabajo intenso, por parte de mi colaboradora María José León. A partir de agua de un estanque de la salina de Isla Cristina aisló una cepa, denominada M19-40, que constituye un nuevo género y especie de la familia *Ectothiorhodospiraceae*, a la que hemos denominado *Spiribacter salinus* (León y col., 2014), teniendo en cuenta su peculiar morfología celular en espiral y su crecimiento óptimo al 10-15 % NaCl. También sabemos que este nuevo «grupo» de bacterias halófilas no está supeditado a una única especie, pues el grupo de los Dres. Copa-Patiño y Soliveri (Universidad de Alcalá de Henares) han aislado a partir de la salina de Santa Pola otra cepa que constituye una segunda especie de éste género y actualmente estamos estudiando otra serie de aislados recientes relacionados con este nuevo grupo bacteriano.

Sin duda alguna la nueva bacteria halófila *Spiribacter salinus* constituye un excelente modelo para el estudio de los microorganismos halófilos, ya que se trata de una bacteria muy abundante en los ambientes naturales y posee una serie de características peculiares diferentes a las que presentan otras bacterias que de forma clásica se han venido utilizando como organismos modelo, como representantes de los géneros *Halomonas*, *Chromohalobacter* o *Halobacillus*, entre otros. Recientemente hemos secuenciado el genoma de *Spiribacter salinus* (León y col., 2013) y el análisis del mismo (López-Pérez y col., 2013) nos ha permitido determinar que se trata de un microorganismo muy bien adaptado a los ambientes salinos, con una estrategia «salt-out» y una osmorregulación basada en el transporte y/o acumulación de solutos compatibles. El genoma consiste en un único replicón, con un tamaño de 1,7 Mbp, siendo el genoma más pequeño de los descritos para especies de la familia *Ectothiorhodospiraceae* y entre las bacterias halófilas. Posee un único operón rRNA, siendo un genoma muy simplificado, con un valor promedio de espacio intergénico de 14-19 nucleótidos. *Spiribacter salinus* posee una versatilidad metabólica muy reducida, un metabolismo heterótrofo y otras características típicas de los microorganismos oligotrofos planctónicos que poseen genomas sencillos y que alcanzan elevadas densidades celulares en ambientes acuáticos, como es el caso de *Candidatus Pelagibacter* en aguas de origen oceánico (López-Pérez y col., 2013). La morfología de esta nueva bacteria es asimismo un tanto peculiar, observándose en cultivos puros jóvenes células curvadas pequeñas, con una tendencia a la formación de largas células con morfología



**Figura 1.** Microfotografías mostrando la morfología celular de *Spiribacter salinus*. A. Microscopía confocal. B y C. Microscopía electrónica de transmisión (María José León, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa).

espiral en cultivos en fase estacionaria (Figura 1). Algunas espirales están rodeadas de una envoltura externa que recuerda los «rotund bodies» descritos para *Thermus* y algunas bacterias marinas (si bien en estos casos se observan varias células rodeadas de dichas envolturas y en el caso de *Spiribacter* se trata de una única célula) (León y col., 2014). Por ahora desconocemos la función de dichas estructuras, que hemos observado en condiciones de laboratorio, si se producen también en condiciones medioambientales y si tienen alguna relación con el carácter oligotrofo de este microorganismo.

Comenzaba este breve artículo indicando que la clasificación de los microorganismos halófilos en las diferentes categorías se ha venido realizando en base al crecimiento óptimo de los mismos en condiciones de laboratorio. Sin embargo, no existen estudios concluyentes que indiquen que las denominadas «bacterias halófilas moderadas» en realidad crezcan y se encuentren adaptadas a los ambientes naturales en el rango salino que se ha determinado en las condiciones de laboratorio y de hecho, muchas de las bacterias que se aíslan más frecuentemente en los medios de laboratorio no constituyen una proporción significativa de dichos ambientes acuáticos salinos; de hecho, posiblemente su hábitat natural sea el medio marino (en el cual también existen zonas de elevadas salinidades), de donde proviene el agua que alimenta a los estanques de las salinas. Pues bien, los estudios de reclutamiento, es decir de comparación del genoma de *Spiribacter salinus* con las secuencias de los metagenomas obtenidos a partir del agua de los estanques estudiados han permitido determinar que dicha bacteria es muy abundante en estanques con salinidades comprendidas entre el 13 y 21 % de sales totales. Sin embargo, se encuentra prácticamente ausente en estanques con elevadas salinidades (33-37 % de sales), así como en ambientes de baja salinidad y en aguas marinas (León y col., 2014). Algunos colegas han venido manifestando a lo largo de los años su desconfianza acerca de la existencia de las denominadas «bacterias halófilas moderadas» y consideraban que se podría tratar de un artefacto, que en realidad eran bacterias posiblemente de origen marino que se aislaban con facilidad en medios de laboratorio cuando se muestreaban ambientes hipersalinos. Estos estudios recientes demuestran que al menos en el caso de *Spiribacter salinus* podemos

hablar de una auténtica bacteria halófila moderada definida «ecológicamente», que se encuentra de forma abundante y posiblemente muy bien adaptada a las condiciones de salinidad intermedia de los estanques de las salinas. Tal vez sea el momento de reconsiderar la clásica clasificación basada en el crecimiento óptimo en el laboratorio y reemplazarla por una clasificación basada en la distribución ecológica, en los diferentes ambientes en los que habitan. Está claro que a pesar de los numerosos estudios realizados durante los pasados 35 años, son todavía muchos los misterios que quedan por descifrar y las sorpresas que nos depararán las salinas de Santa Pola y otros ambientes hipersalinos.

## REFERENCIAS

- Fernández AB, Ghai R, Martín-Cuadrado A-B, Sánchez-Porro C, Rodríguez-Valera F, Ventosa A. (2014a). Prokaryotic taxonomic and metabolic diversity of an intermediate salinity hypersaline habitat assessed by metagenomics. *FEMS Microbiol Ecol* 88: 623-635.
- Fernández AB, Vera-Gargallo B, Sánchez-Porro C, Ghai R, Papke RT, Rodríguez-Valera F, Ventosa A. (2014b). Comparison of prokaryotic community structure from Mediterranean and Atlantic saltern concentrator ponds by a metagenomic approach. *Front Microbiol* 5: 196.
- Ghai R, Pašić L, Fernández AB, Martín-Cuadrado AB, Mizuno CM, McMahon KD, Papke RT, Stepanauskas R, Rodríguez-Brito B, Rohwer F, Sánchez-Porro C, Ventosa A, Rodríguez-Valera F. (2011). New abundant microbial groups in aquatic hypersaline environments. *Sci Rep* 1: 135.
- Kushner DJ. (1978). Life in high salt and solute concentrations: halophilic bacteria. In: *Microbial Life in Extreme Environments*, D. J. Kushner (Ed.), p. 318. Academic Press, London.
- Kushner DJ, Kamekura M. (1988). Physiology of halophilic eubacteria. In: *Halophilic Bacteria*, vol. 1, F. Rodríguez-Valera (Ed.), pp. 109-138. CRC Press, Boca Raton.
- León MJ, Fernández AB, Ghai R, Sánchez-Porro C, Rodríguez-Valera F, Ventosa A. (2014). From metagenomics to pure culture: isolation and characterization of the moderately halophilic bacterium *Spiribacter salinus* gen. nov., sp. nov. *Appl Environ Microbiol* (in press).
- Leon MJ, Ghai R, Fernandez AB, Sanchez-Porro C, Rodriguez-Valera F, Ventosa A. (2013). Draft genome of *Spiribacter salinus* M19-40, an abundant gammaproteobacterium in aquatic hypersaline environments. *Genome Announc* 1: e00179-12.
- López-Pérez M, Ghai R, Leon MJ, Rodríguez-Olmos A, Copa-Patiño JL, Soliveri J, Sanchez-Porro C, Ventosa A, Rodríguez-Valera F. (2013). Genomes of «*Spiribacter*», a streamlined, successful halophilic bacterium. *BMC Genomics* 14: 787.

# Microbiomas y Probióticos

## Dos caras de la misma moneda

Daniel Ramón Vidal

Biópolis S.L.



Daniel Ramón Vidal

**E**l consumo de alimentos funcionales, los que inciden de algún modo en la salud del consumidor, crece actualmente por encima del 10 % de la tasa de crecimiento anual compuesto en Australia, Estados Unidos, Japón y la UE. De entre todos los alimentos funcionales, los que contienen probióticos son el mayor porcentaje de productos. Sólo en el año 2013 aparecieron en el mercado mundial 500 nuevos productos para la alimentación que contenían probióticos. Pero no sólo se venden en el mercado alimentario. Su uso como suplemento nutricional en forma de cápsulas está cada día más extendido, sobre todo en Canadá y Estados Unidos. Como indicativo cabe citar que la cifra mundial de ventas de este tipo de microorganismos se situó el año pasado en torno a los 18600 millones de euros y se espera que en el año 2018 supere los 32000 millones. Son, sin duda, los microorganismos más comercializados. Pero lo más importante es que, amparándose en los datos de secuenciación genómica masiva que nos han permitido establecer relaciones claras entre determinadas composiciones de microbiomas y patologías, cada día son más las voces que hablan de un futuro uso de los probióticos como fármacos. De hecho, ya han aparecido en el mercado los primeros *medical devices* que contienen probióticos.

**E**s licenciado y doctor en Ciencias Biológicas por la Universitat de València. Realizó estancias post-doctorales en la Sección de Microorganismos Industriales del Departamento de Genética de la Universidad de Agricultura de Wageningen (Holanda). Fue Catedrático de Tecnología de los Alimentos de la Universitat de València y Profesor de Investigación en el Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

En la actualidad es Director Científico y Consejero Delegado de la empresa biotecnológica Biópolis SL y de la empresa Lifesequencing SL, una participada de Biópolis SL que se dedica a la secuenciación genómica masiva. Sus resultados tecnológicos están protegidos por más de cuarenta patentes nacionales e internacionales, la mayoría de ellas transferidas y en uso. Ha publicado 125 artículos en revistas internacionales de prestigio. Ha obtenido el Premio de la Sociedad Española de Microbiología, el Premio a la Trayectoria Científica del Instituto Danone, el Premio Europeo de Divulgación Científica, el Premio Nacional de Investigación Juan de la Cierva, el Premio Internacional Hipócrates y la Medalla de Fomento de la Invención de la Fundación García Cabrerizo.

### EL MICROBIOMA HUMANO

El primer borrador del genoma humano se publicó en el año 2001. Se logró gracias al esfuerzo de centenares de científicos trabajando durante diez años y 3000 millones de dólares. Desde entonces la tecnología de secuenciación ha avanzado de forma rápida y hoy en día es posible secuenciar un genoma humano de forma mucho más fiable, en apenas unas semanas y por unos pocos miles de dólares. La razón de este avance no es otra que el desarrollo de varias plataformas de secuenciación genómica masiva que permiten multiplicar por varios órdenes de magnitud la cantidad de DNA secuenciado. Su aplicación no sólo afecta a nuestros genomas: desde el punto de vista microbiológico permite secuenciar rápidamente el genoma de cualquier microorganismo y, lo que es más fascinante, secuenciar todo el DNA microbiano de una muestra determinada e infe-

rir a partir de los datos de secuencia qué especies microbianas y en qué cantidad estaban en la muestra original<sup>1</sup>. A esto lo llamamos microbioma, un concepto previamente establecido por el genio de Joshua Lederberg.

Desde que se empezaron a utilizar estas tecnologías se han secuenciado centenares de microbiomas. Cuando escribo estas líneas, la página web de *Genomes Online Database* (GOLD) habla de 509 proyectos de estas características ya finalizados y con sus datos depositados y más de 4725 en proceso (<http://genomesonline.org/cgi-bin/GOLD/index.cgi>). La inmensa mayoría son microbiomas humanos. De su estudio hemos aprendido que tenemos en nuestro cuerpo más de  $10^{14}$  bacterias, lo que supone diez veces más que el total de nuestras células. Los genes de toda esa población bacteriana son 100 veces más que todos los genes de



nuestras células. Pero lo más importante es que no están ahí porque sí: están para llevar a cabo funciones biológicas que estamos empezando a comprender y que son vitales para nuestra salud. Esta afirmación toma especial relevancia cuando analizamos el microbioma del tracto digestivo humano. En una persona de 70 kg de peso, las bacterias de su tracto digestivo pesan 1 kg. Los *phyla* predominantes son *Bacteroidetes* y *Firmicutes* que son casi el 90 % de nuestra microbiota bacteriana<sup>2</sup>. El metabolismo de estos microorganismos permite degradar mejor los alimentos que tomamos y liberar de los mismos de forma más eficaz los nutrientes esenciales de nuestra dieta.

Es más, se ha determinado que en algunas metabolopatías muy extendidas, aparecen claros cambios en el microbioma del tracto digestivo que, si bien pueden no ser la causa principal del problema, sí que pueden ser una de las causas. Este es el caso de la obesidad. Desde hace varios años sabemos que tanto en modelos murinos de obesidad como en humanos obesos hay un incremento de *Firmicutes* y un descenso de *Bacteroidetes* en el microbioma del tracto digestivo<sup>3</sup>. En ensayos nutricionales con voluntarios humanos obesos se ha comprobado que una dieta baja en calorías correlaciona con un descenso de peso, una reducción del índice de masa corporal y un aumento de la proporción de *Bacteroidetes*<sup>4</sup>. En modelos murinos ya se han encontrado probióticos con cuya ingesta se logran reducciones de peso. Todos estos datos sugieren que una intervención nutricional adecuada con probióticos podría ser una buena herramienta alternativa a una dieta equilibrada y ejercicio en la lucha contra esta epidemia del siglo XXI. En el caso de pacientes con diabetes tipo II también se ha determinado un incremento en el ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* y una bajada de cepas del género *Bifidobacterium* en su microbioma digestivo<sup>5</sup>. En modelos murinos algunos investigadores, entre otros nuestro grupo en Biopolis SL, han usado cepas de este género que tienen un efecto positivo. Pero quizás los resultados más sorprendentes sean los relacionados con la actividad cerebral y el microbioma digestivo. En varios modelos animales se ha podido comprobar que la microbiota intestinal tiene un efecto a nivel cerebral a través del llamado *brain-gut axis*. Por ejemplo, en un modelo de ratón donde se provoca estrés con corticosterona se ha visto que la ingesta de una cepa de *Lactobacillus rhamnosus* reduce los síntomas de ansiedad y depresión por un mecanismo relacionado con el nervio vago<sup>6</sup>. Muy recientemente, en un modelo de autismo en ratón se ha visto la reversión de parte de los síntomas de esta enfermedad tras la ingesta de una cepa de *Bacteroides fragilis*, una bacteria que está presente en menor cantidad en el microbioma de los autistas<sup>7</sup>. No sólo es una cuestión de cambios en el microbioma digestivo durante la enfermedad. Nuestro microbioma digestivo cambia a lo largo de la vida. La colonización inicial del tracto digestivo del recién nacido depende de la lactancia e influye con posterioridad. En el caso de un adulto, dicho microbioma variará a medida que envejecemos, sufrimos un incremento de poblacio-

nes de los géneros *Bacteroides* y *Clostridium* mientras que *Faecalibacterium prautnizii*, una bacteria con capacidad antiinflamatoria, decrecerá<sup>8</sup>.

## LOS PROBIÓTICOS COMO UNA ALTERNATIVA

El resumen de todo lo expuesto es claro: el microbioma del tracto digestivo presenta un balance de especies que llevan a cabo funciones fisiológicas vitales para el individuo. Cualquier disbiosis implicará un problema, de forma que cuando estas aparezcan una buena estrategia de ataque será recuperar el balance original aportando probióticos o utilizando compuestos (prebióticos) que favorezcan el crecimiento de las especies positivas<sup>9-11</sup>. Y esto es lo que busca la industria alimentaria y cada vez más la industria farmacéutica. Para tener uno de estos probióticos eficaces la industria alimentaria debe invertir mucho tiempo y dinero, algo a lo que no están tan acostumbrados como las industrias farmacéuticas. Hay que disponer de un buen dossier científico que mostrar a las autoridades para conseguir las llamadas alegaciones, que no son más que los mensajes publicitarios permitidos en las etiquetas de los alimentos o bebidas. ¿Es sencillo? La respuesta es no. En la Unión Europea se sigue el Reglamento EC No. 1924/2006 que pide rigor científico en las evaluaciones. El organismo europeo responsable de definir si dicho rigor existe o no es la EFSA (*European Food Safety Agency*) y más concretamente su panel en Nutrición, Dietética y Alergias (NDA). Hasta ahora este panel no ha autorizado una sola alegación de probióticos. Sus rechazos se han debido a multitud de factores, desde la ausencia de una clasificación taxonómica adecuada del probió-

tico hasta la falta de ensayos clínicos, pasando por el rechazo a los datos provenientes de ensayos clínicos con enfermos

(los alimentos funcionales según el Reglamento anteriormente citado sólo deben usarse en gente sana), o fallos en el diseño del ensayo clínico<sup>12</sup>. Estas decisiones han sido cuestionadas. Dejando al margen algunas opiniones excesivamente vehementes de algunas empresas y científicos, aquellos profesionales de la salud que han mostrado un cierto desacuerdo con el panel NDA critican sobre todo la falta de interacción<sup>13-14</sup>. Dicha interacción sí se da en otras agencias evaluadoras como la FDA o *Health Canada*. Plantean otra metodología de trabajo donde el solicitante pueda presentar *a priori* los datos de los ensayos clínicos a realizar para tener el visto bueno de la EFSA. También exponen la necesidad de incrementar el panel NDA con más expertos en probióticos y ensayos clínicos.

Aunque pueda parecer extraño, lo que suceda en los próximos meses en relación con estos problemas puede marcar el mercado futuro de los probióticos, al menos en la Unión Europea. EFSA recientemente ha reconocido la posibilidad de considerar en algunos casos población enferma como receptora de alimentos funcionales. Si no comenzamos a llegar a un punto de equilibrio, probablemente resultará más sencillo pedir una autorización a la *European Medical Agency* que a la EFSA. De ser así el futuro comercial de los probióticos pasará más por la farmacia que por el supermercado. En cualquier

**Lo que suceda en los próximos meses puede marcar el mercado futuro de los probióticos**

caso, los gastroenterólogos comienzan a pensar cada día con más frecuencia en dos nuevas herramientas de trabajo: el diagnóstico mediante el análisis del microbioma y la intervención nutricional con prebióticos o probióticos al objeto de recuperar las disbiosis del tracto digestivo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hamady M, Knight R. (2012). Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges. *Genome Res* 19: 1141-1152.
2. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 308: 1635-1638.
3. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl acad Sci USA* 102: 11070-11075.
4. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. (2006). Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444: 1022-1023.
5. Naseer MI, Bibi F, Alqahtani MH, Chaudhary AG, Azhar EI, Kamal MA, Yasir M. (2014). Role of gut microbiota in obesity, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 13: 305-311.
6. Bravo JA, Forsythe P, Chew MB, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J, Cryan JF. (2011). Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl acad Sci USA* 102: 16050-16055.
7. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, Code-Li JA, Chow J, Reisman SE, Petrosino JF, Patterson PH, Mazmanian SK. (2013). Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell* 155: 1451-1463.
8. Rampelli S, Candela M, Turroni S, Biagi E, Collino S, Franceschi C, O'Toole PW, Brigidi P. (2013). Functional metagenomic profiling of intestinal microbiome in extreme ageing. *Aging* 5: 902-912.
9. Sonnenburg JL, Fischbach MA. (2011). Community health care: therapeutic opportunities in the human microbiome. *Science transl Med* 3: 1-5.
10. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative way. *Cell* 148: 1258-1269.
11. Olle B. (2013). Medicines from microbiota. *Nature Biotechnol* 4: 309-315.
12. Loveren H, Sanz Y, Salminen S. (2012). Health claims in Europe: probiotics and prebiotics as case examples. *Annu Rev Food Sci Technol* 3: 247-261.
13. Guarner F, Sanders ME, Gibson G, Klaenhammer T. (2011). Probiotic and prebiotic claims in Europe: seeking a clear roadmap. *Br J Nutr* 106: 1765-1767.
14. Katan MB. (2012). Why the European Food Safety Authority was right to reject health claims for probiotics. *Beneficial Microbes* 3: 85-89.



**Ignacio Belda, Alejandro Alonso, Domingo Marquina y Antonio Santos**

Departamento de Microbiología III, Facultad de Biología,  
Universidad Complutense de Madrid

**T**ras décadas de debate, la Unión Europea (UE) en colaboración con la Oficina Europea de Patentes (EPO) ha aprobado el paquete de medidas legislativas que componen la Patente Unitaria Europea. Este nuevo sistema de protección pretende unificar criterios y procedimientos en las distintas Oficinas de Patentes Nacionales de los países miembros de la UE y facilitar los trámites de solicitud de patentes internacionales de cobertura europea.

La anterior legislación europea permitía la protección de las patentes en diversos países de la UE, adecuando los procedimientos en cada país donde la patente gozara de protección. Esto se traducía en un incremento de los costes en términos de traducción de la misma y tasas de registro y mantenimiento. Además, estos costes afectaban a los procesos de litigio con la dificultad inherente a defender las patentes en 38 tribunales nacionales distintos.

El principal objetivo de la nueva legislación es, por tanto, la unificación de criterios, procedimientos e instituciones a fin de hacer el proceso de protección internacional más barato y sencillo.

La UE constituye un mercado de más de 500 millones de personas, por lo que es un objetivo prioritario para las empresas extranjeras que dedicarán considerables esfuerzos al conocimiento de las nuevas reglas de protección industrial en Europa. Sin embargo, la virtud de unificar, centralizar y facilitar trámites ha derivado en un paquete de medidas con una serie inconvenientes que, a falta de predicciones certeras, puede jugar en contra del desarrollo de la ciencia y la tecnología europeas. Contrariamente a lo esperado por Europa, en los últimos años se ha observado un gran incremento en las solicitudes de patente extranjeras (extracomunitarias) en la UE, destacando EEUU y Japón, que ya son un 24,5 % y un 19,7 % del total de patentes en Europa, respectivamente, frente al 35,3 % que suponen las patentes de propiedad europea. Cabe citar también el incremento de solicitudes de patente en Europa que países como China o Corea del Sur mostraron entre los años 2012 y 2013, con tasas de crecimiento del 18 % y 16 %, respectivamente. Sin embargo, en ese mismo periodo, el número de solicitudes de los países miembros de la UE no sufrió incremento alguno. Estos datos hacen necesaria una profunda reflexión sobre si el considerable altruismo y el escaso proteccionismo en la nueva normativa europea de cara a otorgar la Patente Unitaria pueden poner en riesgo el desarrollo científico europeo frente a potencias como EEUU, China o Japón.

Las patentes recientemente registradas como patentes europeas o bajo el convenio intercontinental PCT (*Patent Cooperation Treaty*), tras los 30 meses que dura su proceso de aprobación, son ya potenciales candidatas a ser protegidas bajo Patente Unitaria Europea. Por ello, las cifras y las tasas de crecimiento actuales pueden utilizarse ya en la predicción de las primeras repercusiones de la Patente Unitaria Europea. De nuevo, EEUU y China lideran el número de solicitudes de patentes PCT en los últimos años, mostrando frecuencias de colaboración internacional mucho menores que las mostradas por Europa. Esto confirma el interés comercial internacional propio de estas potencias económicas, frente a las que la Patente Unitaria Europea no parece ofrecer mucha protección.

El nuevo marco legislativo ofrece una protección de muy amplio espectro favoreciendo a las grandes multinacionales y dificultando, en ocasiones, el desarrollo de la I+D en sectores como la Biotecnología cuyo avance se ha apoyado en los últimos años en el establecimiento de pequeñas empresas biotecnológicas como *spin-offs* y otras empresas de base tecnológica. Estas empresas tienden al desarrollo de productos de alta tecnología en ocasiones destinados a mercados nacionales de cara a la resolución de problemas específicos, representando una fuente vital de innovación para estos países. El nuevo marco legislativo, poco ágil, no favorece este dinamismo característico de áreas como la Biotecnología que se caracteriza por la rápida caducidad y la continua renovación y modificación de sus resultados en forma de productos.

Países como España o Italia han decidido no formar parte, por el momento, del consorcio de la Patente Unitaria, basando su decisión en peligros como los anteriormente expuestos y en otros motivos como la centralización de las Cortes de litigio (*Unified Patent Court, UPC*) en Munich, París y Londres, acaparando los beneficios (idioma, retribución económica, etc.) que se derivan de un, a priori, acuerdo comunitario. La aparición de las *Patent Trolls (Patent Assertion Entities-PAEs)* y la bifurcación del proceso de Patente Unitaria, son dos riesgos adicionales sobre los cuales diversos expertos y empresas líderes del sector tecnológico han alertado.

Europa está todavía a tiempo de reconocer estas carencias y reconducir las medidas adoptadas en pro de la ciencia y el desarrollo tecnológico en Europa, favoreciendo sectores especialmente sensibles como la Biotecnología. El conjunto de actores involucrados en el proceso científico (investigadores, gestores, industria, etc.) hemos de conocer el nuevo marco que plantea Europa ocupándonos y preocupándonos de las implicaciones que ello pueda tener en nuestra labor diaria.

## BIBLIOGRAFÍA

- Van Pottelsberghe de la Potterie B. (2010). Patent fixes for Europe. *Nature* 467, 395.
- Rabesandratana T. (2012). E.U. reaches deal on single Patent System. *Science* 338, 1400.
- Hilty RM, Jaeger T, Lamping M, Ullrich H. (2012). The Unitary Patent Package: Twelve reasons for concern. *Max Plank Institute for Intellectual Property & Competition Law. Research Paper* 12-12.
- Belda I, Penas G, Alonso A, Marquina D, Navascués E, Santos A. (2014). Biotech patents and science policy: the Spanish experience. *Nature Biotechnology* 32, 59-61.



## V Congreso de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Oviedo, 15-17 de Octubre de 2014

<http://cmibm14.uniovi.es/>

# Grupo especializado en Hongos Filamentosos y Levaduras

Bélen Patiño<sup>1</sup>, Antonio Di Pietro<sup>2</sup>, José Cansado<sup>3</sup> y Humberto Martín<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Complutense de Madrid, <sup>2</sup>Universidad de Córdoba y <sup>3</sup>Universidad de Murcia

Hace pocas semanas saltaba a la primera página de todos los medios de información la construcción e integración funcional en *Saccharomyces cerevisiae* del primer cromosoma sintético en una célula eucariótica. Los hongos microscópicos, y en concreto esta levadura tan próxima a todos nosotros, mostraban de nuevo su tremenda relevancia en el impulso de numerosas parcelas de la investigación biológica, y en este caso su aplicación en el campo de la Biología Sintética. Este es sólo un ejemplo más de los innumerables que se podrían citar, y que han ido pavimentando en gran parte las vías que nos han llevado al conocimiento actual sobre el funcionamiento de una célula eucariótica. Podríamos igualmente referirnos a la importancia de estos microorganismos en el plano industrial o biotecnológico. Recientemente se han conocido los estupendos dibujos y grabados que adornan los muros y techos de la tumba del maestro cervecero de la época ramésida (de los siglos XIII a XI a.C.) en Luxor, la antigua Tebas. Además de mostrar la importancia y realce social de la figura del cervecero en aquella civilización, sirve de ejemplo para ilustrar lo que han significado estos microorganismos en el día a día del ser humano a lo largo de la historia. Hemos aprovechado los hongos tanto para la elaboración de los alimentos más básicos como el pan, el vino o la cerveza como para la obtención de antibióticos, hasta llegar a su utilización actual en la producción de las más novedosas enzimas o proteínas terapéuticas. No podemos olvidarnos de su importancia ecológica, ni se pueden repasar los aspectos más significativos del mundo fúngico sin mencionar igualmente la importancia de los hongos como agentes patógenos de hospedadores que abarcan desde plantas al ser humano.

Con el fin fundamental de servir de vehículo de comunicación entre los microbiólogos que desarrollaban su investigación en estos ámbitos, surge el grupo especializado de Micología de la Sociedad Española de Microbiología. Si bien comienzan ciertas actividades en el año 1972, de la mano de Carlos Ramírez Gómez, el grupo se constituye definitivamente en 1979 fundamentalmente por el impulso de su primer Presidente, Rafael Sentandreu Ramón (1979-1990) y posteriormente por Germán Larriba Lacalle (1990-1998). Tras la presidencia de Miguel Sánchez Pérez (1998-2004), el grupo cambia a su nombre actual, Grupo de Hongos Filamentosos y Levaduras, siendo presidenta M<sup>a</sup> Isabel-Reyes González Roncero (2004-2008) y posteriormente Amparo Querol Simón (2008-2012). Con este afán de servir de herramienta de interacción entre micólogos, y conjuntamente con la Asociación Española de Micología, nuestro grupo especializado viene organizando reuniones bie-

nales desde el año 1982, que a partir del año 1992 se celebran con la denominación de «Congreso Nacional de Micología». El primero de estos congresos se celebró en el Puerto de la Cruz, y posteriormente en Santiago de Compostela (1994), Peñíscola (1996), Cádiz (1998), Cáceres (2000), Valencia (2002), Salamanca (2004), Barcelona (2006), Córdoba (2008), Sevilla (2010) y Cádiz (2012), hasta llegar al próximo y duodécimo congreso, que se celebrará en junio de este año en Bilbao. Otro de los principales objetivos del grupo es el fomento de la investigación. Con este fin, además de dotarse premios a las mejores presentaciones del campo de la Micología en los Congresos Nacionales de la SEM, se creó el premio Fleming, que se convoca cada dos años y se entrega en los congresos del grupo, premiando la publicación más relevante en este ámbito entre las presentadas al concurso por sus miembros.

A pesar de las dificultades económicas que sufren muy diversos sectores en España y en especial la investigación, nuestro grupo actualmente cuenta con unos 120 socios, que componen grupos de investigación en la Universidad, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, el Instituto de Salud Carlos III, Hospitales, así como profesionales de laboratorios de la administración pública y empresas privadas. Valga la serie de reseñas de algunos de estos grupos de investigación que a continuación aparecen publicadas en el boletín SEM@foro, como botón de muestra no sólo de la fortaleza de nuestro Grupo Especializado sino también de la relevancia de la Micología en nuestro país.

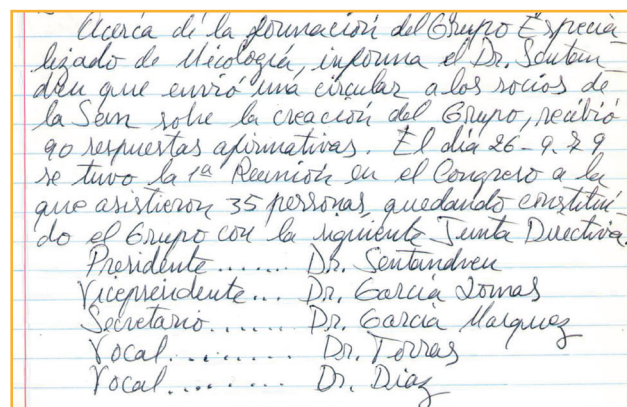


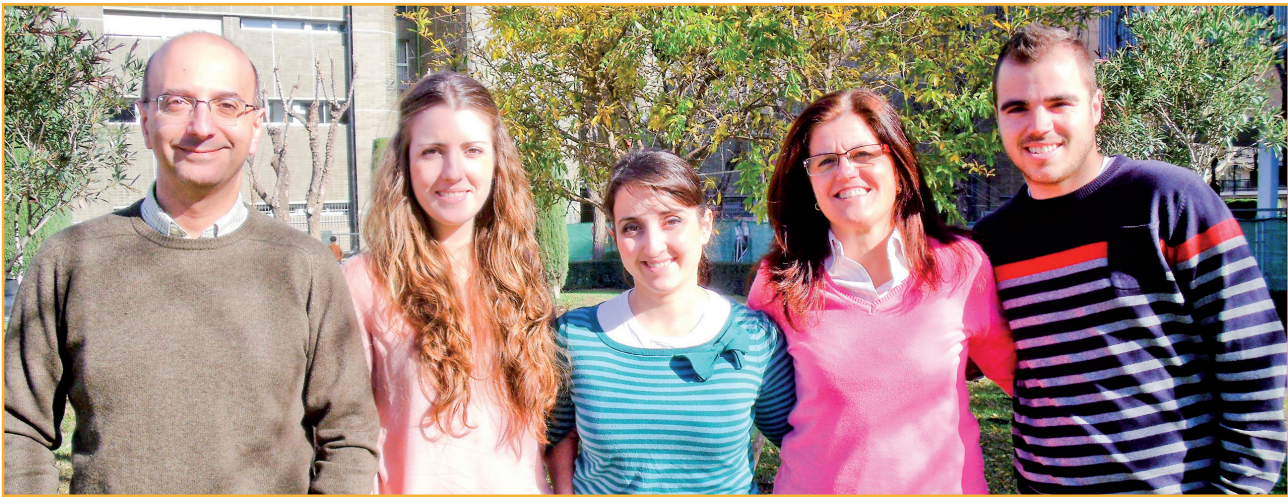
Figura 1. Fragmento del acta correspondiente a la Asamblea General Ordinaria de la SEM celebrada en Cádiz el 27 de septiembre de 1979 y que recoge el informe del Dr. Sentandreu sobre la constitución del grupo de Micología.

# Regulación por la luz del desarrollo de los hongos

Luis M. Corrochano

Departamento de Genética. Universidad de Sevilla

corrochano@us.es



**Foto de grupo.** En 2013 de izquierda a derecha: Luis M. Corrochano, María del Mar Gil Sánchez, M. Carmen Ruger Herreros, Eva M. Luque Fobelo y Alejandro Miralles Durán.

La luz, sobre todo la luz azul, regula muchos aspectos del desarrollo de los hongos. En muchos hongos la luz regula la germinación de las esporas, la ramificación de las hifas, y el desarrollo sexual y asexual, incluyendo la aparición de cuerpos fructíferos. Además, la luz regula muchas rutas metabólicas, como la síntesis del pigmento beta-caroteno, y la dirección de su crecimiento, como ocurre durante el fototropismo de los cuerpos fructíferos. La luz sirve como una señal ambiental para ajustar el reloj circadiano en los humanos y también en los hongos en los que se ha investigado. El mecanismo molecular de la percepción de la luz se ha caracterizado sobre todo en el hongo ascomiceto *Neurospora crassa*. *N. crassa* utiliza dos proteínas, WC-1 y WC-2, para ver la luz. Estas dos proteínas forman un complejo que funciona como fotorreceptor y factor de transcripción. La luz promueve la interacción entre dos complejos WC que se unen a los promotores de genes para activar (y en algunos casos reprimir) la transcripción. La activación de la transcripción por la luz es transitoria (fotoadaptación) ya que uno de los genes que primero se activa por la luz es *vvd* que es responsable de una pequeña proteína que interfiere con la unión entre complejos WC y promueve su eliminación de los promotores y el final de la

transcripción. En el genoma de *N. crassa* se han encontrado genes para otros fotorreceptores: fitocromos para ver la luz roja, un criptocromo para ver la luz azul, y una opsina parecida a la proteína que usamos nosotros para ver. Sin embargo, el papel de estos fotorreceptores debe ser secundario ya que solo son ciegos los mutantes en los genes *wc-1* o *wc-2*. Algunos hongos, sin embargo, utilizan varios fotorreceptores para ver. El ejemplo mejor estudiado es el ascomiceto *Aspergillus nidulans*, que es capaz de ver la luz roja y la luz azul para regular el desarrollo asexual y sexual y la síntesis de metabolitos secundarios.

En nuestro laboratorio investigamos el mecanismo de la fotorrecepción identificando y caracterizando genes de fotorreceptores y su funcionamiento. Sobre todo estamos interesados en entender cómo se regula la esporulación y la síntesis de pigmentos por la luz. Hemos caracterizado los genes homólogos de *wc-1* y *wc-2* en el hongo mucoral *Phycomyces blakesleeianus*. A diferencia de *N. crassa* o *A. nidulans*, *P. blakesleeianus* y otros hongos mucorales, como *Mucor circinelloides*, tienen varios genes *wc* que han surgido por duplicaciones génicas. En *Phycomyces* dos de estos genes, *madA* y *madB*, son necesarios para todas sus respuestas a la luz, como en *N. crassa*. Sin embargo, cada



**Figura 1.** *Neurospora crassa*. Colonias de *N. crassa* creciendo sobre un tronco quemado en un jardín de Sevilla. Las colonias tienen un aspecto algodonoso por la gran cantidad de hifas aéreas que produce durante la conidiación. Los conidios son anaranjados por la acumulación del carotenoide neurosporaxantina. Foto de Luque et al. (PLoS ONE 7: e33658).

proteína Wc-1 de *Mucor* se ha especializado en servir como fotorreceptor para una respuesta distinta. En *Phycomyces* MadA y MadB forman un complejo fotorreceptor y estamos interesados en averiguar el papel de este complejo y de las otras proteínas Wc en la fotorrecepción. También estamos interesados en entender el mecanismo responsable de la activación de la transcripción por la luz y hemos averiguado que en *N. crassa* un complejo represor formado por las proteínas RCO-1 y RCM-1 de *N. crassa* participa en el mecanismo de la fotoadaptación.

La conidiación de *N. crassa* está regulada por varios genes, algunos de ellos responsables de factores de transcripción que regulan la acumulación de las proteínas necesarias para el desarrollo de las hifas aéreas y la producción de conidios. El desarrollo de los conidios en *A. nidulans* es más complejo que en *N. crassa*, pero también está regulado por una colección de factores de transcripción. Hemos caracterizado la regulación por la luz de los genes responsables de los dos principales reguladores de la conidiación en *N. crassa* y *A. nidulans*, FL y Br1A, respectivamente. Hemos propuesto que la activación por la luz de la conidiación en estos hongos se debe a la activación de la transcripción de los principales genes reguladores.

Los carotenoides son pigmentos coloreados y su biosíntesis está regulada por la luz a través de la activación de los genes responsables de las enzimas que participan en la biosíntesis de carotenoides. En *N. crassa* la biosíntesis de carotenoides está regulada por la luz y por el desarrollo y los conidios están muy coloreados por la acumulación del carotenoide neurosporaxantina. Estamos interesados en identificar los factores de transcripción que regulan la activación por la luz y el desarrollo de la biosíntesis de carotenoides en *N. crassa*. Como los carotenoides tienen aplicaciones como colorantes naturales es posible que los resultados de estas investigaciones puedan ayudar a optimizar la biosíntesis de carotenoides en hongos de uso industrial.

Colaboramos con muchos grupos durante nuestras investigaciones. Para la caracterización de los genes responsables de la fotorrecepción de *Phycomyces* colaboramos con los grupos de A. Idnurm (University of Missouri, EE.UU.), A. Pérez Eslava (U. Salamanca) y A. Herrera Estrella (Cinvestav, México). También colaboramos con el grupo de M. Brunner (U. Heidelberg, Alemania) y de D. Cánovas (U. Sevilla) en la caracterización de la fotorrecepción en *N. crassa* y *A. nidulans*. Nuestro grupo es responsable de coordinar al equipo internacional que ha secuenciado el genoma de *Phycomyces*. Para ello interaccionamos con un consorcio internacional liderado por científicos del *Joint Genome Institute* (Departamento de Energía, EE.UU.).

## PUBLICACIONES RECIENTES

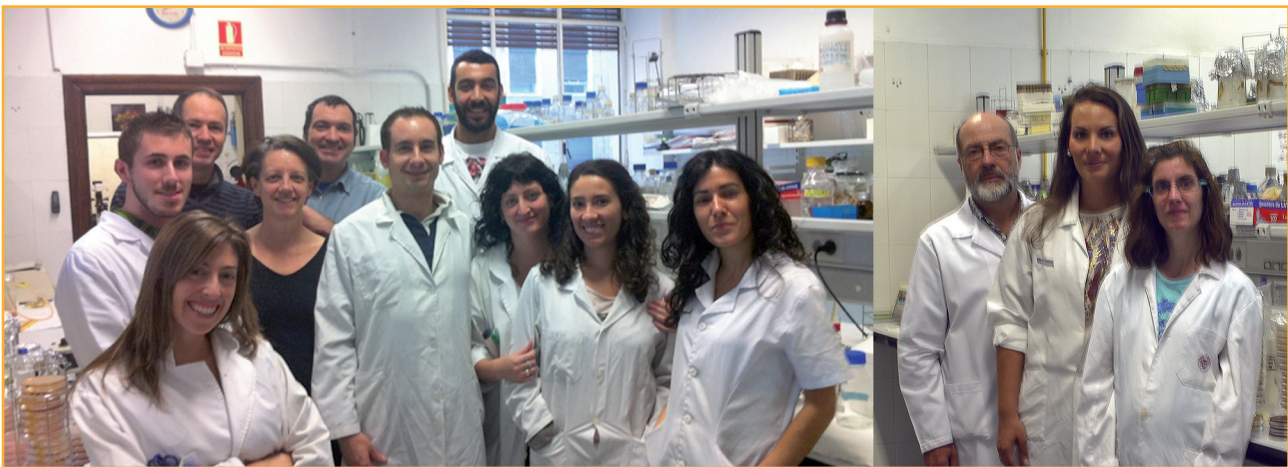
- Ruger-Herreros C, Gil-Sánchez MM, Sancar G, Brunner M, Corrochano LM. (2014). Alteration of light-dependent gene regulation by the absence of the RCO-1/RCM-1 repressor complex in the fungus *Neurospora crassa*. *PLoS ONE* en prensa.
- Luque EM, Gutiérrez G, Navarro-Sampedro L, Olmedo M, Rodríguez-Romero J, Ruger-Herreros C, Tagua VG, Corrochano LM. (2012). A relationship between carotenoid accumulation and the distribution of species of the fungus *Neurospora* in Spain. *PLoS ONE* 7: e33658.
- Tagua VG, Medina HR, Martín-Domínguez R, Eslava AP, Corrochano LM, Cerdá-Olmedo E, Idnurm A. (2012). A gene for carotene cleavage required for pheromone biosynthesis and carotene regulation in the fungus *Phycomyces blakesleeanae*. *Fung Genet Biol* 49: 398-404.
- Ruger-Herreros C, Rodríguez-Romero J, Fernández-Barranco R, Olmedo M, Fischer R, Corrochano LM, Cánovas D. (2011). Regulation of conidiation by light in *Aspergillus nidulans*. *Genetics* 188: 809-822.
- Olmedo M, Ruger-Herreros C, Luque EM, Corrochano LM. (2010). A complex photoreceptor system mediates the regulation by light of the conidiation genes *con-10* and *con-6* in *Neurospora crassa*. *Fung Genet Biol* 47: 352-363.
- Olmedo M, Ruger-Herreros C, Corrochano LM. (2010). Regulation by blue light of the *fluffy* gene encoding a major regulator of conidiation in *Neurospora crassa*. *Genetics* 184: 651-658.
- Olmedo M, Navarro-Sampedro L, Ruger-Herreros C, Kim SR, Jeong BK, Lee BU, Corrochano LM. (2010). A role in the regulation of transcription by light for RCO-1 and RCM-1, the *Neurospora* homologs of the yeast Tup1-Ssn6 repressor. *Fung Genet Biol* 47: 939-952.
- Sanz C, Rodríguez-Romero J, Idnurm A, Christie JM, Heitman J, Corrochano LM, Eslava AP. (2009). *Phycomyces* MADB interacts with MADA to form the primary photoreceptor complex for fungal phototropism. *Proc Nat Acad Sci USA* 106: 7095-7100.

# Transducción de Señales en *Saccharomyces cerevisiae*

Esmeralda Alonso, Teresa Fernández-Acero, Pablo Fernández-Piñar, Ahmad Ismail, Isabel Rodríguez-Escudero, María Rodríguez-Escudero, Almudena Sacristan-Reviriego, Andrea Valderrey, Rafael Rotger, Víctor J. Cid, Humberto Martín y María Molina.

Departamento de Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid

[molmifa@ucm.es](mailto:molmifa@ucm.es)



**Foto de grupo.** Integrantes del grupo de investigación a principios del 2014. En la imagen izquierda, Teresa Fernández-Acero (al frente), Ignacio Bravo, María Molina, Pablo Fernández Piñar, María Rodríguez-Escudero, Esmeralda Alonso y Almudena Sacristán Reviriego (primera fila); Humberto Martín, Víctor J. Cid y Ahmad Ismail (al fondo); en la imagen derecha, Rafael Rotger, Andrea Valderrey e Isabel Rodríguez-Escudero.

Nuestro grupo es uno de los grupos de investigación consolidados de la Universidad Complutense de Madrid (Grupo de Transducción de Señales en *Saccharomyces cerevisiae*: <https://www.ucm.es/signalyeast/>), ubicado en el Departamento de Microbiología II de la Facultad de Farmacia, que está además integrado en el Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). El equipo, formado en la actualidad por 12 miembros, 6 de ellos doctores y 6 realizando su tesis doctoral, está coordinado por la Dra. María Molina y los Dres. Humberto Martín y Víctor Jiménez Cid. Desde su formación, el trabajo del grupo ha estado financiado a través de proyectos europeos y nacionales, y actualmente también forma parte del Programa PROMPT (Programas i+d grupos de la Comunidad de

Madrid: <http://www.prompt.es/>) con otros siete grupos de investigación interesados en la Programación de Circuitos Microbianos en Medicina Protectora y Terapéutica.

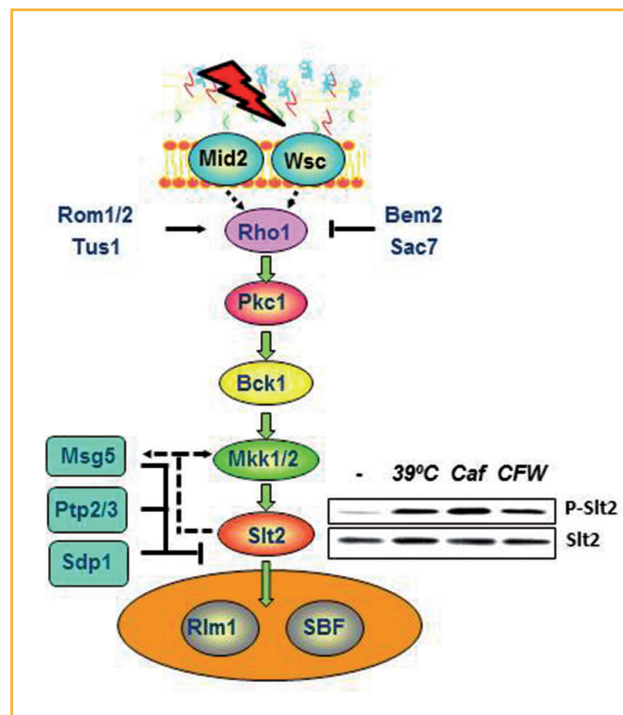
Nuestras líneas de investigación están enfocadas hacia el estudio de las rutas y mecanismos moleculares de transducción de señales en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, considerada un organismo eucariótico modelo. Los procesos de señalización son esenciales para que las células reconozcan el ambiente que les rodea, se adapten y se comuniquen con otras células. Dichas rutas, muy conservadas a lo largo de la evolución, son las encargadas de responder a los estímulos extracelulares mediante la generación de modificaciones post-traduccionales en las proteínas y cambios en la expresión génica. Esta respuesta resulta en

la mayoría de los casos esencial para la proliferación y la supervivencia celular.

La experiencia de nuestro grupo en este tema es fruto de una larga trayectoria, que comienza hace más de veinte años con la clonación del gen *SLT2*, bajo la dirección de los Dres. César Nombela y Miguel Sánchez (Torres *et al.* 1991). El interés de estos investigadores por comprender los procesos de biosíntesis y degradación de la pared celular de las levaduras, les condujo a la búsqueda de genes con actividad supresora del fenotipo de unos mutantes autolíticos, amablemente cedidos desde el NIH (National Institute of Health) en Bethesda por los Dres. Enrico Cabib y Angel Durán. Uno de ellos resultó codificar una proteína quinasa de la familia de las MAPKs, *Slt2*, que era responsable del mantenimiento de la integridad de la pared celular en condiciones que suponían un peligro para la estabilidad de esta estructura esencial que rodea y protege a la célula. A partir de entonces, gracias a nuestro trabajo y al de otros grupos de investigación nacionales e internacionales, se fue configurando una ruta de señalización (denominada CWI, por Cell Wall Integrity) formada por diferentes componentes que, desde los sensores de superficie que perciben el estímulo, van activándose en cadena hasta activar a la MAPK, que regula una respuesta compensatoria para evitar que una alteración en la pared celular pueda conducir a una pérdida de viabilidad. Además, en los últimos años hemos utilizado nuestros conocimientos en la señalización celular en levaduras para estudiar proteínas relacionadas con enfermedades humanas mediante su expresión heteróloga en *S. cerevisiae*. El desarrollo de estas levaduras humanizadas nos ha permitido demostrar que este sistema modelo constituye una plataforma biológica con un gran potencial para la realización de estudios genéticos y farmacológicos sobre proteínas que interfieren con procesos de señalización intracelular conservados a lo largo de la escala filogenética.

### ESTUDIO DE LA RUTA DE INTEGRIDAD CELULAR (CWI) DE *S. CEREVISIAE*

Las aportaciones de nuestro grupo en esta línea de investigación han permitido la identificación de interacciones moleculares entre componentes que integran la ruta CWI (Soler *et al.*, 1995; Jiménez-Sánchez *et al.*, 2007), de estímulos responsables de su activación, gracias al desarrollo de un sistema de inmunodetección de la activación de la MAPK (Martín *et al.*, 2000; Rodríguez-Pachón *et al.*, 2002), la caracterización de moduladores negativos de la señalización, como las proteínas fosfatasa *Msg5* y *Sdp1* (Flández *et al.*, 2004; Martín *et al.*, 2005; Marín *et al.*, 2009; Palacios *et al.* 2011; Sacristán-Reviriego *et al.*, 2014), y de mecanismos de retroalimentación que operan en dicha ruta, como la retrofosforilación de las MAPKs *Mkk1* y *Mkk2* por la MAPK *Slt2* (Jiménez-Sánchez *et al.*, 2007). También hemos llevado a cabo análisis a gran escala, tanto fenotípicos utilizando colecciones genómicas de mutantes (de Groot *et al.*, 2001) dentro de proyecto EUROFAN (European Functional Analysis Network), como transcriptómicos

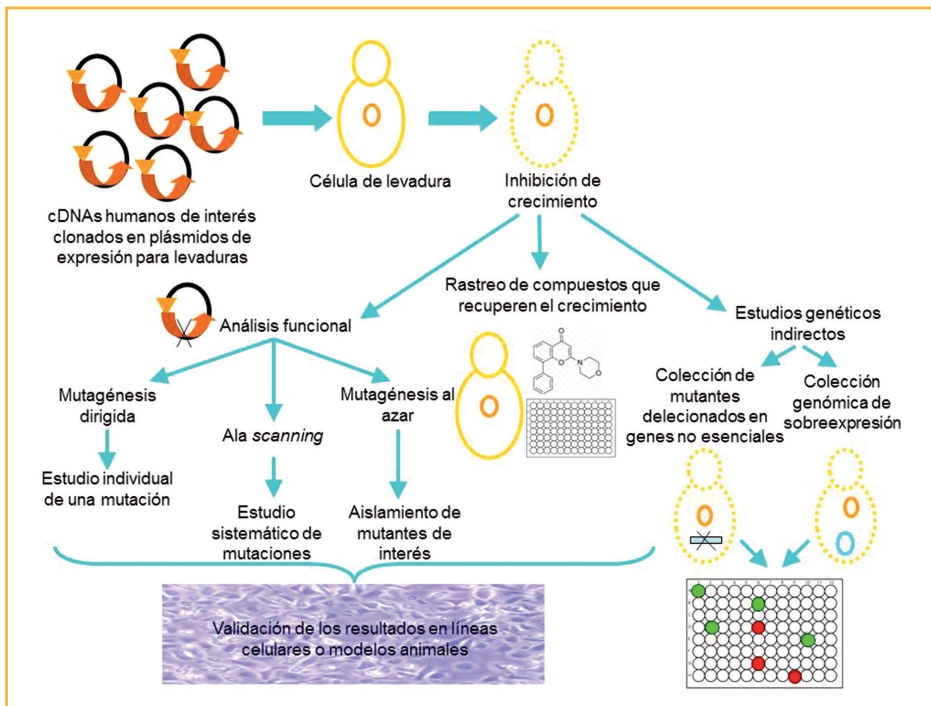


**Figura 2.** Esquema de la ruta de señalización de integridad celular en *S. cerevisiae*. El inmunoblot, realizado con anticuerpos anti-fosfo-MAPK (panel superior) o anti-Slt2 (panel inferior) refleja el incremento de fosforilación de la MAPK *Slt2* en respuesta a distintos estímulos que activan la ruta: choque térmico (39 °C), cafeína (Caf) y blanco de calcofluor (CFW).

(Marín *et al.*, 2009) y, más recientemente, fosfoproteómicos (Mascaraque *et al.* 2013). Estas estrategias globales, realizadas en colaboración con las Unidades de Genómica y Proteómica del PCM/UCM dirigidas por el Dr. Javier Arroyo y la Dra. Concha Gil, han generado muchos datos interesantes que abren nuevas vías de estudio sobre el funcionamiento y regulación de la ruta CWI. Por ejemplo, mediante el estudio fosfoproteómico cuantitativo diferencial realizado utilizando SILAC (Stable Isotope Labeling of Amino acids in Cell culture), hemos podido identificar un conjunto de proteínas que incrementan su fosforilación en condiciones de hiperactivación de *Pkc1*, algunas de las cuales presentan el motivo característico de fosforilación por MAPKs, siendo por tanto potenciales sustratos de *Slt2*. Uno de los actuales objetivos de nuestro grupo es confirmar cuales de estas proteínas son efectores de la ruta CWI.

La esencialidad de la pared celular y su ausencia en células humanas confiere a esta estructura la característica de ser una excelente diana de fármacos antifúngicos. Por ello, la comprensión del mecanismo compensatorio que desencadena esta ruta en presencia de compuestos que alteran la pared celular es fundamental para la consecución de una terapia antifúngica eficaz. El desarrollo de nuevos bioensayos para la búsqueda de compuestos dirigidos hacia esta diana es uno de nuestros objetivos prioritarios.





**Figura 3.** Estrategias para la investigación con levaduras humanizadas. El cDNA de interés clonado en un plásmido de expresión condicional en levaduras ocasiona la inhibición de su crecimiento. Esto permite llevar a cabo estudios funcionales mediante técnicas de mutagénesis; rastrear colecciones de compuestos en busca de moléculas que recuperen el crecimiento; y realizar estudios genéticos indirectos, para determinar posibles moduladores del fenotipo (que se indican en rojo y en verde en la placa multipocillo) empleando tanto la colección de mutantes deletionados en genes no esenciales como la colección genómica de sobreexpresión. Los resultados obtenidos en este sistema deben ser validados en líneas celulares. Esquema realizado por Teresa Fernández-Acero Bascones para su tesis doctoral.

### MODELIZACIÓN EN LEVADURA DE LA RUTA ONCOGÉNICA PI3K-PTEN-AKT

Otra de nuestras líneas de investigación está basada en la explotación de las características de *S. cerevisiae* como modelo biológico para estudiar patologías humanas, mediante la integración de módulos de señalización heterólogos en circuitos endógenos de la levadura. Existe una gran conservación funcional entre este microorganismo unicelular y las células de organismos superiores en lo que se refiere a procesos importantes para las funciones vitales de la célula y a las respuestas adaptativas a través de rutas de señalización. En este contexto, hace unos años conseguimos reconstituir en nuestro laboratorio una ruta oncogénica humana mediante la expresión de p110, la subunidad catalítica de la fosfatidilinositol-3-quinasa PI3K (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2005a) y de PKB/Akt, su principal quinasa efectora (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2009). La hiperactivación de estas proteínas proto-oncogénicas, que es característica de algunos tipos de tumores, se reproduce en la levadura generando un efecto letal, que es contrarrestado por la expresión del gen supresor de tumores PTEN (la PtdIns(3,4,5)P3-fosfatasa que cataliza la reacción inversa a PI3K) (Cid *et al.*, 2008). Esto nos ha permitido utilizar este sistema sintético de levadura «humanizada» como una plataforma de ensayo *in vivo* en la que analizar de forma específica, sencilla y económica la actividad de los componentes de esa ruta y utilizarla

para la búsqueda de fármacos en rastreos de alto rendimiento (HTS). Hemos analizado alelos de PTEN asociados a tumores y otros síndromes, y realizado mutagénesis sistemáticas y al azar para anticipar mutaciones con potencial oncogénico en estas proteínas (Andrés-Pons *et al.*, 2007, Rodríguez-Escudero *et al.*, 2011a). Para poder realizar estos trabajos de carácter transversal hacia otras áreas de conocimiento, ha sido fundamental el establecimiento de colaboraciones con otros grupos de investigación, como la que mantenemos desde hace ocho años con el Dr. Rafael Pulido (actualmente en el Instituto de Investigación BioCruces, Bilbao) o, más recientemente, con la Fundación MEDINA (Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía) para la realización de los rastreos farmacológicos de inhibidores de PI3K (Fernández-Acero *et al.*, 2012), cuya identificación es otro de nuestros objetivos actuales.

### S. CEREVISIAE COMO MODELO DE CÉLULA HOSPEDADORA DE PATÓGENOS BACTERIANOS

Fue a finales de los años 90 cuando nos integramos con el grupo de patogenésis bacteriana del Dr. Rafael Rotger de nuestro mismo Departamento. Nuestra intención era demostrar la utilidad del sistema de levadura para la caracterización de proteínas de virulencia bacterianas que interfieren con la señalización de la célula hospedadora. En

esos momentos se estaban comenzando a conocer las estrategias que emplean los patógenos para inyectar proteínas al citoplasma de sus células diana, a través de sistemas de secreción especializados que actúan como jeringas moleculares. Dado que las funciones con las que interfieren estas proteínas o efectores están especialmente relacionadas con la modulación de las rutas de transducción de señales, parecía posible mimetizar esta interacción aprovechando la conservación funcional de la levadura. Y así lo demostramos mediante la expresión en *S. cerevisiae* de algunos efectores de función conocida de *Salmonella* (SopE, y SptP) en nuestro trabajo pionero en esta línea de investigación (Rodríguez-Pachón *et al.*, 2002). Tras poner a punto el sistema, hemos seguido trabajando con éxito en estudios similares con otros efectores menos conocidos, como SopB y SteC (Alemán *et al.*, 2005; Rodríguez-Escudero *et al.*, 2006, 2011b; Fernández-Piñar, *et al.*, 2012) de esta misma bacteria, o de cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2005b). El interés despertado por esta herramienta celular nos ha llevado a establecer numerosas colaboraciones con investigadores tanto nacionales como internacionales que estudian la patogenicidad de diferentes bacterias patógenas, como Brett Finlay de la Univ. British Columbia (Vancouver), Francisco Ramos de la Universidad de Sevilla, Miguel Ángel Valvano y José Antonio Bengoechea, ambos actualmente en Queen's University (Belfast), Jaime Mota del ITQB (Lisboa) o Suzana Salcedo del IBCP (Lyon)

## PUBLICACIONES MÁS RELEVANTES

- Alemán A, Rodríguez-Escudero I, Mallo GV, Cid VJ, Molina M, Rotger R.** (2005) The amino-terminal non-catalytic region of *Salmonella typhimurium* SigD affects actin organization in yeast and mammalian cells. *Cell Microbiol* 7:1432-46.
- Andrés-Pons A, Rodríguez-Escudero I, Gil A, Blanco A, Vega A, Molina M, Pulido R, Cid VJ.** (2007) In vivo functional analysis of the counterbalance of hyperactive phosphatidylinositol 3-kinase p110 catalytic oncoproteins by the tumor suppressor PTEN. *Cancer Res* 67:9731-9.
- Cid VJ, Rodríguez-Escudero I, Andrés-Pons A, Romá-Mateo C, Gil A, den Hertog J, Molina M, Pulido R.** (2008) Assessment of PTEN tumor suppressor activity in nonmammalian models: the year of the yeast. *Oncogene* 27:5431-42.
- Fernández-Acero T, Rodríguez-Escudero I, Vicente F, Monteiro MC, Tormo JR, Cantizani J, Molina M, Cid VJ.** (2012) A yeast-based in vivo bioassay to screen for class I phosphatidylinositol 3-kinase specific inhibitors. *J Biomol Screen* 17:1018-29.
- Fernández-Piñar P, Alemán A, Sondek J, Dohlman HG, Molina M, Martín H.** (2012) The *Salmonella* effector SteC inhibits Cdc42-mediated signaling through binding to the exchange factor Cdc24 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 23:4430-43.
- Flández M, Cosano IC, Nombela C, Martín H, Molina M.** (2004) Reciprocal regulation of Slt2 MAP kinase and isoforms of Msg5 dual-specificity protein phosphatase modulates the yeast cell integrity pathway. *J Biol Chem* 279:11027-34.
- Groot PW de, Ruiz C, Vázquez de Aldana CR, et al.** (2001) A genomic approach for the identification and classification of genes involved in cell wall formation and its regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Comp Funct Genomics* 2:124-42.
- Jimenez-Sanchez M, Cid VJ, Molina M.** (2007) Retrophosphorylation of Mkk1 and Mkk2 MAPKs by the Slt2 MAPK in the yeast cell integrity pathway. *J Biol Chem* 282:31174-85.
- Marín MJ, Flández M, Bermejo C, Arroyo A, Martín H, Molina M.** (2009) Different modulation of activity and output of yeast MAPKs by distinct stimuli and isoforms of the dual-specificity phosphatase Msg5. *Mol Gen Genom* 281:345-59.
- Martin H, Rodriguez-Pachon JM, Ruiz C, Nombela C, Molina M.** (2000) Regulatory mechanisms for modulation of signalling through the cell integrity Slt2-mediated pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 275:15111-9.
- Martín H, Flández M, Nombela C, Molina M.** (2005) Protein phosphatases in MAPK signalling: We keep learning from yeast. *Mol Microbiol* 58:6-16.
- Mascarque V, Hernández ML, Jiménez-Sánchez M, Hansen R, Gil C, Martín H, Cid VJ, Molina M.** (2013) Phosphoproteomic analysis of protein kinase C signaling in *Saccharomyces cerevisiae* reveals Slt2 mitogen-activated protein kinase (MAPK)-dependent phosphorylation of eisosome core components. *Mol Cell Proteomics* 12:557-74.
- Palacios L, Dickinson RJ, Sacristán-Reviriego A, Didmon MP, Marín MJ, Martín H, Keyse SM, Molina M.** (2011) Distinct docking mechanisms mediate interactions between the Msg5 phosphatase and mating or cell integrity mitogen-activated protein kinases (MAPKs) in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 286:42037-50.
- Rodríguez-Escudero I, Roelants FM, Thorner J, Nombela C, Molina M, Cid VJ.** (2005a) Reconstitution of the mammalian PI3K-PTEN-Akt pathway in yeast. *Biochem J* 390:613-23.
- Rodríguez-Escudero I, Hardwidge PR, Nombela C, Cid VJ, Finlay BB, Molina M.** (2005b) Enteropathogenic *Escherichia coli* type III effectors alter cytoskeletal function and signalling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology* 151:2933-2945.
- Rodríguez-Escudero I, Rotger R, Cid VJ, Molina M.** (2006) Inhibition of Cdc42-dependent signalling in *Saccharomyces cerevisiae* by phosphatase-dead SigD/SopB from *Salmonella typhimurium*. *Microbiology* 152:3437-52.
- Rodríguez-Escudero I, Andrés-Pons A, Pulido R, Molina M, Cid VJ.** (2009) Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent activation of mammalian protein kinase B/Akt in *Saccharomyces cerevisiae*, an in vivo model for the functional study of Akt mutations. *J Biol Chem* 284:13373-83.
- Rodríguez-Escudero I, Oliver MD, Andrés-Pons A, Molina M, Cid VJ, Pulido R.** (2011a) A comprehensive functional analysis of PTEN mutations: implications in tumor- and autism-related syndromes. *Hum Mol Genet* 20:4132-42.
- Rodríguez-Escudero I, Ferrer NL, Rotger R, Cid VJ, Molina M.** (2011b) Interaction of the *Salmonella* effector protein SopB with host cell Cdc42 is involved in intracellular replication. *Mol Microbiol* 80:1220-40.
- Rodríguez-Pachón JM, Martín H, North G, Rotger R, Nombela C, Molina M.** (2002) A novel connection between the yeast Cdc42 GTPase and the Slt2-mediated cell integrity pathway identified through the effect of secreted *Salmonella* GTPase modulators. *J Biol Chem* 277:27094-102.
- Sacristán-Reviriego A, Madrid M, Cansado J, Martín H, Molina M.** (2014) A conserved non-canonical docking mechanism regulates binding of dual specificity phosphatases to cell integrity MAPKs in budding and fission yeasts. *PLoS One* 9:e85390.
- Soler M, Plovins A, Martín H, Molina M, Nombela C.** (1995) Characterization of domains in the yeast MAP kinase Slt2 (Mpk1) required for functional activity and in vivo interaction with protein kinases Mkk1 and Mkk2. *Mol Microbiol* 17:833-42.
- Torres L, Martín H, García-Saez MI, Arroyo J, Molina M, Sanchez M, Nombela C.** (1991) A protein kinase gene complements the lytic phenotype of *Saccharomyces cerevisiae* *lyt2* mutants. *Mol Microbiol* 5:2845-54.

# Grupo de inmunología de las infecciones fúngicas

María Luisa Gil y Daniel Gozalbo

Departamento de Microbiología y Ecología de la Universitat de València

[m.luisa.gil@uv.es](mailto:m.luisa.gil@uv.es)

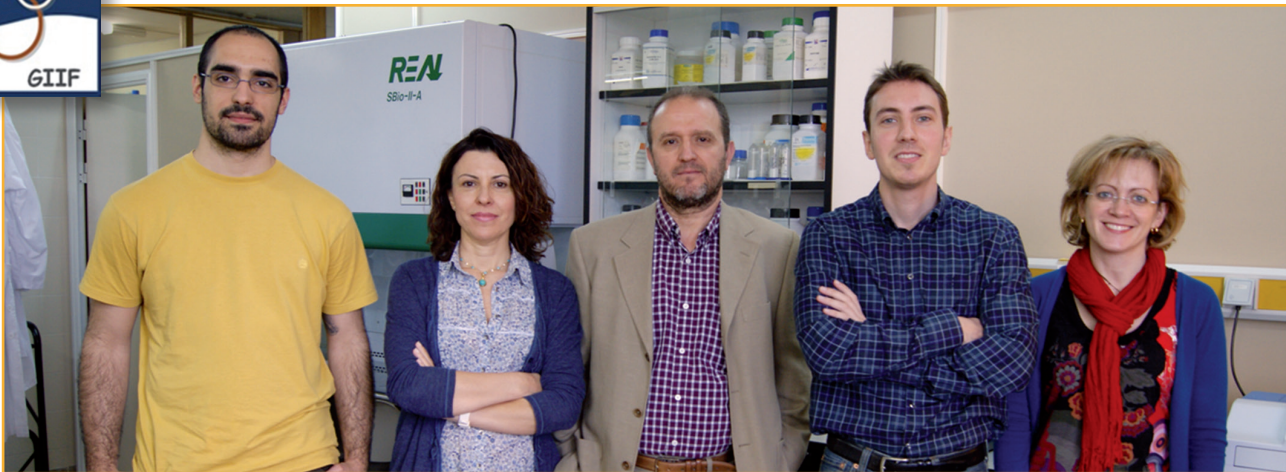


Foto de grupo. De izquierda a derecha. Pedro Salvador, María Luisa Gil, Daniel Gozalbo, Javier Megías y Victoria Maneu.

El grupo de investigación dirigido por los doctores María Luisa Gil y Daniel Gozalbo, denominado «Inmunología de las infecciones fúngicas», ha centrado su investigación, durante la última década, en el estudio de la respuesta inmunitaria del hospedador frente a *Candida albicans*. Esta especie fúngica es considerada un patógeno oportunista que, dependiendo del defecto subyacente del hospedador, es capaz de causar una variedad de infecciones que van desde las candidiasis superficiales cutáneas a graves candidiasis invasivas. La frecuencia y gravedad de éstas últimas ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, debido al aumento de la población de riesgo inmunodeprimida o debilitada por diferentes causas.

El sistema inmunitario innato reconoce un amplio rango de patógenos usando un repertorio limitado de receptores, los «pattern recognition receptors» (PRRs). La interacción entre ligandos microbianos muy conservados (MAMPs: «microorganism-associated molecular patterns») y los PRRs de las células inmunitarias maduras tiene una función esencial en el desarrollo de la respuesta innata y también de la

respuesta específica. Los neutrófilos y los macrófagos eliminan al patógeno por fagocitosis y además, la activación de los macrófagos da lugar a la secreción de diferentes mediadores, como las citocinas proinflamatorias, que son muy importantes para proteger al hospedador de las candidiasis diseminadas. Las células fagocíticas reconocen al patógeno mediante diversos PRRs, incluyendo los receptores tipo Toll (TLRs), que reconocen diversos MAMPs de *C. albicans*. Nuestro grupo ha mostrado que el receptor TLR2 está implicado en el reconocimiento de *C. albicans*, tanto levaduras como hifas, induciendo la secreción de citocinas a través de una vía dependiente de la molécula adaptadora MyD88. Dicho reconocimiento es crítico para la protección frente a la candidiasis invasiva en modelo de experimentación animal.

Por otro lado, una respuesta rápida del sistema inmunitario innato frente a los patógenos invasivos es esencial para el hospedador. Dado que las células responsables de la inmunidad innata tienen una vida media corta, el reaprovisionamiento de estas células es fundamental en homeostasis y especialmente importante durante la infección (para reempla-

zar las células consumidas en la lucha frente al microorganismo y para incrementar la vigilancia del sistema inmunitario). La hematopoyesis está muy controlada en condiciones de homeostasis, pero profundamente alterada en respuesta a diferentes tipos de infecciones, donde normalmente se produce la denominada mielopoyesis de emergencia, que consiste en la producción de neutrófilos, macrófagos o ambos tipos celulares, dependiendo del patógeno y/o de la severidad de la infección. A pesar de que se ha descrito la participación de diferentes citocinas y factores de transcripción en la mielopoyesis de emergencia, los mecanismos moleculares implicados en este fenómeno no han sido totalmente definidos.

El descubrimiento de que las células madre y progenitores hematopoyéticos (HSPCs) expresan los TLRs abrió un nuevo campo de estudio en la interacción patógeno-hospedador, ya que estos receptores podrían participar en la modulación de la hematopoyesis en respuesta a los microorganismos durante una infección. Nuestro grupo ha demostrado que *C. albicans* induce *in vitro* la proliferación y diferenciación de las HSPCs de ratón hacia el linaje mielóide, por una vía dependiente de TLR2. Además, recientemente hemos demostrado, utilizando un modelo murino de trasplante de HSPCs, que la estimulación vía TLRs de las HSPCs ocurre *in vivo* y que dicha señalización induce la diferenciación hacia macrófagos, tanto en respuesta a ligandos puros como en respuesta a la infección por *C. albicans*. Estos resultados sugieren que los patógenos pueden ser directamente reconocidos por las HSPCs a través de los PRRs, promoviendo así la capacidad de reaprovisionamiento del sistema inmunitario innato durante una infección. El encuentro entre las HSPCs y los microorganismos (o sus ligandos) podría tener lugar tanto en la médula ósea como en los tejidos infectados, donde podrían llegar las células progenitoras, tal como se ha demostrado en diferentes modelos. En los tejidos infectados los microorganismos podrían inducir la diferenciación de estas células madre migratorias por hematopoyesis extramedular.

Actualmente, el objetivo concreto de la investigación del grupo es caracterizar el fenotipo de los macrófagos generados a partir de las HSPCs en respuesta a ligandos de diferentes PRRs mediante ensayos *in vitro*, *ex vivo* y con un modelo de trasplante de HSPCs *in vivo*. La caracterización funcional de estos macrófagos permitirá determinar si la señalización vía TLRs genera macrófagos más preparados para la lucha frente al patógeno, o si por el contrario, son macrófagos con menor capacidad antifúngica, y por lo tanto tratarse de un posible mecanismo de evasión inmunitaria.

Los resultados ya obtenidos, junto con las perspectivas futuras, pueden ser de gran interés en este área frontera entre la Inmunología y la Microbiología, ya que demuestran (i) la existencia de nuevos mecanismos en la interacción hospedador-patógeno y sus consecuencias en la modulación de la respuesta inmunitaria durante la infección, lo cual puede representar una nueva diana para la intervención frente a las infecciones graves, así como (ii) posibles dianas de intervención terapéutica centradas en la utilización de agonistas de los PRRs, y TLRs en particular, para inducir la proliferación y/o diferenciación de células madre hacia fenotipos particulares de células maduras.

Durante los últimos años nuestro grupo está colaborando con otros grupos de investigación que tienen intereses científicos comunes, entre los que cabe destacar los siguientes:

- **JE O'Connor** (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universitat de València)
- **Jesús Pla** (Departamento de Microbiología II, Universidad Complutense de Madrid)
- **Thierry Jouault** (Université de Lille Nord de France, INSERM U995)
- **Nicolás Cuenca** (Departamento de Óptica, Farmacología y Anatomía, Universidad de Alicante)
- **Helen Goodridge** (Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA)

## PUBLICACIONES RELEVANTES EN LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS

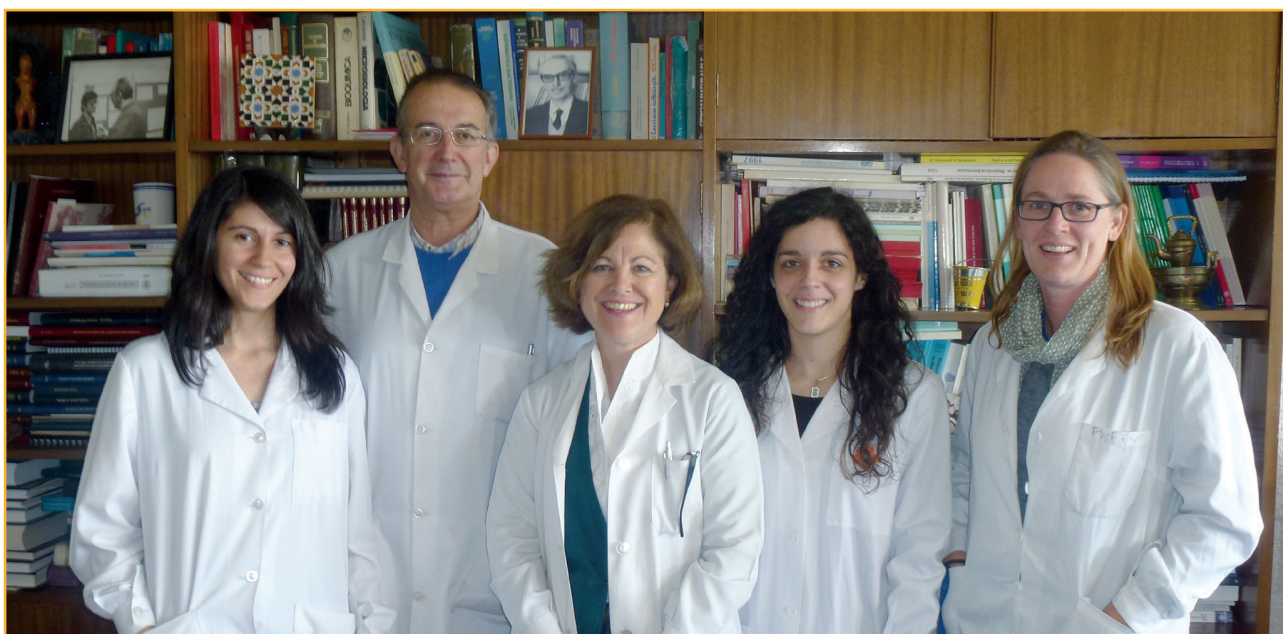
- Gozalbo D and Gil ML.** (2009) IFN-gamma in *Candida albicans* infections. *Front Biosci* 14: 1970-1978.
- Gil ML and Gozalbo D.** (2009) Role of Toll-like receptors in systemic *Candida albicans* infections. *Front Biosci* 14: 570-582.
- Yáñez A, Murciano C, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2009) *Candida albicans* triggers proliferation and differentiation of hematopoietic stem and progenitor cells by a MyD88-dependent signaling. *Microbes Infect* 11: 531-535.
- Yáñez A, Flores A, Murciano C, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2010) Signalling through TLR2/MyD88 induces differentiation of murine bone marrow stem and progenitor cells to functional phagocytes in response to *Candida albicans*. *Cell Microbiol* 12: 114-128.
- Yáñez A, Megías J, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2011) *Candida albicans* induces selective development of macrophages and monocyte derived dendritic cells by a TLR2 dependent signalling. *PLoS One* 6(9) e24761.
- Maneu V, Yáñez A, Murciano C, Molina A, Gil ML and Gozalbo D.** (2011) Dectin-1 mediates *in vitro* phagocytosis of *Candida albicans* yeast cells by retinal microglia. *FEMS Immunol Med Microbiol* 63:148-150.
- Megías J, Yáñez A, Moriano S, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML.** (2012) Direct Toll-like receptor-mediated stimulation of hematopoietic stem and progenitor cells occurs *in vivo* and promotes differentiation toward macrophages. *Stem Cells* 30: 1486-1495.
- Megías J, Maneu V, Salvador P, Gozalbo D and Gil ML.** (2012) *Candida albicans* stimulates *in vivo* differentiation of haematopoietic stem and progenitor cells towards macrophages by a TLR2-dependent signalling. *Cell Microbiol* 15: 1143-1153.
- Yáñez A, Goodridge HS, Gozalbo D and Gil ML.** (2013) TLRs control hematopoiesis during infection. *Eur J Immunol* 43: 2526-2533.
- Gómez-Vicente V, Flores A, Lax P, Murciano C, Yáñez A, Gil ML, Cuenca N, Gozalbo D and Maneu V.** (2013) Characterization of a new murine retinal cell line (MU-PH1) with glial, progenitor and photoreceptor characteristics. *Exp Eye Res.* 110:125-135.
- Yáñez A, Hassanzadeh-Kiabi N, Ng MY, Megías J, Subramanian A, Liu GY, Underhill DM, Gil ML and Goodridge HS.** (2013) Detection of a TLR2 agonist by hematopoietic stem and progenitor cells impacts the function of the macrophages they produce. *Eur J Immunol* 43: 2114-2125.
- Maneu V, Estévez MA, de Dios S, Gozalbo D, Gil ML and Megías J.** (2014). *In vitro* differentiation of murine hematopoietic progenitor cells toward the myeloid lineage occurs in response to *Staphylococcus aureus* and yeast species. *Microbial Pathogenesis*, in press.
- Gozalbo D, Maneu V, and Gil ML.** (2014) Role of IFN-gamma in immune responses to *Candida albicans* infections. *Front Biosci* 2014, 69: 9-12.

# Levaduras de interés industrial

José Martínez Peinado, María Isabel de Silóniz, Petra Wrent, Eva María Rivas y Elena Gil de Prado

Departamento de Microbiología III. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid

[peinado@bio.ucm.es](mailto:peinado@bio.ucm.es)



**Foto de grupo.** De izquierda a derecha. Eva María Rivas, José Martínez Peinado, María Isabel de Silóniz, Elena Gil de Prado y Petra Wrent.

El grupo de Microbiología Industrial comenzó su actividad hace 25 años cuando el profesor José Martínez Peinado, discípulo del Prof. Nico Van Uden (*IUBM Life* 64: 556-560, 2012) se incorporó al departamento como catedrático de Microbiología. Actualmente, el grupo está formado, además, por la Dra. M<sup>a</sup> Isabel de Silóniz, profesora titular del Departamento, y tres becarias predoctorales Petra Wrent, Eva María Rivas y Elena Gil de Prado. Su investigación se ha centrado en el aislamiento, identificación y clasificación de levaduras de interés industrial, así como en el estudio de las bases fisiológicas de su crecimiento y supervivencia. Estos estudios se han desarrollado con un

abordaje cuantitativo, lo que ha permitido la elaboración de modelos matemáticos para describir, analizar y predecir el comportamiento de las levaduras en esos ambientes industriales.

En la última década, la participación en el proyecto europeo AIR2.CT930830 «*Spoilage Yeasts in Food and Beverages: Characterization and Ecology for Diagnosis and Control*» determinó la dedicación preferencial del grupo a levaduras deteriorantes de alimentos, y específicamente a las especies más peligrosas pertenecientes al género *Zygosaccharomyces*, debido a su resistencia a conservantes como los ácidos benzoico o sórbico y a su

osmotolerancia. Nuestros estudios ayudaron a caracterizar y cuantificar la tolerancia a estos conservantes (*Int J Food Microbiol* 100: 125-130. 2005; *J Appl Microbiol* 98: 121-126. 2005). Estos estudios culminaron, en colaboración con el grupo de la Dra. Corte-Real, de la Universidade do Minho (Portugal), con la identificación de la apoptosis como el mecanismo subyacente a la muerte de las levaduras osmosensibles en alimentos con baja actividad de agua y la resistencia de las mitocondrias de *Zygosaccharomyces* a este proceso como la base de su osmotolerancia (*Mol Microbiol* 58: 824-834. 2005). Un aspecto muy importante en el control del deterioro de alimentos por levaduras es su detección precoz y exacta, a la que el carácter industrial de las muestras incorpora la necesidad de rapidez y economía en el diagnóstico. Hemos perseguido este objetivo desarrollando medios diferenciales cromogénicos, basados en la detección de actividades enzimáticas específicas, en géneros considerados previamente poco peligrosos, como *Debaryomyces* (*Encyclopedia of Food Microbiology* 563-570. 2014), pero que en ausencia de oxígeno producen una gran cantidad de CO<sub>2</sub> fermentativo (ver Fig. 1) (*J Food Protect* 68: 808-814. 2005). Nuestro diseño de métodos moleculares de identificación y tipado de cepas ha estado basado en un análisis extensivo de la región IGS del DNA ribosómico. Estos análisis han permitido la puesta a punto de métodos de identificación para especies de los géneros *Debaryomyces* (*FEMS Yeast Res* 5: 455-461. 2005; *Anton Leeuw Int J G* 90: 211-219. 2006) así como para el tipado de cepas del género *Zygosaccharomyces*, permitiendo agrupar, además, en diferentes clusters varios híbridos certificados de esta especie (*Int J Food Microbiol* 142: 89-96. 2010). Estos trabajos nos han permitido participar en la importante revisión taxonómica del género *Debaryomyces*, en la que se han tenido en cuenta los resultados contenidos en nuestras publicaciones para la



Figura 1. Alimento deteriorado por producción de gas fermentativo.

diferenciación de especies del género. En colaboración con el grupo de la Dra. Querol (IATA, Valencia) hemos podido identificar cepas peligrosas de una nueva especie, *C. cretensis*, perteneciente al complejo *Candida krusei* (*FEMS Yeast Res* 8: 485-491. 2008).

En el área de la modelización matemática de procesos microbianos industriales desarrollados por levaduras, nuestro grupo participa en un proyecto de producción de etanol a partir de residuos de algarroba con el grupo de la Dra. Lima-Costa de la Universidad del Algarve (*J Ind Microbiol Biot* 39: 789-797. 2012). También se colabora con el Grupo TAGRALIA de la ETSI Agrónomos de la U. Politécnica de Madrid en un proyecto integrado dentro del Campus de Excelencia Internacional Moncloa. La doctoranda E. Rivas tiene una beca doctoral PICATA asociada a este proyecto. El objetivo del proyecto es el desarrollo de modelos matemáticos, basados en datos microbiológicos, bioquímicos y de análisis de imagen que describan el crecimiento de levaduras sobre medios sólidos.

## PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO

- Leyva JS y Peinado JM.** (2005). ATP requirements for benzoic acid tolerance in *Zygosaccharomyces bailii*. *J Appl Microbiol* 98: 121-126.
- Lima Costa ME, Tavares C, Raposo S, Caiado D, Rodrigues B y Peinado JM.** (2012). Kinetics of sugars consumption and ethanol inhibition in carob pulp fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*, in batch and fed-batch cultures. *J Ind Microbiol Biot* 39: 789-797.
- Peinado JM y Leao C.** (2012). Nicolau Van Uden: a life with yeast (1921-1991). *IUBM Life* 64: 556-560.
- Quintas C, Leiva JS, Sotoca R, Loureiro Dias MC, Peinado JM.** (2005). A model of specific growth rate inhibition by weak acids in yeasts based on energy requirements. *Int J Food Microbiol* 100: 125-130.
- Quirós M, Martorell P, Querol A, Barrio E, Peinado JM y de Silóniz MI.** (2008). Four new *Candida cretensis* strains isolated from Spanish fermented sausages (chorizo): Taxonomic and phylogenetic implications. *FEMS Yeast Res* 8: 485-491.
- Quirós M, Martorell P, Valderrama MJ, Querol A, Peinado JM y de Silóniz MI.** (2006). PCR-RFLP analysis of the IGS region of rDNA: a useful tool for the practical discrimination between species of the genus *Debaryomyces*. *Anton Leeuw Int J G* 90: 211-219.
- Quirós M, Wrent P, Valderrama MJ, de Silóniz MI y Peinado JM.** (2005). A  $\beta$ -Glucuronidase- based agar medium for the differential detection of the yeast *Debaryomyces hansenii* from foods. *J Food Protect* 68: 808-814.
- Romero P, Patiño B, Quirós M, González-Jaén T, Valderrama MJ, de Silóniz MI, Peinado JM.** (2005). Differential detection of *Debaryomyces hansenii* isolated from intermediate-moisture foods by PCR-RFLP of the IGS region of rDNA. *FEMS Yeast Res* 5: 455-461.
- Silva RD, Sotoca R, Johansson B, Ludovico P, Sansonetty F, Silva MT, Peinado JM, Corte Real M.** (2005). Hyperosmotic stress induces metacaspase- and mitochondria-dependent apoptosis. *Mol Microbiol* 58: 824-834.
- Wrent P, Rivas EM, Gil de Prado E, Peinado JM y de Silóniz MI.** (2014). *Debaryomyces* in *Encyclopedia of Food Microbiology*, vol 1. Ed. Batt CA y Tortorello ML (eds). Elsevier Ltd, Academic Press, 563-570.
- Wrent P, Rivas EM, Peinado JM y de Silóniz MI.** (2010). Strain typing of *Zygosaccharomyces* yeast species using a single molecular method based of the intergenic spacer region (IGS). *Int J Food Microbiol* 142: 89-96.

# Homeostasis de cationes y tolerancia a estreses abióticos en levaduras

Rito Herrera<sup>1</sup>, María C. Alvarez<sup>1</sup>, Samuel Gelis<sup>1</sup>, Fernando Calero<sup>1</sup>, Ana Salazar<sup>1</sup>, Laura Suárez<sup>1</sup>, Noelia Morales<sup>2</sup>, Carmen Michán<sup>2</sup> y José Ramos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología y <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba

mitraruj@uco.es



**Foto de grupo.** De izquierda a derecha: José Ramos, Carmina Michán, Samuel Gelis, Tránsito García, Ulises Santana, María del Carmen Alvarez, Casimiro Barbado, Teresa Medina y Rito Herrera.

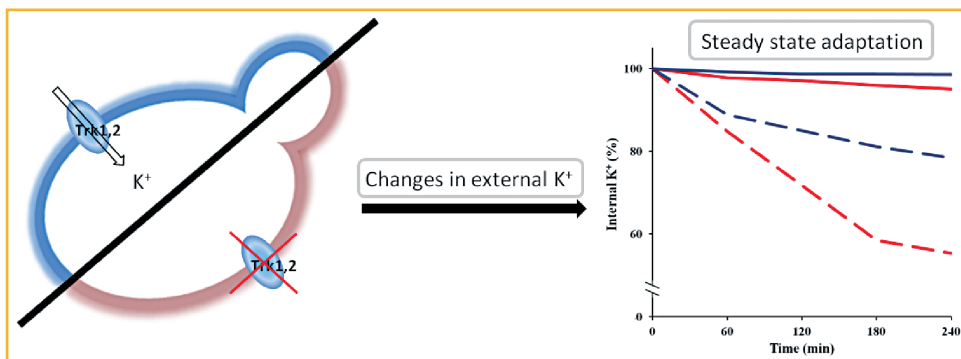
La regulación tanto de los contenidos como de los flujos de cationes es un proceso básico en la fisiología celular hasta el punto de que mutantes afectados en la homeostasis iónica presentan incapacidad de crecer o desarrollarse bajo múltiples condiciones ambientales. Nuestro grupo está interesado en el análisis de la homeostasis de potasio y sodio y de sus implicaciones en las respuestas a estreses abióticos como son el estrés salino y el oxidativo. Para ello utilizamos, además de la levadura modelo *Saccharomyces cerevisiae* (1), otras levaduras no-convencionales, que presentan múltiples peculiaridades y características específicas que las hacen de gran interés biotecnológico (2,3).

A continuación se resumen brevemente las diversas líneas de investigación que desarrolla el grupo:

- Procesos de señalización del transporte de potasio en *S. cerevisiae*. Función del transportador Trk1. Siguiendo aproximaciones bioquímica y proteómica hemos analizado la función del principal transportador de potasio de la membrana plasmática Trk1 en los procesos de adaptación a los niveles externos de potasio y hemos

estudiado los cambios principales en el proteoma en las cepas silvestre y mutante carente de dicha proteína. Por una parte hemos demostrado que la regulación de Trk1 no es suficiente para conseguir la homeostasis y que Trk1 no es esencial para conseguir la adaptación a cambios en los niveles externos del catión (4,5). Por otro lado estamos llevando a cabo toda una serie de trabajos comparando las características del proteoma de mutantes *trk* y de la cepa silvestre cuando crecen en diversas condiciones ambientales (6,7)

- Distribución intracelular de potasio y sodio en *S. cerevisiae* y *Debaryomyces hansenii*. Una correcta distribución subcelular de cationes permite la adaptación y supervivencia frente a situaciones límite como la escasez de potasio o el exceso de sodio. Nuestro grupo ha puesto a punto recientemente un protocolo que permite la determinación del contenido de cationes en los principales compartimentos celulares de *S. cerevisiae*. De esta manera hemos publicado que las vacuolas son el principal reservorio de potasio y



**Figura 1.** Homeostasis de potasio en una cepa silvestre y en un mutante de transporte (*trk1,2*) de *Saccharomyces cerevisiae*. Adaptación del contenido intracelular de potasio a cambios en el contenido externo.

sodio, que el citosol posee cantidades relativamente bajas de estos cationes (especialmente en el caso del sodio) y que el núcleo mantiene cantidades importantes y relativamente constantes tanto de potasio como de sodio en las diferentes condiciones estudiadas (8). Actualmente nos encontramos adaptando los protocolos utilizados al caso de la levadura de ambientes marinos e incluso de sodio *D. hansenii*.

- Peculiaridades del transporte de potasio en levaduras no convencionales: *Zygosaccharomyces rouxii* y *Hansenula polymorpha*. Aunque la mayor parte de los estudios sobre transporte de potasio han sido realizados con la levadura modelo *Saccharomyces*, esta levadura puede no ser el mejor modelo biológico. Como ejemplo, cabe mencionar que mientras que *S. cerevisiae* posee dos transportadores tipo TRK (Trk1 que es el principal y Trk2 que parece ser residual), *Z. rouxii* es de las pocas levaduras que solo poseen un transportador (TRK1) y *H. polymorpha* posee dos pero solo uno de la familia TRK (TRK1) y además posee uno adicional evolutivamente muy diferente (HAK1). La caracterización del transporte está en curso aunque ya hemos publicado un primer trabajo sobre la función de HpHAK1, trabajo en el que demostramos que esta proteína es el transportador de alta afinidad de potasio de la levadura *H. polymorpha* y que es degradado en la vacuola en un proceso que depende de una ubiquitina ligasa (9).
- Determinantes específicos de halotolerancia en *D. hansenii*. Como hemos mencionado anteriormente, *D. hansenii* es un organismo de ambientes salinos. En una línea de trabajo que estamos comenzando a desarrollar ahora, hemos identificado nuevos y específicos determinantes de halotolerancia en esta levadura. Nos proponemos caracterizar la función específica de estos determinantes y cuantificar la aportación concreta de cada uno de ellos al proceso.
- Solapamiento entre las rutas de respuesta a estrés salino y oxidativo en levaduras no convencionales. La supervivencia de las células depende de su capacidad para detectar alteraciones en el medio ambiente, y responder adecuadamente a estos cambios. En *D. hansenii* existen indicios de que la exposición a estrés salino tiene un efecto protector sobre el estrés oxidativo (10). Estamos analizando la posible existencia de

una ruta común a ambos tipos de estrés en *D. hansenii* y en la levadura no convencional y patógena *Candida albicans*. Hemos validado esta hipótesis mediante estudios de citotoxicidad y actualmente estamos caracterizando dicha ruta común tanto a nivel génico como enzimático. En un futuro nuestro objetivo es identificar los elementos reguladores comunes a ambas rutas mediante el uso de mutantes ya disponibles en *C. albicans* y la construcción de mutantes en sus posibles homólogos en *D. hansenii*.

## REFERENCIAS

1. Ariño J, Ramos J y Sychrova H. (2010). Alkali-metal cation transport and homeostasis in yeasts *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74: 95-120
2. Ramos J, Ariño J y Sychrova H. (2011). Alkali-metal-cation influx and efflux systems in nonconventional yeast species *FEMS Microbiol Lett.* 317:1-8
3. Zajc J, Kogej T, Galinski E, Ramos J y Gunde-Cimerman N. (2013). The osmoadaptation strategy of the most halophilic fungus *Walleriella ichthyophaga*, growing optimally at salinities above 15 % NaCl. *Appl. Environ. Microbiology* 80:247-256
4. Kahm M, Navarrete C, Llopis-Torregrosa V, Herrera R, Barreto L, Ariño J, Ramos J y Kschischo M. (2012). Potassium starvation in yeast: Mechanisms of homeostasis revealed by mathematical modeling. *PLOS Computational Biology* 8: e1002548
5. Herrera R, Álvarez MC, Gelis S, Sychrová H, Kschischo M y Ramos J. (2014). Role of *Saccharomyces cerevisiae* Trk1 in stabilization of intracellular potassium content up on changes in external potassium levels. *BBA-Biomembranes* 1838: 127-133
6. Curto M, Valledor L, Navarrete C, Gutiérrez D, Ramos J y Jorrín, J. (2010). 2-DE based proteomic analysis of *Saccharomyces cerevisiae* wild and K<sup>+</sup> transport-affected mutant (*trk1,2*) strains at the growth exponential and stationary phases. *J. Proteomics* 73: 2316-2335
7. Gelis S, Curto M, Valledor L, González A, Ariño J, Jorrín J y Ramos J. (2012). Adaptation to potassium starvation of wild type and K<sup>+</sup>-transport mutant (*trk1,2*) of *Saccharomyces cerevisiae*: 2-DE based proteomic approach. *Microbiology Open* 1: 182-193
8. Herrera R, Alvarez MC, Gelis S y Ramos J. (2013). Subcellular potassium and sodium distribution in *Saccharomyces cerevisiae* wild type and vacuolar mutants. *Biochemical Journal* 454: 525-532
9. Cabrera E, Álvarez MC, Martín Y, Siverio JM y Ramos J. (2012). K<sup>+</sup> uptake systems in the yeast *Hansenula polymorpha*. Transcriptional and post-translational mechanisms involved in high-affinity K<sup>+</sup> transporter regulation. *Fungal Genetics Biology* 49: 755-763
10. Michán C, Martínez JL, Alvarez MC, Turk M, Sychrova H y Ramos J. (2013). Salt anoxidative stress tolerance in *Debaryomyces hansenii* and *Debaryomyces fabryi*. *FEMS Yeast Research* 13: 180-188



# Hongos productores de Micotoxinas

## Detección y control

Covadonga Vázquez, M<sup>a</sup> Teresa González-Jaén, Jéssica Gil-Serna, María Arias,  
Alejandra Cruz, Rocío García-Rubio y Belén Patiño

Departamentos de Microbiología III y Genética. Universidad Complutense de Madrid

covi@ucm.es



**Foto grupo.** De izquierda a derecha: Jéssica Gil Serna, Covadonga Vázquez Estévez, Rocío García Rubio, Belén Patiño Álvarez, María Teresa González Jaén, María Arias Martín, Alejandra Cruz Varona.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos que habitualmente se encuentran contaminando gran variedad de productos alimentarios. Cuando las condiciones son favorables para su proliferación, los hongos se desarrollan en los alimentos y producen estos compuestos lo que supone un grave riesgo para la seguridad alimentaria. En los países desarrollados no suelen producirse intoxicaciones agudas derivadas del consumo de materias primas con altos niveles de micotoxinas. Sin embargo es frecuente su ingestión a niveles muy bajos durante periodos de tiempo prolongado lo que lleva a la aparición de efectos crónicos que se manifiestan principalmente por su acción a nivel de sistema inmunitario y el desarrollo de distintos tipos de cáncer (esófago, hígado y riñón, entre otros). La Unión Europea ha desarrollado una regulación estricta al respecto, estableciendo niveles máximos de las micotoxinas más importantes permitidos en

una gran variedad de productos para el consumo humano incluyendo cereales y derivados, uvas y derivados, café, frutos secos, especias, con especial atención a los productos infantiles (Reglamentos 1881/2006, 1126/2007, 105/2010, 165/2010).

La contaminación de los productos con micotoxinas supone, en consecuencia, elevadas pérdidas económicas cada año tanto para el sector agrícola como ganadero. Hasta el momento, no se dispone de métodos efectivos para la descontaminación de los alimentos y los lotes detectados que superan los límites marcados por la normativa tienen que ser descartados. En algunos casos, los productos se destinan a alimentación animal lo que produce enfermedad en el ganado disminuyendo su producción tanto para carne como para leche, afectando además a la reproducción animal.

El grupo de Micotoxinas de la Universidad Complutense de Madrid lleva más de quince años centrado en el estudio



**Figura 1.** Crecimiento de *Aspergillus parasiticus* tras 6 días de incubación en presencia de distintas concentraciones de extractos vegetales. De izquierda a derecha: Control, 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm.

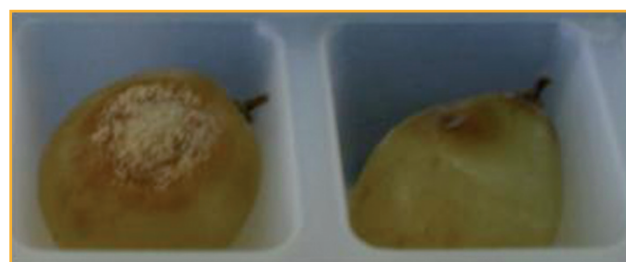
de la biología y la genética de los hongos productores de micotoxinas y desarrollando métodos para la detección y el control de estos compuestos en los alimentos. El equipo está compuesto por investigadoras de los departamentos de Microbiología III y Genética de la Facultad de Biología y dirigido por las Dras Covadonga Vázquez, María Teresa González-Jaén y Belén Patiño. Este grupo ha contado siempre con financiación (2 proyectos Europeos, 7 nacionales, 7 de la Comunidad de Madrid, 4 de la Universidad Complutense), y varios contratos con empresas (Norel, S.A., Ministerio de Defensa, estación la Marañosa). El grupo tiene numerosas colaboraciones con los principales grupos de micotoxinas y hongos toxígenos españoles y extranjeros de Universidades y Centros de investigación. Asimismo, la vertiente aplicada de varios de nuestros estudios ha propiciado la colaboración con instituciones, centros y empresas (MAGRAMA, ITACYL, IFAPA, IRTA etc). En nuestro grupo se han dirigido 8 Tesis Doctorales en este campo, las más recientes con mención europea y todos los Doctores que se han formado en nuestro grupo continúan realizando tareas de investigación contratados en diferentes organismos: Edinburgh Infectious Diseases, University of Edinburgh, University of Bern, UCM, USDA (USA), Centro de Astrobiología de Madrid, Universidad Politécnica de Madrid y Museo de Ciencias Naturales de Madrid, entre otros.

Las líneas de investigación que desarrollamos se centran en varios aspectos:

- 1. Desarrollo de métodos rápidos para la detección y cuantificación de hongos toxígenos.** La detección temprana de especies productoras de micotoxinas es imprescindible para evitar la contaminación de los alimentos con micotoxinas. La presencia de determinadas especies en las materias primas puede llevarnos a proponer medidas de control más restrictivas para impedir que éstos sean capaces de producir micotoxinas durante el procesado y el almacenamiento de los productos. En el grupo de Micotoxinas de la UCM hemos puesto a punto técnicas sensibles de detección molecular basadas en PCR para la detección e identificación de las principales especies productoras de aflatoxinas (*Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*), ocratoxina A (OTA) (*A. niger*, *A. carbonarius*, *A. westerdijkiae*, *A. steynii* y

*A. ochraceus*), fumonisinas (*Fusarium proliferatum* y *F. verticillioides*) y tricotecenos (*F. graminearum*, *F. culmorum* y *F. equiseti*). Además, hemos desarrollado ensayos de PCR cuantitativa a tiempo real que permitan no solo detectar las especies sino también cuantificar los niveles de contaminación directamente en las matrices alimentarias.

- 2. Identificación de los genes relacionados con la biosíntesis de toxinas y de factores ambientales implicados en su regulación.** El control genético de la síntesis de las micotoxinas se ha empezado a conocer recientemente en algunas especies. En este aspecto nuestro grupo ha colaborado activamente y ha desarrollado ensayos de detección y cuantificación de su expresión, se ha comprobado que la regulación de la biosíntesis de varias de las toxinas se realiza básicamente a nivel transcripcional y se han identificado factores ecofisiológicos implicados en la regulación de su síntesis.
- 3. Efecto del cambio climático sobre la capacidad toxígena de las principales especies productoras de micotoxinas.** Los cambios en los patrones climáticos están siendo muy evidentes en los últimos años. El aumento de la temperatura y la humedad afecta de manera muy significativa al crecimiento y la capacidad de producir micotoxinas de los hongos por lo que es muy importante conocer el comportamiento de las distintas especies a estos cambios para poder predecir cuál será el riesgo de contaminación en los años veni-



**Figura 2.** Lesión producida por *Aspergillus westerdijkiae* en uvas contaminadas sólo con hongo (izquierda) o con hongo y el agente de biocontrol *Debaryomyces hansenii* CYC 1244 (derecha).



**Figura 3.** Proliferación de *Aspergillus carbonarius* en uvas contaminadas artificialmente. En la foto se muestran uvas control inoculadas sólo con hongo (derecha) o con hongo y 300 ppm de extracto vegetal (izquierda).

deros. El conocimiento de factores ecofisiológicos que determinan el margen donde se producen las micotoxinas, nos permite predecir el comportamiento de cepas en relación con el cambio climático y conocer el reemplazamiento de determinadas especies. En nuestro laboratorio hemos estudiado las condiciones marginales de crecimiento y producción de micotoxinas de *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. steynii*, *A. westerdijkiae*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum* y *F. graminearum* entre otros.

#### 4. Desarrollo de métodos de control alternativos

Evitar el desarrollo de los hongos en los productos se ha considerado siempre el método más eficaz para evitar la contaminación por micotoxinas. Tradicionalmente, para este propósito se han utilizado productos químicos fungicidas tanto en el campo como durante el almacenamiento de los alimentos. Sin embargo, en los últimos años, se ha limitado mucho el uso de estos compuestos ya que se ha visto que ocasionan graves problemas para el medio ambiente y la salud humana y se ha establecido una normativa muy estricta con respecto a su uso (Reglamentos 396/2005 y 299/2008). Por tanto, el desarrollo de métodos alternativos a estos fungicidas es muy necesario y en nuestro grupo nos hemos centrado en dos aspectos principales.

##### - Compuestos naturales como antifúngicos.

Hemos evaluado distintos compuestos antioxidantes y extractos naturales de plantas sobre la capacidad de crecer y producir micotoxinas en distintas especies productoras de OTA y aflatoxinas. Los resultados obtenidos han descartado la utilización de antioxidantes como aditivos alimentarios ya que únicamente son efectivos a unas concentraciones muy altas no permitidas por la normativa. Sin embargo, los extractos han mostrado una interesante capacidad antifúngica y antimicotoxígena frente a las especies.

##### - Control biológico.

Desde hace décadas, el uso de microorganismos antagonistas ha demostrado ser

muy efectivo para el control de hongos tóxicos. La investigación desarrollada en nuestro grupo se ha centrado en la selección de levaduras inocuas como posibles agentes de control biológico para reducir el crecimiento y la producción de micotoxinas en hongos aflatoxígenos y ocratoxígenos. En este contexto, se han seleccionado dos cepas de levaduras de las especies *Debaryomyces hansenii* y *Wickerhamomyces anomalus* que han demostrado ser efectivas ya que pueden afectar al crecimiento del hongo y reducen la concentración de OTA presente en el medio de cultivo.

## PUBLICACIONES

- Gil-Serna J, Vázquez C, García Sandino F, Márquez, A, González-Jaén MT y Patiño B. (2014). Evaluation of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus steynii* and *Aspergillus westerdijkiae* in green-coffee based medium under different environmental conditions. *Food Res Int* (en prensa).
- Mirete S, Patiño B, Jurado M, Vázquez C, y González-Jaén MT. (2013). Structural variation and dynamics of the nuclear ribosomal intergenic spacer region in key members of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Genome* 56:205-213.
- Marín P, de Ory A, Cruz A, Magan N y González-Jaén MT (2013) Potential effects of environmental conditions on the efficiency of the antifungal tebuconazole controlling *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* growth rate and fumonisin biosynthesis. *Int J Food Microbiol* 165:251-258.
- Cruz A, Marín P, González-Jaén MT, Aguilar KGI y Cumagun CJR. (2013). Phylogenetic analysis, fumonisin production and pathogenicity of *Fusarium fujikuroi* strains isolated from rice in the Philippines. *J Sci Food Agric* 93: 3032-3039.
- Gil-Serna J, Mateo E, González-Jaén MT, Jiménez M, Vázquez C y Patiño B. (2013) Contamination of barley seeds with *Fusarium* species and their toxins in Spain: an integrated approach. *Food Addit Contam* 30:372-380.
- Marín P, Moretti A, Ritieni A, Jurado M, Vázquez C y González-Jaén MT. (2012). Phylogenetic analyses and toxigenic profiles of *Fusarium equiseti* and *Fusarium acuminatum* isolated from cereals from Southern Europe. *Food Microbiol* 31: 229-237.
- Gil-Serna J, Patiño B, Cortés L, González-Jaén MT y Vázquez C. (2011) Mechanisms involved in reduction of ochratoxin A produced by *Aspergillus westerdijkiae* using *Debaryomyces hansenii* CYC 1244. *Int J Food Microbiol* 151:113-118.
- Mateo E, Gil-Serna J, Patiño B y Jiménez M. (2011) Aflatoxins and ochratoxin A in stored barley grain in Spain and impact of PCR-based strategies to assess the occurrence of aflatoxigenic and ochratoxigenic *Aspergillus* spp. In *J Food Microbiol* 149:118-126.
- Sardiñas N, Gil-Serna J, Santos L, Ramos A, González-Jaén MT, Patiño B y Vázquez C. (2011) Detection of potentially mycotoxigenic *Aspergillus* species in capsicum powder by a highly sensitive assay. *Food Cont* 22:1363-1366.
- Sardiñas N, Vázquez C, Gil-Serna J, González-Jaén MT y Patiño B. (2011) Specific detection and quantification of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in wheat flour by SYBR® Green quantitative PCR. *Int J Food Microbiol* 145:121-125.
- Gil-Serna J, Vázquez C, Sardiñas N, González-Jaén MT y Patiño B. (2011) Revision of ochratoxin A production capacity by the main species of *Aspergillus* section Circumdati. *Aspergillus steynii* revealed as the main risk of OTA contamination. *Food Cont* 22:343-345.

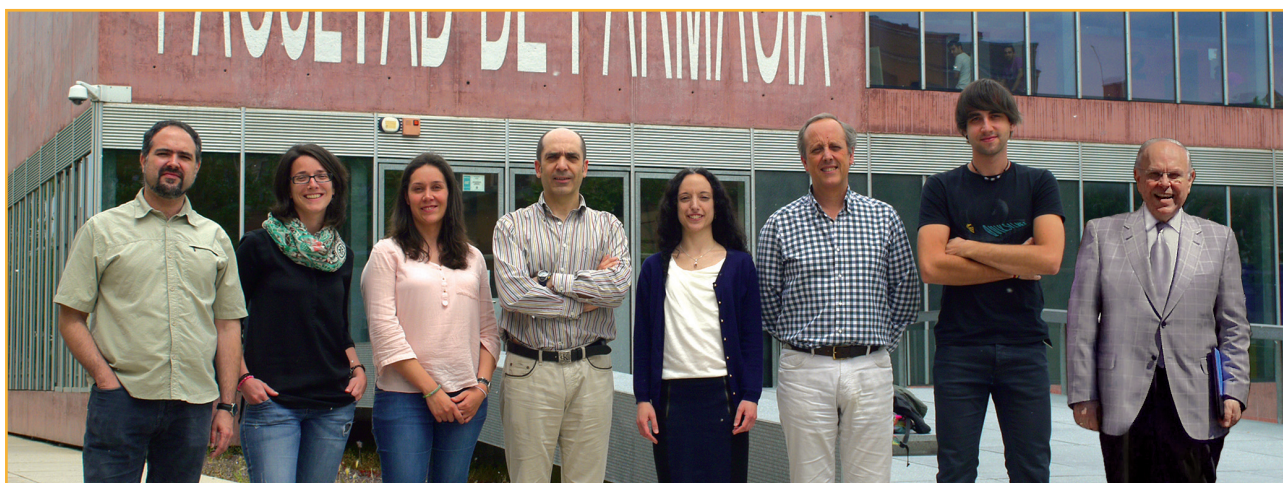
# Genómica Funcional de Levaduras

## Reguladores, efectores y rutas de señalización implicadas en la integridad celular

Raúl García, A. Belén Sanz, Sonia Díez-Muñiz, Enrique Bravo, Victoria Mascaraque, José Manuel Rodríguez-Peña, César Nombela y Javier Arroyo

Depart. de Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

jarroyo@ucm.es



**Foto de grupo.** Algunos miembros del grupo Grupo UCM-920640 (Genómica Funcional de Levaduras y Hongos). De izquierda a derecha: Raúl García, A. Belén Sanz, Sonia Díez-Muñiz, José Manuel Rodríguez-Peña, Victoria Mascaraque, Javier Arroyo, Enrique Bravo y César Nombela.

**N**uestro grupo (Grupo UCM-920640: Genómica Funcional de Levaduras y Hongos) posee una larga trayectoria de investigación en biología molecular y genómica funcional de levaduras y en particular en la caracterización de los procesos que regulan la integridad de la pared celular y la morfogénesis en *Saccharomyces cerevisiae*.

El principal objetivo de nuestra investigación se centra en la caracterización de nuevos elementos genéticos y mecanismos moleculares relevantes para la biogénesis y construcción de la pared celular fúngica, las rutas de transducción de señales que regulan el mantenimiento de la integridad de esta estructura, así como la maquinaria transcripcional necesaria para regular la expresión génica en respuesta a situaciones de estrés que comprometen la integridad celular.

Nuestro grupo también ha tenido un papel importante en el desarrollo de infraestructuras genómicas en el entorno de la Universidad Complutense (Javier Arroyo es Director del Centro de Genómica y Proteómica UCM/PCM; César Nombela es Director de la Cátedra Extraordinaria de Genómica y Proteómica UCM) y de proyectos de secuenciación y caracterización funcional de genomas fúngicos.

### RESPUESTAS DE ADAPTACIÓN A SITUACIONES DE ESTRÉS SOBRE LA PARED CELULAR

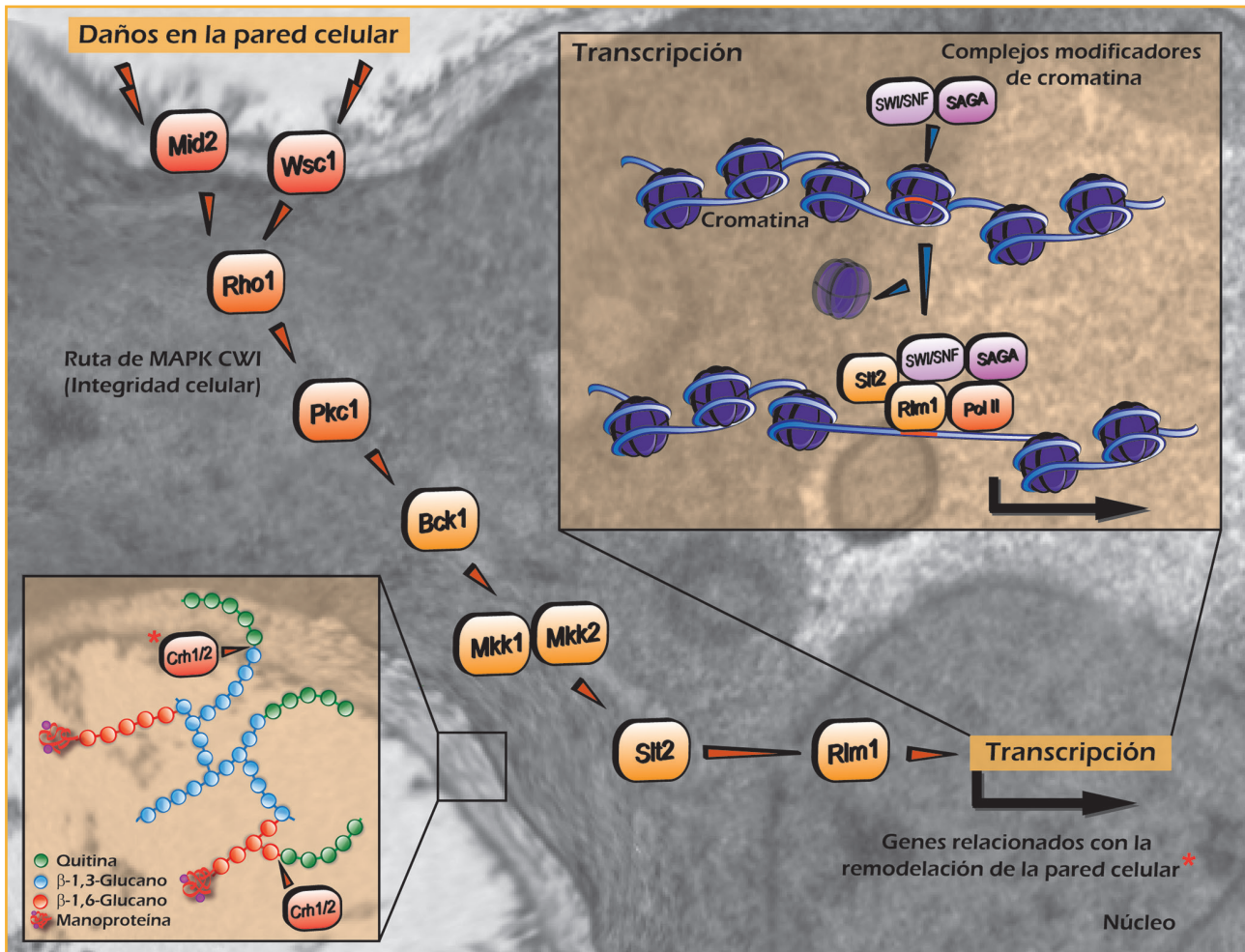
La pared celular fúngica es una estructura esencial, tanto para el mantenimiento de la morfología celular, como para

la protección de la célula frente a las diversas condiciones adversas del medio externo. Por ello, en situaciones de estrés que afectan a la integridad de esta estructura se induce, en *S. cerevisiae*, una respuesta transcripcional que tiene como consecuencia la remodelación de su pared celular, permitiendo a la célula sobrevivir en estas circunstancias. Nuestro laboratorio ha sido pionero en la caracterización de estas repuestas inducidas, tanto por drogas que interfieren con la construcción de la pared celular, como por mutaciones en genes importantes para su integridad (Arroyo *et al.*, 2009; Arroyo *et al.*, 2011; García *et al.*, 2004; García *et al.*, 2009). Estas repuestas implican principalmente genes relacionados con la remodelación de la pared celular, estrés, metabolismo y transducción de señales (Arroyo *et al.*, 2009).

La ruta de integridad celular o ruta CWI (Figura 1), mediada por la MAPK Slt2, a través del factor de transcripción Rlm1 y de distintos sensores dependiendo del tipo de daño, es la principal responsable de la de la activación

de estas repuestas transcripcionales (Arroyo *et al.*, 2009; Bermejo *et al.*, 2010; García *et al.*, 2004; Sanz *et al.*, 2012). Sin embargo, otras rutas de señalización por MAPK están también implicadas. Así, las repuestas de adaptación al estrés sobre la pared celular mediadas por actividades que degradan la red de  $\beta$ -1,3 glucano requieren de una conexión entre la ruta HOG (alta osmolaridad) y la ruta CWI (Bermejo *et al.*, 2008; García *et al.*, 2009; Rodríguez-Peña *et al.*, 2013; Rodríguez-Peña *et al.*, 2010).

Dado que estas repuestas se disparan en presencia de antifúngicos inhibidores de  $\beta$ -1,3-glucan-sintasa, la caracterización de los mecanismos moleculares implicados es fundamental, no solo para entender procesos biológicos básicos sobre la dinámica de la pared, sino para identificar potenciales dianas terapéuticas con la posibilidad de combinar terapias sinérgicas utilizando inhibidores de la síntesis de  $\beta$ -1,3-glucano, junto con fármacos que inhiban los mecanismos de adaptación. Además, la señalización



**Figura 1.** Respuestas de adaptación a través de la ruta CWI. La activación de la MAPK Slt2 induce la activación del factor de transcripción Rlm1 que recluta a los promotores de los genes regulados los complejos Swi/Snf y SAGA necesarios para la activación transcripcional. Una de las proteínas efectoras es Crh1, que junto con Crh2, es responsable de la unión covalente de la quitina al  $\beta$ -1,3 y al  $\beta$ -1,6 glucano en la pared celular.

mediada por la MAPK humana ERK5, ortólogo de Slr2, es clave en procesos de proliferación celular y en el desarrollo cardiovascular, lo que hace de esta ruta de señalización una diana altamente atractiva para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

### CONTROL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA A TRAVÉS DE LA RUTA DE MAPK DE INTEGRIDAD CELULAR (CWI)

La activación de la transcripción en situaciones de estrés es un proceso complejo que depende, no solo de los factores de transcripción regulados por las MAPKs, sino de la necesidad de remodelar la cromatina. El desarrollo de *screenings* transcripcionales, utilizando la colección completa de mutantes de *S. cerevisiae*, nos ha permitido identificar genes necesarios para la activación transcripcional a través de la ruta CWI, tanto en condiciones basales (Arias *et al.*, 2011) como en condiciones de estrés (Sanz *et al.*, 2012). Así, el complejo remodelador SWI/SNF y el acetilador de histonas SAGA participan en la regulación de la expresión génica a través de esta ruta. Swi/Snf es reclutado en condiciones de estrés por el factor de transcripción Rlm1 a las regiones promotoras de los genes regulados, donde promueve la desorganización de nucleosomas necesaria para que se produzca una respuesta adecuada (Sanz *et al.*, 2012). En estas condiciones, también se produce el reclutamiento de SAGA a estos promotores, siendo necesaria una colaboración entre ambos complejos (Figura 1).

### LAS PROTEÍNAS CRH Y EL «CROSSLINKING» QUITINA-GLUCANO EN LA PARED CELULAR

Uno de los principales efectos de estas respuestas de adaptación es la remodelación de la pared celular a través de proteínas efectoras. En el contexto de una colaboración científica desarrollada en los últimos años con los grupos del Dr. Enrico Cabib (NIDDK, NIH, Bethesda, MA, USA) y Vladimír Farkas (Academy of Sciences, Slovakia), hemos identificado y caracterizado funcionalmente la primera familia de proteínas fúngicas implicadas en el «crosslinking» entre polisacáridos de la pared celular, la familia Crh. Estas proteínas, Crh1 y Crh2, participan en el entrecruzamiento de dos polímeros esenciales de la pared: la quitina y el glucano (Figura 1). Hemos demostrado la actividad bioquímica transglicosilasa quitina-glucano de estas proteínas, tanto *in vivo* como *in vitro* (Cabib *et al.*, 2007; Cabib *et al.*, 2008; Mazan *et al.*, 2013). Esta actividad se induce en condiciones de estrés. En ausencia de Crh1 y Crh2, la quitina que se produce en las células no puede unirse covalentemente ni al  $\beta$ -1,3 ni al  $\beta$ -1,6 glucano, lo que conlleva problemas en la estabilidad de la pared. El correcto funcionamiento de este entrecruzamiento es necesario, no solo para el mantenimiento de la integridad celular en condiciones de estrés, sino para un perfecto ensamblaje de los componentes de la pared celular a lo largo del ciclo y la morfogénesis de la levadura (Blanco *et al.*, 2012; Cabib and Arroyo, 2013).

### PUBLICACIONES

- Arias P, Díez-Muñiz S, García R, Nombela C, Rodríguez-Peña JM y Arroyo J. (2011). Genome-wide survey of yeast mutations leading to activation of the yeast cell integrity MAPK pathway: novel insights into diverse MAPK outcomes. *BMC Genomics*. 12: 390.
- Arroyo J, Bermejo C, García R y Rodríguez-Peña JM. (2009). Genomics in the detection of damage in microbial systems: cell wall stress in yeast. *Clin Microbiol Infect*. 15 Suppl 1: 44-46.
- Arroyo J, Hutzler J, Bermejo C, Ragni E, García-Cantalejo J, Botías P, Piberger H, Schott A, Sanz AB y Strahl S. (2011). Functional and genomic analyses of blocked protein O-mannosylation in baker's yeast. *Mol Microbiol*. 79: 1529-1546.
- Bermejo C, García R, Straede A, Rodríguez-Peña JM, Nombela C, Heinisch JJ y Arroyo J. (2010). Characterization of sensor-specific stress response by transcriptional profiling of *wsc1* and *mid2* deletion strains and chimeric sensors in *Saccharomyces cerevisiae*. *OMICS*. 14: 679-688.
- Bermejo C, Rodríguez E, García R, Rodríguez-Peña JM, Rodríguez de la Concepción ML, Rivas C, Arias P, Nombela C, Posas F y Arroyo J. (2008). The sequential activation of the yeast HOG and SLT2 pathways is required for cell survival to cell wall stress. *Mol Biol Cell*. 19: 1113-1124.
- Blanco N, Reidy M, Arroyo J y Cabib E. (2012). Cross-links in the cell wall of budding yeast control morphogenesis at the mother-bud neck. *J Cell Sci*. 125: 5781-5789.
- Cabib E y Arroyo J. (2013). How carbohydrates sculpt cells: chemical control of morphogenesis in the yeast cell wall. *Nat Rev Microbiol*. 11: 648-655.
- Cabib E, Blanco N, Grau C, Rodríguez-Peña JM y Arroyo J. (2007). Crh1p and Crh2p are required for the cross-linking of chitin to beta(1-6) glucan in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Mol Microbiol*. 63: 921-935.
- Cabib E, Farkas V, Kosik O, Blanco N, Arroyo J y McPhie P. (2008). Assembly of the yeast cell wall. Crh1p and Crh2p act as transglycosylases *in vivo* and *in vitro*. *J Biol Chem*. 283: 29859-29872.
- García R, Bermejo C, Grau C, Perez R, Rodríguez-Peña JM, Francois J, Nombela C y Arroyo J. (2004). The global transcriptional response to transient cell wall damage in *Saccharomyces cerevisiae* and its regulation by the cell integrity signaling pathway. *J Biol Chem*. 279: 15183-15195.
- García R, Rodríguez-Peña JM, Bermejo C, Nombela C y Arroyo J. (2009). The high osmotic response and cell wall integrity pathways cooperate to regulate transcriptional responses to zymolyase-induced cell wall stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*. 284: 10901-10911.
- Mazan M, Blanco N, Kovacova K, Firakova Z, Rehulka P, Farkas V y Arroyo J. (2013). A novel fluorescence assay and catalytic properties of Crh1 and Crh2 yeast cell wall transglycosylases. *Biochem J*. 455: 307-318.
- Rodríguez-Peña JM, Díez-Muñiz S, Bermejo C, Nombela C y Arroyo J. (2013). Activation of the yeast cell wall integrity MAPK pathway by zymolyase depends on protease and glucanase activities and requires the mucin-like protein Hkr1 but not Msb2. *FEBS Lett*. 587: 3675-3680.
- Rodríguez-Peña JM, García R, Nombela C y Arroyo J. (2010). The high-osmolarity glycerol (HOG) and cell wall integrity (CWI) signalling pathways interplay: a yeast dialogue between MAPK routes. *Yeast*. 27: 495-502.
- Sanz AB, García R, Rodríguez-Peña JM, Díez-Muñiz S, Nombela C, Peterson CL y Arroyo J. (2012). Chromatin remodeling by the SWI/SNF complex is essential for transcription mediated by the yeast cell wall integrity MAPK pathway. *Mol Biol Cell*. 23:2805-2817.

# Candidiasis y otras infecciones humanas asociadas a biopelículas microbianas

Guillermo Quindós

Unidad de Formación e Investigación «Microbios y Salud» (UFI11/25 MYS), Laboratorio de Micología Médica, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU). Bilbao



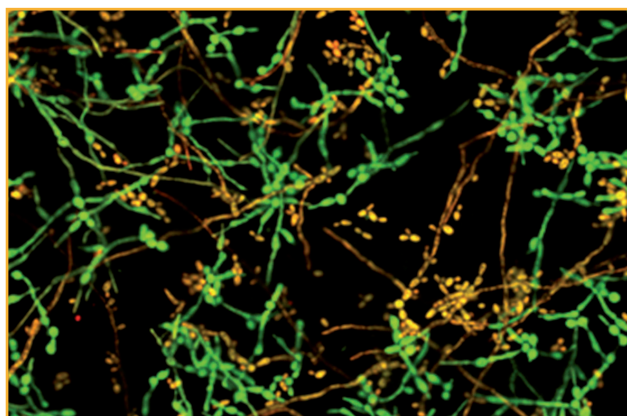
guillermo.quindos@ehu.es



**Foto de grupo.** Algunos de los componentes del grupo. De pie (de izquierda a derecha): Juan Daniel Carton, Marcelo Ortega, Iker De la Pinta, Elena Eraso, Guillermo Quindós, Janire Suárez, Ainara Hernando, Desirée Santano y Katherine Miranda. Sentadas (de izquierda a derecha): Carmen Alonso, Camino Trobajo, Cristina Marcos, Nerea Jauregizar, Sandra Gil y Estibaliz Mateo.

Nuestro grupo de investigación comenzó a desarrollar su labor investigadora en el campo de las micosis humanas en 1990 en el Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), con un interés especial en el estudio de la patogenia de las candidiasis, su diagnóstico y tratamiento. Nuestro equipo multidisciplinar está considerado como Grupo de Investigación Consolidado del Sistema Universitario Vasco GIC12 210-IT-696-13 y está formado por profesores e investigadores de los Departamentos de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Farmacología, Medicina Preventiva y Salud Pública, y Medicina, entre los que están Guillermo Quindós (Catedrático de Microbiología), Elena Eraso (Profesora Titular de Microbio-

logía), Nerea Jauregizar (Profesora Agregada de Farmacología), Miguel Montejo (Profesor Titular de Medicina), Lucila Madariaga (Profesora Titular de Microbiología), Estibaliz Mateo (Profesora Agregada Interina de Microbiología), Carlos Rodríguez (Profesor Titular de Medicina Preventiva), Cristina Marcos (Doctora en Bioquímica), Ilargi Miranda (Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos), Juan José Iglesias (Licenciado en Medicina), Guillermo Ezpeleta (Licenciado en Medicina), Aketza Varona (Licenciado en Biología), Marcelo Ortega (Licenciado en Tecnología Médica), Janire De la Torre (Licenciada en Odontología), Sandra Gil (Licenciada en Farmacia), Leyre López Soria (Licenciada en Medicina), Iker De la Pinta (Licenciado en Biología), Camino Trobajo (Licenciada en Biología y Bioquímica) y Juan Daniel Carton (Licenciado en Biología).



**Figura 1.** Biopelícula mixta de *Candida albicans* (verde) y *Candida tropicalis* (naranja). Microscopía confocal.

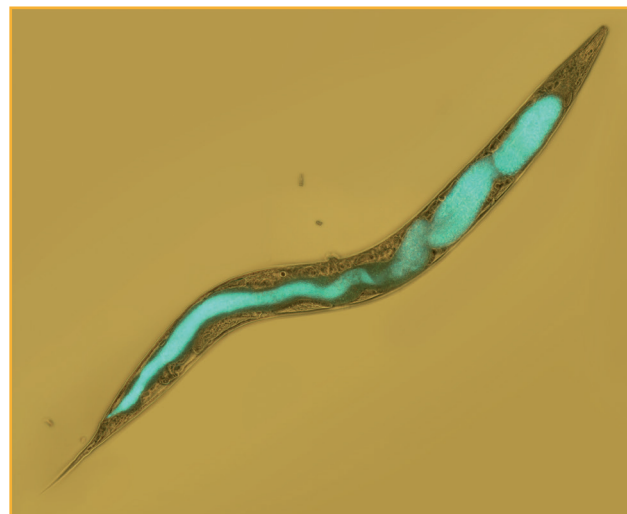
El equipo se estructura en tres líneas de investigación «Epidemiología, patogenia y diagnóstico de las candidiasis y otras infecciones asociadas a biopelículas», «Modelos in vivo para el estudio de la patogenia y la sensibilidad a fármacos antimicrobianos de *Candida* y de otros patógenos (Elena Eraso)» y «Modelos farmacocinéticos/farmacodinámicos in vitro para determinar y predecir la eficacia de los fármacos antimicrobianos contra especies emergentes de *Candida* y de otros patógenos (Nerea Jauregizar)».

El objetivo principal es ampliar el conocimiento de la patogenia de las candidiasis y otras infecciones asociadas a biopelículas. Como objetivos secundarios destacan:

1. Ampliar el conocimiento sobre la epidemiología de las candidiasis y de otras infecciones asociadas al desarrollo de biopelículas.
2. Profundizar en el conocimiento de la patogenia de las infecciones asociadas biopelículas.
3. Mejorar y desarrollar tecnologías que permitan realizar un diagnóstico rápido y correcto de estas enfermedades.
4. Evaluar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los antimicrobianos, las bases moleculares de la resistencia microbiana y la búsqueda de alternativas preventivas y terapéuticas que mejoren el pronóstico de estas infecciones.

### CANDIDIASIS Y OTRAS INFECCIONES ASOCIADAS A MATERIALES BIOMÉDICOS

Las candidiasis son cada vez más frecuentes, en pacientes con inmunodeficiencia, situaciones médicas críticas o edades extremas. Estas enfermedades causan una alta mortalidad y se han convertido en un grave problema de salud. Se estima que el 5 % de los pacientes hospitalizados va a desarrollar una infección y que entre el 3 y el 6 % de estas infecciones será una candidiasis invasora. La tasa de mortalidad atribuible oscila entre el 22 y el 33 %, pudiendo llegar a ser del 71 % en enfermos inmunodeficientes. *Candida*

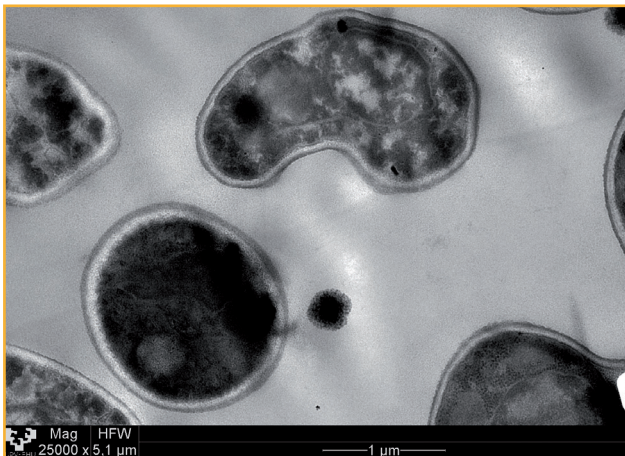


**Figura 2.** *Caenorhabditis elegans* infectado con *Candida albicans*. Microscopía de contraste de fases y epifluorescencia.

*albicans* es la especie etiológica predominante pero se está observando una disminución de su frecuencia y un aumento de otras especies, como *C. parapsilosis* y *C. glabrata*. Nuestro grupo ha participado en varios de los estudios multicéntricos que se han desarrollado en España para conocer los cambios epidemiológicos de las micosis invasoras. Muchas de las candidiasis más severas y recalcitrantes al tratamiento están asociadas a la colonización y formación de biopelículas en catéteres y prótesis. *C. albicans* y *C. parapsilosis* poseen una gran capacidad de adherirse a células y catéteres u otros materiales biomédicos y de producir biopelículas. La gravedad de estas micosis se incrementa con la presencia de resistencias microbiológicas en determinadas especies, como *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* o *C. lusitaniae*, lo que hace necesario un diagnóstico temprano que permita la instauración precoz del tratamiento antifúngico adecuado. La formación de biopelículas fúngicas y la forma de vida celular sésil influye en el desarrollo de características fenotípicas y expresiones génicas diferentes de las de las células de vida libre o planctónica. Las células de vida sésil de las biopelículas presentan una sensibilidad reducida a los fármacos antimicrobianos y a los mecanismos defensivos específicos e inespecíficos del paciente.

El diagnóstico de las micosis invasoras continúa siendo un difícil reto, sobre todo por la escasa especificidad de las manifestaciones clínicas, la inexistencia de hallazgos radiológicos patognomónicos y la baja sensibilidad y lentitud de los métodos microbiológicos. Las limitaciones inherentes y la escasa sensibilidad de los métodos de diagnóstico microbiológico tradicionales implican un retraso diagnóstico que muchas veces posterga la instauración del tratamiento antifúngico y la aparición de daños orgánicos irreversibles. Una de las posibles vías de solución de este problema diagnóstico es el desarrollo de técnicas microbiológicas que no necesiten basarse en el cultivo de aquellas muestras clínicas que se consideran significativas o que, si se basan en el cultivo y





**Figura 3.** Efecto antifúngico de la anidulafungina contra *Candida albicans*. Microscopía electrónica de transmisión.

aislamiento del agente patógeno, reduzcan de una forma significativa el tiempo necesario para alcanzar la identificación de certeza de los aislamientos fúngicos obtenidos. Además, sería importante que aportaran una información adicional valiosa sobre las características de estos aislamientos, como son aquellas propiedades relacionadas con la resistencia potencial a los fármacos antifúngicos, los factores de virulencia o patogenicidad o datos epidemiológicos que mejoren la comprensión de la patogenia y de la epidemiología de las micosis invasoras. Este es otro de los campos donde nuestro grupo desarrolla su labor investigadora. El interés de determinar y predecir la eficacia de los fármacos antimicrobianos contra especies emergentes de *Candida* y de otros patógenos productores de biopelículas es elevado pero existen pocos trabajos sobre modelos farmacocinéticos y farmacodinámicos in vitro que faciliten una terapia personalizada adecuada. Estos modelos han sido empleados para la valoración de la actividad de voriconazol contra *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* basada en curvas de tiempo-letalidad estáticas y para simular diferentes regímenes de dosificación partiendo de parámetros farmacocinéticos conocido. En estos momentos estamos estudiando modelos farmacocinéticos/farmacodinámicos de las equinocandinas empleadas en el tratamiento de las candidiasis invasoras.

### PUBLICACIONES RELEVANTES DEL GRUPO EN LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS

**Quindós G.** (2014) Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. *Rev Iberoam Micol* 31: 42-48.

**Quindós G, Eraso E, Ezpeleta G, Pemán J y Sanchez Reus F.** (2014) State of the art in the laboratory methods for the diagnosis of invasive fungal diseases. En: Kon K y Rai M (Eds.). *Microbiology for Surgical Infections: Diagnosis, Prognosis and Treatment*. Academic Press / Elsevier. Whaltam, Maryland, EE UU

**Carrillo-Muñoz AJ, Tur-Tur C, Giusiano G, Marcos-Arias C, Eraso E, Jauregizar N y Quindós G.** (2013) Sertaconazole, a useful antifungal agent for the topical treatment of superficial candidiasis. *Expert Rev Anti-infect Ther* 11: 347-358.

**Quindós G, Eraso E, López Soria LM y Ezpeleta G.** (2012) Enfermedad fúngica invasora: ¿Diagnóstico micológico convencional o molecular? *Enferm Infecc Microbiol Clín* 30: 560-571.

**Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Carrillo-Muñoz AJ y Quindós G.** (2012) In vitro activities of new triazole antifungal agents, posaconazole and voriconazole, against oral *Candida* isolates from patients suffering from denture stomatitis. *Mycopathologia* 173: 35-46.

**Pemán J, Cantón E, Quindós G, Eraso E, Alcoba-Flórez J, Guinea J, et al.** (2012) Epidemiology, species distribution, and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. *J Antimicrob Chemother* 67: 1181-1187.

**Souza ACR, Ferreira RC, Gonçalves SS, Quindós G, Eraso E, Bizerra FC, et al.** (2012) Accurate identification of *Candida parapsilosis* (*sensu lato*) using mitochondrial DNA and real-time PCR. *J Clin Microbiol* 50: 2310-2314.

**Tellería O, Ezpeleta G, Herrero O, Miranda-Zapico I, Quindós G y Cisterna R.** Validation of the PCR-DHPLC method for rapid identification of *Candida glabrata* phylogenetically related species in different biological matrices. *J Chromatograph B* 893-894: 150-156.

**Ayats J, Martín-Mazuelos E, Pemán J, Quindós G, Sánchez F, García-Rodríguez J, et al.** (2011) Recomendaciones sobre el diagnóstico de la infección fúngica invasora de la Sociedad Española de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (SEIMC). Actualización 2010. *Enferm Infecc Microbiol Clín* 29: 39.e1-39.e15.

**Brena S, Cabezas-Olcoz J, Moragues MD, Fernández de Larrinoa I, Domínguez A, Quindós G, et al.** (2011) Fungicidal monoclonal antibody C7 interferes with iron acquisition in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 3156-3163.

**Cantón E, Pemán J, Quindós G, Eraso E, Miranda-Zapico I, Álvarez M, et al.** (2011) Epidemiology, molecular identification and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* isolated from patients with candidemia: Prospective multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 5590-5596.

**Carrillo-Muñoz AJ, Tur-Tur C, Quindós G, Eraso E, del Valle O, Santos P, et al.** Posaconazole susceptibility of clinical yeast isolates determined by an agar diffusion and microdilution method. *Int J Antimicrob Agents* 37: 271-273.

**Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Aguirre JM y Quindós G.** (2011) Phospholipase and proteinase activities of *Candida* isolates from denture wearers. *Mycoses* 54: e10-e16.

**Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L y Quindós G.** (2011) In vitro activities of natural products against oral *Candida* isolates from denture wearers. *BMC Complement Alternativ Med* 11: 119.

**Miranda-Zapico I, Eraso E, Hernández-Almaraz JL, López-Soria LM, Carrillo-Muñoz AJ, Hernández-Molina JM y Quindós G.** (2011) Prevalence and antifungal susceptibility patterns of new cryptic species inside the species-complexes *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata* among blood isolates from a Spanish tertiary hospital. *J Antimicrob Chemother* 66: 2315-2322.

**Pemán J, Zaragoza R, Quindós G, Alkorta M, Cuétara MS, Camarena JJ, et al.** (2011) Clinical factors associated with a *Candida albicans* germ tube antibody (CAGTA) positive test in ICU patients. *BMC Infect Dis* 11: 60

**Salas V, Pastor FJ, Calvo E, Mayayo E, Quindós G, Carrillo AJ, et al.** Anidulafungin in the treatment of experimental invasive infection by *Candida parapsilosis*: in vitro activity, (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan and mannan serum levels, histopathological findings, and in vivo efficacy. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 4985-4989.

**Villar-Vidal M, Marcos-Arias C, Eraso E y Quindós G.** (2011) Evaluation of the biofilm-forming ability of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* clinical isolates. *Enferm Infecc Microbiol Clín* 29: 660-665.

**Sánchez Vargas LO, Eraso E, Carrillo Muñoz AJ, Aguirre JM, Gaitán Cepeda LA y Quindós G.** (2010) In vitro activity of voriconazole against Mexican oral yeast isolates. *Mycoses* 53: 200-203.

# Interacción microorganismo-hospedador

## Proyecto Proteoma Humano

Ahinara Amador, Ana Gil de Bona, Elvira Marín, Catarina Oliveira Vaz,  
Aida Pitarch, Jose Antonio Reales-Calderón, Perceval Vellosillo, Gloria Molero,  
Lucía Monteoliva y Concha Gil

Departamento de Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense e  
Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid

conchagil@ucm.es



**Foto de grupo.** Integrantes del grupo de investigación a principios del 2014: de izquierda a derecha: Concha Gil, Lucía Monteoliva, Elvira Marín, Perceval Vellosillo, Ana Gil de Bona, Ahinara Amador, Catarina Oliveira Vaz, Laurence Devolder, Jose Antonio Reales-Calderón y Aida Pitarch.

El grupo de investigación denominado «*Interacción microorganismo hospedador. Proyecto Proteoma Humano*» es uno de los grupos de investigación consolidados de la Universidad Complutense de Madrid (<http://www.ucm.es/candida>). Actualmente está formado por 10 miembros, 5 de ellos doctores y otros 5 que están realizando su tesis doctoral incluido un bioinformático, y está coordinado por las Dras Concha Gil, Lucía Monteoliva y Gloria Molero. El trabajo del grupo ha estado financiado a través de proyectos europeos, nacionales y de la Comunidad de Madrid y forma parte de la Red de Enfermedades Infecciosas (REIPI), del Programa PROMPT (Programas i+d grupos de la Comunidad de Madrid: <http://www.prompt.es/>). El grupo

pertenece al Departamento de Microbiología II de la Facultad de Farmacia y está integrado en el Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS).

Nuestros intereses científicos tienen su origen en proyectos focalizados en la búsqueda de nuevas dianas de agentes antifúngicos bajo la dirección de los Drs. César Nombela y Miguel Sánchez. Dentro del proyecto EUROFAN (Análisis funcional del genoma de *Saccharomyces cerevisiae*) una de las estrategias utilizadas para búsqueda de estas dianas, fue el estudio global de las proteínas implicadas en la formación de la pared celular de *S. cerevisiae* (Pardo *et al.*, 1999; 2000). Para la realización de estos estudios fue necesaria la implementación de una serie de

tecnologías proteómicas, como la electroforesis bidimensional (2D-PAGE) para la separación de proteínas y la espectrometría de masas para la identificación y caracterización de las mismas. La experiencia adquirida en el desarrollo de dichas tecnologías así como el interés por su implantación en España supuso un impulso importante para la creación de Unidad de Proteómica de la UCM-PCM. Esta Unidad, que está coordinada por la Dra Concha Gil, está integrada por 5 personas y da servicio de proteómica a numerosos investigadores. Además, ha formado parte de ProteRED desde 2005 y actualmente forma parte de la Plataforma de Recursos Biomoleculares y Bioinformáticos (PRB2) financiada por el ISCIII.

Actualmente, nuestro grupo de investigación está centrado en el estudio de la interacción microorganismo-hospedador y en la búsqueda de biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de las candidiasis invasivas, utilizando distintas aproximaciones proteómicas y moleculares.

### INTERACCIÓN *CANDIDA ALBICANS*-HOSPEDADOR

En particular, estudiamos el hongo patógeno oportunista *C. albicans*, agente causal de las candidiasis, con el propósito de conocer mejor los mecanismos moleculares implicados en los procesos de comensalismo y virulencia de este hongo. Desde el punto de vista del hospedador estudiamos la activación de rutas de señalización en células inmunes tras la interacción con *C. albicans*.

Dentro del estudio de proteínas de *C. albicans* que interaccionan con el hospedador, hemos descrito la relevancia de la proteína Ecm33 en la formación de la pared celular y virulencia (Martínez-López *et al.*, 2004, 2006, 2008). También se han estudiado distintos subproteomas de la superficie celular relevantes en la relación del hongo con el hospedador: el proteoma de la pared celular (Pitarch *et al.*, 2002), el surfoma, o conjunto de proteínas presentes en la superficie del hongo que contactan con el hospedador (Hernández *et al.*, 2010; Vialás *et al.*, 2012) o el proteoma de membrana plasmática (Cabezón *et al.*, 2009). Además, también se ha utilizado proteómica de alto rendimiento o «shotgun» para obtener una visión global del proteoma de células de *C. albicans*. De esta forma, se ha construido el PeptideAtlas de *Candida albicans* que incluye la identificación de 22.000 péptidos distintos de sobre 2500 proteínas de esta levadura (41 % de todo el genoma) (Vialás *et al.*, 2014) ([https://db.systemsbiochemistry.net/sbeams/cgi/PeptideAtlas/buildDetails?atlas\\_build\\_id=323](https://db.systemsbiochemistry.net/sbeams/cgi/PeptideAtlas/buildDetails?atlas_build_id=323)).

Las técnicas de proteómica de expresión diferencial se han utilizado para el estudio de cambios proteicos en procesos tan relevantes para la virulencia de *C. albicans* como la transición levadura-hifa (Monteoliva *et al.*, 2011) o la interacción *C. albicans*-macrófago. En estos ensayos de interacción hemos estudiado tanto cambios en la levadura (Fernández-Arenas *et al.*, 2007) como en el macrófago (Martínez-Solano *et al.*, 2009, Reales-Calderón *et al.*, 2014) en este último caso analizando además la respuesta inmunológica mediante el estudio del perfil fosfoproteómico

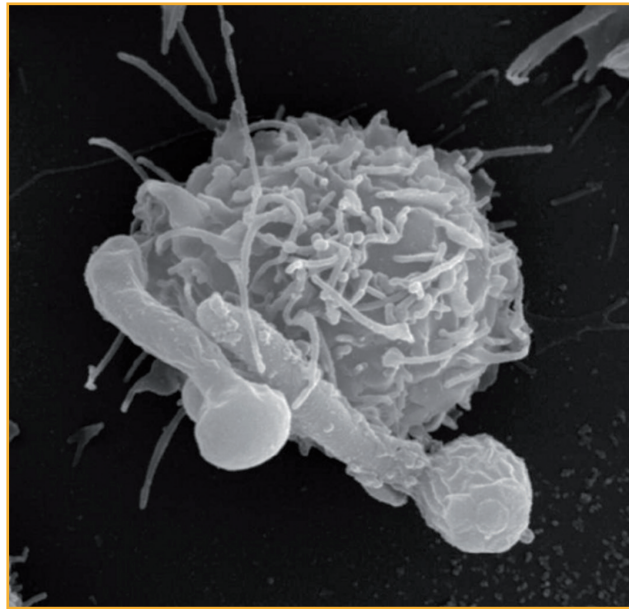


Figura 1. Microfotografía de un macrófago interaccionando con *C. albicans*

de macrófagos tras la interacción (Reales-Calderón *et al.*, 2013). Combinando datos genómicos, proteómicos y bioinformáticos (Fernández-Arenas *et al.*, 2007) pudimos realizar una hipótesis sobre la muerte por apoptosis de *Candida* en el interior de los macrófagos.

Finalmente, para la validación de los resultados obtenidos en los estudios proteómicos a gran escala, además de utilizar otro tipo de aproximaciones de biología molecular o celular, estamos utilizando proteómica dirigida o «Selected Reaction Monitoring» (SRM) que permite elegir un conjunto de proteínas de interés que pueden ser detectadas y cuantificadas con una alta reproducibilidad y sensibilidad. Actualmente estamos estudiando la apoptosis de las células de *Candida* en el interior de los macrófagos detectando y cuantificando más de 50 proteínas relacionadas con la muerte celular programada.

Todos nuestros datos proteómicos se incluyen en la base de datos desarrollada por nuestro grupo y denominada **Proteopathogen** (Vialas *et al.*, 2009) (<http://proteopathogen2.dacya.ucm.es/>).

### BIOMARCADORES DE DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE LAS CANDIDIASIS INVASIVAS

Otro de los objetivos de este grupo de investigación es la búsqueda de nuevos biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico de las candidiasis invasivas. Para ello, hemos puesto a punto la inmunoproteómica, o análisis proteómico de la respuesta serológica aplicada a la identificación de nuevos biomarcadores clínicos y dianas terapéuticas frente a las candidiasis invasivas. Hemos combinado la immuno-

proteómica con análisis bioinformáticos para descifrar la respuesta serológica de pacientes con candidiasis invasivas frente al inmunoma de la pared celular de *C. albicans* (Pitarch *et al.*, 2006). Este estudio ha revelado dos nuevos biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico de estas infecciones (anticuerpos frente Bgl2 y Eno1 de la pared celular, respectivamente), así como dos nuevos candidatos para el diseño de futuras vacunas frente a las candidiasis invasivas (Bgl2 y Eno1 de la pared celular). Otros estudios inmunoproteómicos usando extractos de *C. albicans* han permitido la identificación de más de cuarenta candidatos para la detección precoz de las candidiasis invasivas (Pitarch *et al.*, 2004). Varios de estos biomarcadores se han validado tanto analítica como clínicamente en ensayos de prototipos, obteniendo resultados satisfactorios (Pitarch *et al.*, 2007; 2008). Además, mediante herramientas de la biología computacional, hemos identificado un panel reducido de biomarcadores (anticuerpos frente a Met6, Hsp90, Pgk1, Ssb1 y Gap1) que permite predecir el pronóstico de estas micosis oportunistas con una buena precisión. Este modelo se validó mediante un ensayo de prototipos independiente tanto analítica como clínicamente, mediante la expresión heteróloga de las proteínas y su uso como reactivos de inmunodiagnóstico. Se confirmó el valor de pronóstico de este panel de proteínas para las candidiasis invasivas, mostrando su utilidad para su extrapolación futura al laboratorio clínico (Pitarch *et al.*, 2011). Además, actualmente estamos desarrollando un array de proteínas NAPPA (Nucleic Acid Programmable Protein Array) que incluye los antígenos anteriores para detectar anticuerpos que permitan realizar un diagnóstico y un pronóstico de la candidiasis invasivas.

El grupo forma parte de una red europea que trata de profundizar en los mecanismos moleculares de las interacciones entre patógenos fúngicos y el hospedador (ImResFun; <http://www.imresfun.org/index.php>). Dicha red está formada por grupos de investigación punteros distribuidos por la Comunidad Europea, favoreciendo el intercambio de conocimiento y la interacción de los miembros integrantes de los grupos.

## PROYECTO PROTEOMA HUMANO (HPP) HTTP://COMMUNITY.UV.ES

Así mismo, estamos implicados en el Proyecto Proteoma Humano (HPP) en colaboración con otros grupos en España. En dicho proyecto desarrollamos métodos de proteómica dirigida SRM para detectar proteínas codificadas por el cromosoma 16 («*Chromosome-centric HPP*» o C-HPP) (Segura *et al.*, 2013; 2014) con especial énfasis en las proteínas desconocidas. Para ello estamos expresando dichas proteínas y desarrollando métodos de SRM para tratar de detectarlas en matrices biológicas. Paralelamente, estamos integrando la metodología adquirida para desarrollar la parte del HPP aplicado a la Biología y a la Enfermedad («*Biology/Disease HPP*» o B/D-HPP). En nuestro caso, estudiando proteínas de interés en la respuesta inmune en las candidiasis, micosis e infecciones en general.

## BIBLIOGRAFÍA

- Cabezon V, Llama-Palacios A, Nombela C, Monteoliva L y Gil C. Analysis of *Candida albicans* plasma membrane proteome. (2009) *Proteomics* 9: 4770-4786.
- Fernández-Arenas E, Cabezón V, Bermejo C, Arroyo J, Nombela C, Diez-Orejas R, Gil C. (2007) Integrated proteomics and genomics strategies bring new insight into *Candida albicans* response upon macrophage interaction. *Molecular and Cellular Proteomics*. 6: 460-78
- Hernaez ML, Ximenez-Embun P, Martínez-Gomariz M, Gutierrez D, Nombela C y Gil C. Identification of *Candida albicans* exposed surface proteins in vivo by a rapid proteomic approach. (2010). *Journal of Proteomics* 73: 1404 - 1409.
- Martínez-López R, Monteoliva L, Diez-Orejas R, Nombela C y Gil C. The GPI-anchored protein CaEcm33p is required for cell wall integrity, morphogenesis and virulence in *Candida albicans*. (2004) *Microbiology*. 150: 3341-54.
- Martínez-López R, Park H, Myers CL, Gil C y Filler SG. *Candida albicans* Ecm33p is important for normal cell wall architecture and interactions with host cells. (2006) *Eukaryotic Cell*. 5: 140-7.
- Martínez-López R, Nombela C, Diez-Orejas R, Monteoliva L y Gil C. Immunoproteomic analysis of the protective response obtained from vaccination with *Candida albicans* ecm33 cell wall mutant in mice. (2008) *Proteomics*. 8: 2651-64
- Martínez-Solano, L. Reales-Calderón JA, Nombela C, Molero G, Gil C. Proteomics of RAW 264.7 macrophages upon interaction with heat-inactivated *Candida albicans* cells unravel an anti-inflammatory response. (2009) *Proteomics* 9: 2995-3010.
- Monteoliva L, Martínez-López R, Pitarch A, Hernaez ML, Serna A, Nombela C, Albar JP y Gil C. Quantitative proteome and acidic subproteome profiling of *Candida albicans* yeast-to-hypha transition. (2011) *Journal of Proteome Research* 10: 502-517.
- Pardo M, Monteoliva L, Pla J, Sánchez M, Gil C y Nombela C. Two-dimensional analysis of proteins secreted by *Saccharomyces cerevisiae* regenerating protoplasts: a novel approach to study the cell wall. (1999) *Yeast*. 15: 459-72.
- Pardo M, Ward M, Bains S, Molina M, Blackstock W, Gil C y Nombela C. A proteomic approach for the study of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall biogenesis. (2000) *Electrophoresis*. 21: 3396-410.
- Pitarch A, Sánchez M, Nombela C y Gil C. Sequential fractionation and two-dimensional gel analysis unravels the complexity of the dimorphic fungus *Candida albicans* cell wall proteome. (2002) *Molecular and Cellular Proteomics*. 1: 967-82.
- Pitarch A, Abian J, Carrascal M, Sánchez M, Nombela C y Gil C. Proteomics-based identification of novel *Candida albicans* antigens for diagnosis of systemic candidiasis in patients with underlying hematological malignancies. (2004) *Proteomics*. 4: 3084-106.
- Pitarch A, Jiménez A, Nombela C, Gil C. Decoding serological response to *Candida* cell wall immunome into novel diagnostic, prognostic, and therapeutic candidates for systemic candidiasis by proteomic and bioinformatic analyses. (2006) *Molecular and Cellular Proteomics*. 5: 79-96.
- Pitarch A, Nombela C y Gil C. Reliability of antibodies to *Candida* methionine synthase for diagnosis, prognosis and risk stratification in systemic candidiasis: A generic strategy for the prototype development phase of proteomic markers. (2007) *Proteomics and Clinical Applications* 1:1221-42.
- Pitarch A, Jiménez A, Nombela C y Gil C. Serological proteome analysis to identify systemic candidiasis patients in the intensive care unit: Analytical, diagnostic and prognostic validation of anti-*Candida* enolase antibodies on quantitative clinical platforms. (2008) *Proteomics and Clinical Applications*. 2: 596-618.
- Pitarch A, Nombela C y Gil C. (2011). Prediction of the clinical outcome in invasive candidiasis patients based on molecular fingerprints of

five anti-*Candida* antibodies in serum. *Molecular and Cellular Proteomics* 10: M110.004010.

**Reales-Calderon JA, Sylvester M, Strijbis K, Jensen ON, Nombela C, Molero G y Gil C.** *Candida albicans* induces pro-inflammatory and anti-apoptotic signals in macrophages as revealed by quantitative proteomics and phosphoproteomics. (2013) *Journal of Proteomics* 91: 106-135.

**Reales-Calderón JA, Aguilera-Montilla N, Corbi AL, Molero G, Gil C.** Proteomic characterization of human proinflammatory M1 and anti-inflammatory M2 macrophages and their response to *Candida albicans* (2014) *Proteomics*. 2014. doi: 10.1002/pmic.201300508.

**Segura V, Medina-Aunon JA, Guruceaga E, Gharbi SI, Gonzalez-Tejedo C, Sanchez del Pino MM, Canals F, Fuentes M, Casal JI, Martinez-Bartolome S, Elortza F, Mato JM, Arizmendi M, Abian J, de Oliveira E, Gil C, Vivanco F, Blanco F, Albar JP y Corrales F.** Spa-

nish Human Proteome Project: dissection of chromosome 16. (2013) *Journal of Proteome Research* 12: 112-122.

**Segura V, Medina-Aunon JA, Mora MI et al.** Surfing transcriptomic landscapes. A step beyond the annotation of chromosome 16 proteome. (2014) *Journal of Proteome Research* 13: 158-172.

**Vialas V, Nogales-Cadenas R, Nombela C, Pascual-Montano A y Gil C.** Proteopathogen, a protein database for studying *Candida albicans*-host interaction. (2009) *Proteomics*. 9: 4664-8.

**Vialas V, Perumal P, Gutierrez D, Ximenez-Embun P, Nombela C, Gil C y Chaffin WL.** Cell surface shaving of *Candida albicans* biofilms, hyphae, and yeast form cells. (2012) *Proteomics* 12: 2331 - 2339.

**Vialas V, Sun Z, Loureiro y Penha CV, Carrascal M, Abián J, Monteoliva L, Deutsch EW, Aebersold R, Moritz RL, Gil C.** (2014) *A Candida albicans PeptideAtlas*. *Journal of Proteomics*. 2014 97:62-8.

# CCCCC Group

## Ciclinas, CDK's, Ciclo Celular, Cáncer

**Elisabet Bállega, Samuel Bru, Sergio García, Sara Hernández, Joan Marc Martínez, Eva Quandt, Natalia Ricco, Javier Jiménez y Josep Clotet**

Dept. de Ciències Bàsiques, Facultat de Medicina y Ciències de la Salut,  
Universitat Internacional de Catalunya, Barcelona.

[jclotet@uic.es](mailto:jclotet@uic.es)



**Foto de grupo.** Miembros actuales del grupo CCCC durante el descanso de una reunión de trabajo. Desde la derecha: Samuel Bru, Sara Hernández, Sergio García, Joan Marc Martínez, Elisabet Bállega, Eva Quandt, Josep Clotet y Javier Jiménez (falta Natalia Ricco).

**A** nadie se le escapa la importancia clínica derivada de la proliferación celular, que no es sino la manifestación palpable del ciclo celular. Las células, independientemente de su organización y clasificación biológica, disponen de una serie de mecanismos encargados de asegurar su proliferación y relativa perpetuación. Nuestro grupo se vale de distintos modelos de célula eucariota, que van desde el más básico —la levadura *Saccharomyces cerevisiae*— hasta otros mucho más complejos —como cultivos de células madre, líneas celulares e incluso tejidos tumorales—, para cumplir el objetivo director de añadir un pequeño grano de arena en la playa de la regulación del ciclo celular; playa que se adentra cada vez más el océano oscuro y profundo del cáncer o, en otras palabras, de las patologías del ciclo celular; en su conocimiento, en su tratamiento y en su curación.

El ciclo celular está dirigido por unas proteínas de expresión cíclica llamadas genéricamente ciclinas cuya misión principal es la de regular la actividad de una familia de proteínas llamadas CDK (*Cyclin Dependent Kinases*). La variedad de ciclinas es grande y también lo es la de las CDK's, lo que determina una serie de preguntas —también respuestas— al conocimiento de los procesos que determinan el correcto ritmo y progresión del ciclo celular. A modo de ejemplo la mencionada diversidad de ciclinas permite explicar por qué una misma proteína quinasa (CDK) puede actuar sobre diferentes sustratos de forma cíclica permitiendo así, entre otros muchos fenómenos, que comience la división del DNA y que solo después de que ésta termine las células descendientes se dividan. También genera preguntas como por qué las células disponen de más de una CDK si bien solo una de ellas es estrictamente necesaria y suficiente, en definitiva esencial, para la progresión del ciclo celular (Cdk1 en mamíferos, Cdc28 en la levadura).

Desde el grupo del Dr. Clotet hemos hecho nuestra esta pregunta y durante los últimos años una de nuestras hipótesis de trabajo es demostrar que la manida esencialidad de Cdc28 (Cdk1) es cierta en condiciones estándar de laboratorio, pero sin embargo, en otras condiciones fisiológicas, (como durante la variación de la cantidad de nutrientes, la respuesta a diferentes estreses, a distintas hormonas, etc.) hay otras CDK's que reclaman su porción de esencialidad en la dirección de la progresión a través del ciclo celular. Ese es el caso de Pho85, CDK de *S. cerevisiae* que en condiciones normales puede ser eliminada del genoma produciendo numerosos defectos pero compatibles con la vida. Pero, sin embargo, hemos definido condiciones ambientales donde la eliminación de *PHO85* tiene consecuencias más severas (Truman *et al.*, 2012; Menoyo *et al.*, 2013). Con esta hipótesis como guía hemos encontrado y estamos caracterizando fenómenos importantes en la biología de las células que se

encuentran específicamente dirigidos por la mencionada CDK Pho85. Entre ellos nos gustaría resaltar, en tanto en cuanto están en proceso de publicación, la dinámica del fosfato y el polifosfato celular, el mantenimiento de los telómeros y por tanto el envejecimiento, el transporte núcleo-citoplasma y la maquinaria de degradación de proteínas (Hernández-Ortega *et al.*, 2013).

Las ciclinas de la CDK Pho85, las *pickels* (por sus siglas en inglés: *Pho Cyclins*), presentan diferencias estructurales con sus hermanas de la CDK Cdc28: (i) son de menor tamaño, (ii) disponen de una única caja ciclina (secuencia con la que interactúan físicamente con la CDK) y (iii) presentan un aspártico en el residuo 136 lo que se considera que soslaya la necesidad de fosforilación por Cak1, fosforilación que es totalmente esencial para la activación de las ciclinas de Cdc28.

Como mencionábamos anteriormente el mundo de la diversidad de ciclinas es tan amplio que solo gracias a la total secuenciación y anotación del genoma humano hemos podido catalogarlas a todas, apareciendo un grupo de «nuevas ciclinas» de función y relevancia desconocidas. Curiosamente algunas de las nuevas ciclinas son rabiosamente parecidas a las *pickels* en cuanto a las características antes mencionadas. A través de esta línea de investigación pretendemos entender la relevancia de estas proteínas pero no ya en un modelo de estudio sencillo de investigación básica sino sumergiéndonos en un sistema totalmente aplicado: el estudio de las ciclinas directamente en muestras de tumores provenientes de pacientes. Para ello estamos determinando diferencias de expresión modificación, degradación y dinámica de las mismas que desenmascaren la posible implicación de su desregulación en el desarrollo de los cánceres más relevantes de nuestra sociedad. Todo ello sin renunciar a la caracterización molecular de las mismas en cuanto a la interacción con las distintas CDKs a los sustratos que utilizan etc. Semejante objetivo requiere de una aproximación proteómica en la que empleamos técnicas de *trapping*, proteínas quinasas sin actividad o inactivadas con análogos de sustratos para un posterior análisis y validación por ensayos bioquímicos y de genética molecular convencional.

## BIBLIOGRAFÍA

- Hernández-Ortega S, Bru S, Ricco N, Ramírez S, Casals N, Jiménez J, Isasa M, Crosas B y Clotet J. (2013) Defective in mitotic arrest 1 (Dma1) ubiquitin ligase controls G1 cyclin degradation. *JBC*. 288(7):4704-14.
- Menoyo S, Ricco N, Bru S, Hernández-Ortega S, Escoté X, Aldea M y Clotet J. (2013) Phosphate-activated cyclin-dependent kinase stabilizes G1 cyclin to trigger cell cycle entry. *MCB*. 33(7):1273-84.
- Truman AW, Kristjansdóttir K, Wolfgeher D, Hasin N, Polier S, Zhang H, Perrett S, Prodromou C, Jones GW y Kron SJ. (2012). CDK-dependent Hsp70 Phosphorylation controls G1 cyclin abundance and cell cycle progression. *Cell*. 151(6):1308-18

# Genética Molecular de la Patogénesis Fúngica

## El modelo *Fusarium oxysporum*

Antonio di Pietro

Universidad de Córdoba

[ge2dipia@uco.es](mailto:ge2dipia@uco.es)



Foto de grupo. Los componentes del grupo de Genética Molecular de la Patogénesis Fúngica.

Los hongos patógenos tienen un impacto devastador sobre la alimentación y la salud humana. El grupo del Departamento de Genética investiga las bases moleculares y genéticas de la patogénesis fúngica utilizando como modelo de estudio *Fusarium oxysporum*. Este hongo es capaz de causar fusariosis vascular en más de cien especies distintas de plantas (Dean *et al.*, 2012), y es un patógeno oportunista de humanos que provoca infecciones sistémicas en pacientes inmunodeprimidos (Schäfer *et al.*, 2014).

Con el fin de comparar los mecanismos de infección en plantas y mamíferos hemos puesto a punto un modelo de infección multihospedador, que permite ensayar los mutantes obtenidos en el laboratorio por inactivación génica tanto en plantas de tomate y en animales (ratón, larvas de *Galleria mellonella*). La disponibilidad de la secuencia del genoma de *F. oxysporum* permite utilizar abordajes genómicos y proteómicos, además de la genética directa e inversa (Ma *et al.*, 2010).

En el grupo se persiguen varias líneas de investigación lideradas por distintos IPs. La línea «*Biogénesis de la pared y regulación transcripcional de enzimas líticas*», dirigida por la Catedrática M<sup>a</sup> Isabel González Roncero estudia la regulación y el papel de las enzimas líticas que degradan los polímeros vegetales, en los hongos patógenos. Se ha caracterizado los sistemas lipolítico y pectinolítico de *F. oxysporum*, analizando tanto los genes estructurales como los factores de transcripción (Bravo-Ruiz *et al.*, 2013). El objetivo es identificar los mecanismos de regulación y modulación de la expresión de estos genes y su papel en la colonización de la planta y el desarrollo de la marchitez vascular causada por *F. oxysporum*. Otro aspecto es la biogénesis y el remodelado de la pared celular, un proceso que implica la acción concertada de sintasas de quitina, sintasas de glucano, glicosiltransferasas, glicosilhidrolasas, quitinasas y glucanasas, reguladas por factores de transcripción tal como Con7, todas ellos estrechamente relacionadas con la plasticidad que la pared celular, el desarrollo del hongo y por ende el proceso de infección (López-Fernández *et al.*, 2013).

La línea «*Señalización y patogénesis en hongos*» liderada por el Catedrático Antonio Di Pietro se centra en la percepción de las señales de la planta por el hongo a través de receptores de membrana, y su transducción por rutas celulares que activan el programa genético de la infección. Las cascadas MAPK (proteína quinasa activadas por mitógenos) y la proteína quinasa TOR (target of rapamycin) controlan procesos clave para el desarrollo y la infección, tal como el crecimiento dirigido del hongo hacia la planta (quimiotropismo) o la capacidad de invadir sus tejidos (crecimiento invasivo). El objetivo es comprender cómo estas rutas se regulan por los factores ambientales, particularmente los nutrientes y el pH, y cuál es su efecto sobre la patogénesis (López-Berges *et al.*, 2010, Pérez-Nadales & Di Pietro 2011, Turrà *et al.*, 2014). Por otro lado, datos recientes del grupo indican que determinadas regiones del genoma de *F. oxysporum* sufren reorganizaciones frecuentes, contribuyendo así a la variabilidad fenotípica del patógeno. En colaboración con el grupo del Dr. Toni Gabaldón del CRG en Barcelona, estamos tratando de caracterizar los mecanismos genéticos que propician estos cambios y su posible función en la evolución de nuevas formas patogénicas de *F. oxysporum*.

La tercera línea «*El complejo ubiquitin ligasa-Fbp1: identificación de proteínas diana, su papel en patogénesis y en el*

*ciclo celular*» dirigida por la Prof<sup>a</sup> Concha de la Hera, está enfocada al estudio de las proteínas F-box que controlan la estabilidad de las proteínas dirigiéndolas hacia el complejo SCF, donde son marcadas con ubiquitina para la degradación final en el proteosoma. En *Fusarium*, las proteínas F-box están implicadas en la virulencia, ya que los mutantes presentan un retraso importante en la infección. Datos recientes apuntan a una conexión entre la proteína F-box Fbp1 y la ruta MAPK responsable del crecimiento invasivo. El objetivo actual es identificar las proteínas diana de Fbp1. El análisis proteómico del mutante ha revelado hasta 80 proteínas con expresión diferencial, entre ellas Bmh2, una proteína de la clase 14-3-3 implicada en distintos aspectos de señalización (Miguel-Rojas & Hera 2013).

El objetivo a largo plazo del grupo es identificar el conjunto de genes de *F. oxysporum* que determinan la capacidad de infectar un amplio rango de especies pertenecientes a diversos reinos eucariotas.

## REFERENCIAS

- Bravo-Ruiz G, Ruiz-Roldán C y Roncero MI. (2013) Lipolytic system of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mol Plant Microbe Interact* 26:1054-67.
- Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J y Foster GD. (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13:414-30.
- López-Berges MS, Rispail N, Prados-Rosales RC y Di Pietro A. (2010) A nitrogen response pathway regulates virulence functions in *Fusarium oxysporum* via the protein kinase TOR and the bZIP protein MeaB. *Plant Cell* 22:2459-75.
- López-Fernández L, Ruiz-Roldán C, Pareja-Jaime Y, Prieto A, Khraiwesh H y Roncero MI. (2013) The *Fusarium oxysporum gnt2*, encoding a putative N-acetylglucosamine transferase, is involved in cell wall architecture and virulence. *PLoS One* 8:e84690.
- Miguel-Rojas C y Hera C. (2013) Proteomic identification of potential target proteins regulated by the SCF(F)-(bp1)-mediated proteolysis pathway in *Fusarium oxysporum*. *Mol Plant Pathol* 14:934-45.
- Pérez-Nadales E y Di Pietro A. (2011) The membrane mucin Msb2 regulates invasive growth and plant infection in *Fusarium oxysporum*. *Plant Cell* 23:1171-85.
- Schäfer K, Di Pietro A, Gow NA y MacCallum D. (2014) Murine model for *Fusarium oxysporum* invasive fusariosis reveals organ-specific structures for dissemination and long-term persistence. *PLoS One* 9:e89920.
- Turrà D, Segorbe D y Di Pietro A. (2014) Protein kinases in plant pathogenic fungi: Conserved Regulators of Infection. *Annu Rev Phytopathol* 52 (en prensa).



<http://www.geneticpcr.com/xcongreso-nacional-de-microbiologia-mma.html>



# Grupo de investigación de fisiología de levaduras

José Cansado, Teresa Soto, Jerónima Vicente, Marisa Madrid, Alejandro Franco, Laura Sánchez-Mir, Rafael Jiménez, Beatriz Vázquez, Verónica Hernández, y Mariano Gacto

Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia

[jcansado@um.es](mailto:jcansado@um.es)



**Foto de grupo.** Grupo de fisiología de levaduras de la Universidad de Murcia. De izquierda a derecha: José Cansado, Mariano Gacto, Alejandro Franco, Teresa Soto, Jerónima Vicente, Rafael Jiménez, Laura Sánchez-Mir, Beatriz Vázquez, Verónica Hernández y Marisa Madrid.

Un gran reto de la biología actual es conocer cómo las células detectan cambios en el medio que las rodea, y su señalización intracelular hasta desencadenar la consiguiente respuesta adaptativa. Numerosos estudios han destacado la importancia de las rutas mediadas por MAP quinasas (proteínas quinasas activadas por mitógenos, MAPK) en la respuesta de las células eucariotas frente a estímulos ambientales. Estas rutas están evolutivamente muy conservadas y transmiten señales extracelulares hasta el núcleo para inducir cambios significativos en los patrones de expresión génica, incrementando los niveles de factores encargados de proteger las células frente al agente estresante. El módulo clásico de MAPK consta de tres proteínas quinasas que se regulan por medio de una cascada secuencial de fosforilaciones. Una vez activadas, las MAP quinasas fosforilan diversos sustratos a nivel citoplasmático y se traslocan al núcleo, activando factores de transcripción específicos. La levadura con fisión *Schizosaccharomyces pombe* constituye un excelente modelo para el estudio de los circuitos moleculares que promueven la activación de las MAP quinasas, debido en

parte a que se encuentra evolutivamente más próxima a organismos superiores que al resto de levaduras.

## PMK1, LA MAP QUINASA DE LA RUTA DE INTEGRIDAD CELULAR EN *S. POMBE*

Nuestro grupo ha centrado sus esfuerzos en el estudio de los mecanismos que regulan la activación y función de la ruta de MAPK de integridad celular, homóloga a la ruta ERK de mamíferos, cuya actividad es fundamental en *S. pombe* para regular la construcción de la pared celular, la citocinesis, la morfogénesis, la fusión de vacuolas, y la homeostasis iónica (Pérez y Cansado, 2010). El elemento central de esta ruta es la MAPK Pmk1, cuya ausencia provoca alteraciones morfológicas, multiseptación (Figura 1), y sensibilidad osmótica. Varios laboratorios, incluido el nuestro, han demostrado que Pmk1 interacciona *in vivo* con Mkh1 (MAPKKK) y Pek1 (MAPKK) formando un complejo ternario que media la activación de Pmk1 por fosforilación en dos residuos conservados de treonina y tirosina en posiciones 186 y 188, respectivamente, del motivo de

activación -TEY- (Madrid *et al.*, 2006). Aunque se creía que Pmk1 se activaba únicamente en respuesta a temperaturas elevadas, también lo hace durante la fase G1-S del ciclo celular, el estrés osmótico, el ayuno de glucosa, daño a la pared celular, el estrés oxidativo, y las fuerzas gravitatorias (Madrid *et al.*, 2006; Soto *et al.*, 2007; Madrid *et al.*, 2007; Barba *et al.*, 2008; Madrid *et al.*, 2013). En células en crecimiento Pmk1 muestra localización núcleo/citoplasmática, así como en el huso mitótico y septo durante la separación celular. Contrariamente a las ERKs en mamíferos, la localización de Pmk1 no se modifica en respuesta a estrés, lo que sugiere que tanto la formas activa e inactiva de la MAPK pueden entrar en el núcleo (Madrid *et al.*, 2006). Aunque la localización nuclear de Pmk1 no es determinante para el control de sus funciones biológicas salvo en situaciones de daño en la pared celular, si lo es para regular negativamente su estado de fosforilación por medio de fosfatasa específicas que localizan preferentemente en este compartimento celular (Sánchez-Mir *et al.*, 2012). Ello sugiere que el control espacial de la actividad de Pmk1 determina en gran medida su función biológica.

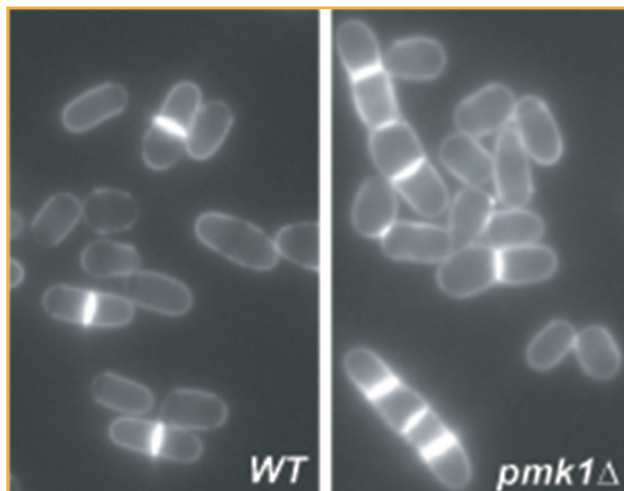


Figura 1. Fenotipo multiseptado característico del mutante *pmk1Δ* de *Schizosaccharomyces pombe*. WT= cepa silvestre. Microscopía de fluorescencia; tinción con blanco de Calcofúor.

### UNA INTRINCADA RED DE SEÑALIZACIÓN REGULA LA ACTIVIDAD DE PMK1

La GTPasa Rho2 actúa aguas arriba del ortólogo de la proteína quinasa C Pck2 que, a su vez, activa el módulo Mkh1-Pek1-Pmk1 en respuesta a distintos estímulos ambientales (Figura 2; Barba *et al.*, 2008). Recientemente hemos descrito que las proteínas activadoras de GTPasas (GAPs) Rga2, Rga4 y Rga8, modulan negativamente la actividad de Pmk1 al actuar como reguladores negativos de Rho2 (Villar-Tajadura *et al.*, 2008; Cansado *et al.*, 2010; Soto *et al.*, 2010). El hecho de que dichas GAPs muestren actividad sobre otras GTPasas además de Rho2 plantea una

interesante cuestión relacionada con el control espacio-temporal de su actividad biológica. Nuestro laboratorio había demostrado la existencia de rutas alternativas para la activación de Pmk1 independiente del control de Rho2 y/o Pck2 en respuesta a determinados tipos de estrés (Barba *et al.*, 2008; Madrid *et al.*, 2012). Recientemente hemos confirmado que Rho1, una GTPasa esencial, y Pck1, un segundo ortólogo a PKC, regulan la ruta de Pmk1 de forma aditiva y/o alternativa a Rho2 y Pck2 (Viana *et al.*, 2013; Sánchez-Mir *et al.*, 2014; Figura 2). Estas observaciones definen un complejo entramado de elementos que actúan aguas arriba de la ruta de integridad celular en *S. pombe* en comparación con rutas equivalentes en otros eucariotas simples. Actualmente se desconoce la identidad de los sensores implicados en la detección y activación de la ruta de integridad celular.

La desfosforilación de Pmk1 durante el ciclo celular no perturbado es ejercida fundamentalmente por la fosfatasa de especificidad dual Pmp1. Sin embargo, la serín/treonín-fosfatasa Ptc1 y las tirosín-fosfatasa Pyp1 y Pyp2, cuya expresión es dependiente de la MAPK de respuesta a estrés Sty1, interaccionan y desfosforilan la forma activa de Pmk1 en respuesta a estrés (Madrid *et al.*, 2007). Además, la proteína ribosomal Cpc2, ortólogo a RACK1 (Receptor of Activated protein C Kinase) en células supe-

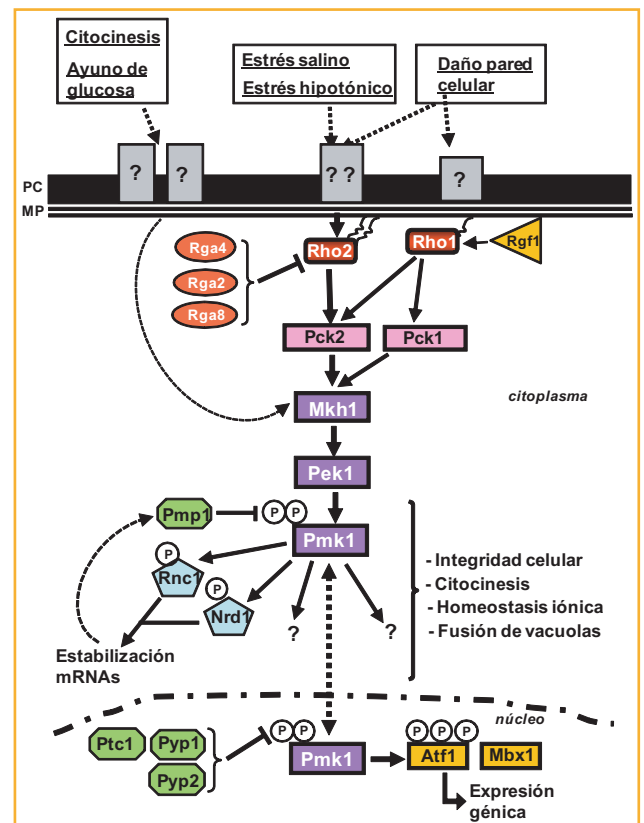


Figura 2. Regulación y principales componentes de la ruta de integridad celular en *S. pombe*.

riores, regula de forma negativa la actividad de la ruta de integridad celular al favorecer la traducción de Pyp1 y Pyp2 (Núñez *et al.*, 2009, 2010). Estas evidencias revelan la existencia de «crosstalk» entre las MAP quinasas Sty1 y Pmk1. Respecto a las dianas de Pmk1, Atf1 es un factor transcripcional clave en la respuesta a estrés de *S. pombe*, cuya actividad es regulada por Sty1 y también por Pmk1 en respuesta a daños en la pared celular. Sin embargo la relevancia biológica de Pmk1 como regulador de la respuesta a estrés via Atf1 es limitada (Sánchez-Mir *et al.*, 2012). Rnc1 y Nrd1 son dos proteínas que estabilizan m-RNAs con actividad dependiente de fosforilación mediada por Pmk1. La identificación de los m-RNAs que se unen a dichas proteínas permitirá profundizar nuestro conocimiento sobre el papel de Pmk1 en la regulación de distintos procesos celulares.

## PUBLICACIONES

- Barba G, Soto T, Madrid M, Núñez A, Vicente J, Gacto M y Cansado J.** (2008). Activation of the cell integrity pathway is channelled through diverse signalling elements in fission yeast. *Cell Signal* 20: 748-757.
- Cansado J, Soto T, Gacto M y Pérez P.** (2010). Rga4, a Rho-GAP from fission yeast: Finding specificity within promiscuity. *Commun Integr Biol* 3:436-439.
- Madrid M, Soto T, Khong HK, Franco A, Vicente J, Pérez P, Gacto M y Cansado J.** (2006). Stress-induced response, localization and regulation of the Pmk1 cell integrity pathway in *Schizosaccharomyces pombe*. *J Biol Chem* 281: 2033-2043.
- Madrid M, Núñez A, Soto T, Vicente J, Gacto M y Cansado J.** (2007). Stress-activated protein kinase-mediated down-regulation of the cell integrity pathway mitogen-activated protein kinase Pmk1 by protein phosphatases. *Mol Biol Cell* 18: 4405-4419.
- Madrid M, Fernández-Zapata J, Sánchez-Mir L, Soto T, Franco A, Vicente-Soler J, Gacto M y Cansado J.** (2013). Role of the fission yeast cell integrity MAPK pathway in response to glucose limitation. *BMC Microbiology* 13: 34. doi: 10.1186/1471-2180-13-34.
- Núñez A, Franco A, Madrid M, Soto T, Vicente J, Gacto M y Cansado J.** (2009). Role for RACK1 orthologue Cpc2 in the modulation of stress response in fission yeast. *Mol Biol Cell* 20: 3996-4009.
- Núñez A, Franco A, Soto T, Vicente J, Gacto M y Cansado J.** (2010). Fission yeast receptor of activated C kinase (RACK1) ortholog Cpc2 regulates mitotic commitment through Wee1 kinase. *J Biol Chem*. 285:41366-41373.
- Pérez P y Cansado J.** (2010) Cell integrity signaling and response to stress in fission yeast. *Curr Protein Pept Sci* 11:680-692.
- Sánchez-Mir L, Franco A, Madrid M, Vicente-Soler J, Villar-Tajadura MA, Soto T, Pérez P, Gacto M y Cansado J.** (2012). Biological significance of nuclear localization of mitogen-activated protein kinase Pmk1 in fission yeast. *J Biol Chem* 287: 26038-26051.
- Sánchez-Mir L, Soto T, Franco A, Madrid M, Viana RA, Vicente J, Gacto M, Pérez P y Cansado J.** (2014). Rho1 GTPase and PKC ortholog Pck1 are upstream activators of the cell integrity MAPK pathway in fission yeast. *PLoS One*. 9:e88020. doi: 10.1371/journal.pone.0088020.
- Soto T, Núñez A, Madrid M, Vicente J, Gacto M y Cansado J.** (2007). Transduction of centrifugation-induced gravity forces through mitogen-activated protein kinase pathways in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Microbiology* 153: 1519-1529.
- Soto T, Villar-Tajadura MA, Madrid M, Vicente J, Gacto M, Pérez P y Cansado J.** (2010). Rga4 modulates the activity of the fission yeast cell integrity MAPK pathway by acting as a Rho2 GTPase-activating protein. *J Biol Chem* 285:11516-11525.
- Viana RA, Pinar M, Soto T, Coll PM, Cansado J y Pérez P.** (2013). Negative functional interaction between cell integrity MAPK pathway and Rho1 GTPase in fission yeast. *Genetics* 195: 421-432.
- Villar-Tajadura A, Coll PM, Madrid M, Cansado J, Santos B y Pérez P.** (2008). Rga2 is a Rho2 GAP that regulates morphogenesis and cell integrity in *S. pombe*. *Mol Microbiol* 70: 867-881.



Alicante 5 y 6 de septiembre de 2014

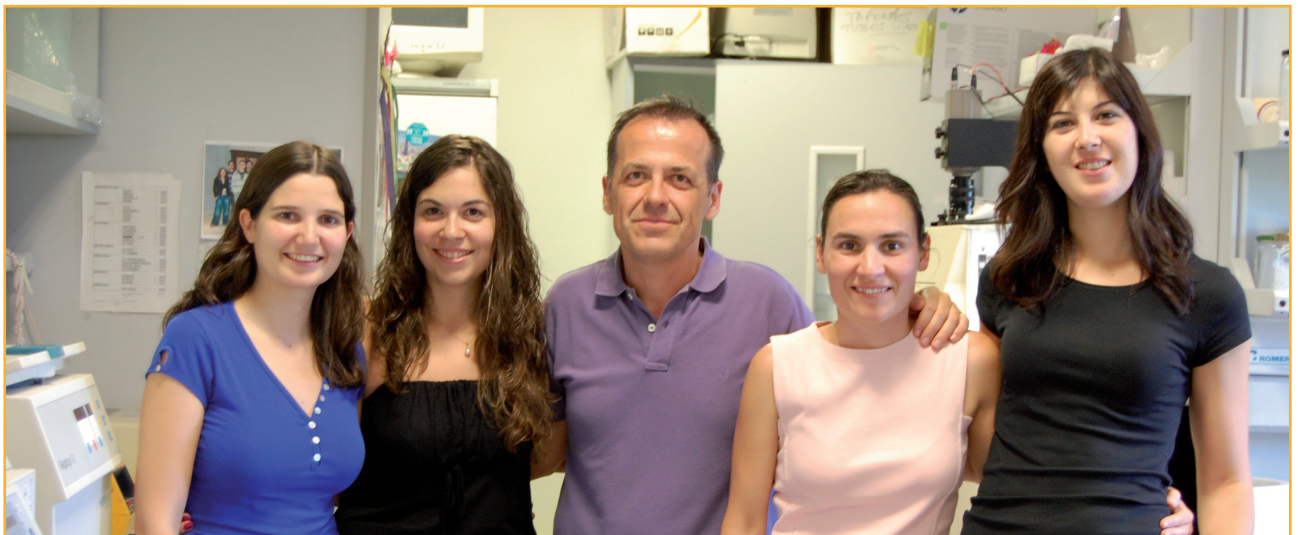
<http://ddm2014.blogspot.com.es/>

# Mecanismos señaladores y reguladores de la respuesta a estrés abiótico inducido por cationes y la alcalinización del pH ambiental en *Aspergillus nidulans*

Eduardo A. Espeso, Patricia Hernández-Ortiz, Laura Mellado y María Villarino

Centro Investigaciones Biológicas. CSIC. Depart. Biología Celular y Molecular. Madrid

[eespeso@cib.csic.es](mailto:eespeso@cib.csic.es)



**Foto de grupo.** Miembros del grupo en 2013, de izquierda a derecha, Erika Herrero, Patricia Hernandez, Eduardo A. Espeso, María Villarino y Laura Mellado.

Nuestro equipo de investigación está integrado dentro del grupo de Genética Molecular de *Aspergillus* que pertenece al departamento de Biología Celular y Molecular del CIB. Utilizamos *Aspergillus nidulans* como organismo modelo para estudiar diferentes procesos de señalización y respuesta a estímulos ambientales. Analizamos los mecanismos moleculares y celulares tras las respuestas del hongo a estreses abióticos como son las elevadas concentraciones de cationes o la alcalinización

del pH ambiental. En este entorno desarrollamos tres líneas principales de investigación. En primer lugar descifrar cómo la maquinaria de señalización actúa sobre factores transcripcionales (FTs) involucrados en la respuesta a estos estreses, cómo se regula la localización celular de estos reguladores y, con la intención de extrapolar nuestra investigación en un organismo modelo a otros hongos con interés biotecnológico o clínico, el papel de estas rutas de respuesta a estrés en procesos infecciosos.

*Aspergillus nidulans* es un hongo filamentoso. Las hifas son las células vegetativas y crecen de forma polarizada, pueden alcanzar más de 100  $\mu\text{m}$  de longitud, y el trabajo en el grupo del CIB ha demostrado que dicha forma de crecimiento se basa, al menos, en la distribución de las maquinarias moleculares de los procesos de endocitosis y exocitosis que se encuentran preferentemente localizadas en el extremo de éstas células (Araujo-Bazan *et al.* 2008; Taheri-Talesh *et al.* 2008; Markina-Inarrairaegui *et al.* 2013), es decir en el ápice. Este hongo es un organismo cenocítico. Cada compartimento celular contiene varios núcleos que están sometidos a un estricto control en cuanto a su número y distribución en la célula. En este sistema celular son necesarios unos mecanismos reguladores que permitan que las señales intra y extracelulares sean integradas y que los FTs y otros elementos reguladores implicados en las respuestas a estas señales puedan ser activados y translocados desde largas distancias citoplásmicas a los distintos núcleos en un tiempo adecuado para generar la respuesta biológica.

Hemos estudiado la composición y la distribución de la maquinaria molecular responsable del transporte entre el núcleo y el citoplasma en *A. nidulans* (Markina-Inarrairaegui *et al.* 2011). La entrada y salida de moléculas del núcleo ocurre a través de los poros nucleares en un proceso que requiere energía. Entre los diferentes elementos funcionales que han sido definidos en los sistemas de transporte se encuentran los transportadores nucleares que interactúan directamente con las moléculas que van a ser transportadas o cargas. Así, las importinas son los transportadores que median en el proceso de translocación de proteínas y otras macromoléculas desde el citoplasma al núcleo y las exportinas que realizan la función opuesta. Hemos definido el número y función de los transportadores nucleares en *A. nidulans* y determinado su localización celular en interfase y durante la mitosis (Markina-Inarrairaegui *et al.* 2011). Algunos de estos transportadores participan en rutas de transporte esenciales para la célula, como el sistema general de importación mediado por la importina  $\beta 1$  y  $\alpha$ , y el sistema general de exportación mediado por la exportina 1 (Crm1/KapK). Otros transportadores no son esenciales y marcan diferencias con otros sistemas estudiados, indicando que diferentes exportinas e importinas deben estar realizando funciones redundantes. La maquinaria se distribuye regularmente por los diferentes núcleos del sincitio

aunque no es estática y hemos descrito la dinámica de las importinas  $\beta 1$  y  $\alpha$  a lo largo de la hifa (Etxebeste *et al.* 2013). Además, algunos de estos transportadores parecen estar involucrados en la correcta progresión de la mitosis, en la formación del uso mitótico y el desensamblaje del nucléolo (Markina-Inarrairaegui *et al.* 2011).

En el proceso de transporte y comunicación entre el núcleo y el citoplasma es muy importante la señalización de las cargas por medio de pequeñas señales que permiten su reconocimiento por parte de los transportadores. Estas son las señales de importación nuclear, denominadas NLS, y por otro lado las señales de exportación nuclear, NES. Estas señales median en la localización celular de los FTs y suponen un punto de control muy importante en los procesos de señalización y activación/inactivación de estos reguladores (Bernreiter *et al.* 2007; Araujo-Bazan *et al.* 2009). Estamos estudiando los mecanismos de control de la localización celular de tres FTs, dos de ellos, SltA y CrzA implicados en la respuesta a estrés por cationes y alcalinidad y el factor FlbB que participa en la ruta de diferenciación celular que conduce a la formación de las estructuras de reproducción asexual, los conidióforos (ver Etxebeste *et al.*, 2010).

Los FTs SltA y CrzA median en *A. nidulans* la tolerancia a elevadas concentraciones de cationes mono y divalente (Spielvogel *et al.* 2008). En especial CrzA participa en la tolerancia al manganeso y calcio. Hemos estudiado en detalle el proceso de señalización, activación y la distribución celular de CrzA. CrzA es una fosfoproteína y en ausencia de estrés se encuentra fosforilado y excluido del núcleo. El acrónimo Crz indica «calcineurin responsive zinc finger». La proteína fosfatasa calcineurina desfosforila a CrzA cuando se añade calcio al medio extracelular o se estimula la célula y se libera calcio de los compartimentos intracelulares. La actividad fosfatasa de la calcineurina modifica a CrzA y da lugar a su acumulación nuclear (Hernandez-Ortiz and Espeso 2013). SltA es un FT específico de un grupo de hongos filamentosos, el subfilo pezizomicotina. SltA media en la tolerancia a elevadas concentraciones de una amplia gama de cationes mono y divalentes, como magnesio, potasio, litio o sodio. La señalización de SltA es compleja y precisa de un paso de proteólisis que da lugar a una forma truncada que contiene el dominio de unión a ADN. La función de la forma truncada, denominada SltA32kDa, se requiere para la tolerancia a estos estreses. La forma completa, SltA78kDa, tiene también función transcripcional. El estudio del factor SltA nos ha permitido describir el



**HUPO**  
2014 MADRID  
13th Human Proteome  
Organization World Congress

**The proteome quest  
to understand  
biology and disease**

October 5 - 8, 2014  
Centro de Convenciones Norte IFEMA



**HUPO**  
Human Proteome Organization

**EuPA**  
European Proteome Association

**EPPO**  
European Proteome Project

JUN 2014

primer «auxótrofo» de calcio, ya que un doble mutante nulo SltA y en la quinasa HalA, implicada en estrés por cationes y homóloga a las quinetas Hal4 y Hal5p de *Saccharomyces cerevisiae*, requiere elevadas concentraciones de calcio para su correcto crecimiento (Findon *et al.* 2010). Además SltA participa en el correcto desarrollo de estructuras de reproducción asexual y en la regulación de la producción de la micotoxina aflatoxina (Shantappa *et al.* 2013).

La señalización de SltA mediante proteólisis recuerda a la del FT PacC que media la ruta de respuesta al pH ambiental y que ha sido estudiada por el grupo durante muchos años (Espeso *et al.* 2000). La activación de la ruta de señalización de PacC es inducida por la alcalinización del medio. La falta de función PacC, su incorrecta señalización o la ausencia de los elementos de señalización, los factores Pal, causa la sensibilidad al pH alcalino. Nuestro trabajo ha demostrado que además de PacC se precisa la función de los factores SltA y CrzA para que *Aspergillus* tolere la alcalinidad (Spielvogel *et al.* 2008). Este hecho indica que el pH alcalino es un estímulo muy importante al que ciertos hongos deben enfrentarse y los que poseen mecanismos moleculares y genéticos que permiten superarlo supone una ventaja sobre otros organismos que compartan nicho ecológico. Esta «ventaja» es explotada por ciertos hongos para medrar en ambientes extremos o causar infecciones tanto en plantas como en animales. Diferentes estudios han demostrado el papel de PacC y sus homólogos en levaduras, RIM101, en virulencia. Nuestro trabajo se está enfocando a los factores CrzA y SltA utilizando el modelo inmunodeprimido murino y *Galleria mellonella*. El papel en virulencia del homólogo de CrzA en *A. fumigatus* ha sido demostrado y pone de manifiesto el valor de la investigación en el organismo modelo y la translación de los resultados a otros hongos de interés. En particular en el proyecto actual nos centramos en estudiar la función de los homólogos de SltA en hongos que atacan frutas recolectadas.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo actual del equipo dentro del grupo de Genética Molecular de *Aspergillus*, dirigido por el Prof. Miguel A. Peñalva, se sustenta sobre el realizado por los diferentes componentes a lo largo de los años y los diferentes proyectos, a todos ellos agradezco su contribución. En especial mencionar la colaboración con el grupo del Prof. Unai Ugalde en la Universidad del País Vasco (EHU). Conjuntamente se han dirigido varias tesis doctorales y muchas

publicaciones en el tema del desarrollo de estructuras de reproducción asexual en *A. nidulans*.

## REFERENCES

- Araujo-Bazan L, Dhingra S, Chu J, Fernandez-Martinez J, Calvo AM *et al.* (2009) Importin alpha is an essential nuclear import carrier adaptor required for proper sexual and asexual development and secondary metabolism in *Aspergillus nidulans*. *Fungal. Genet. Biol.* 46: 506-515
- Araujo-Bazan L, Penalva MA y Espeso EA. (2008) Preferential localization of the endocytic internalization machinery to hyphal tips underlies polarization of the actin cytoskeleton in *Aspergillus nidulans*. *Mol Microbiol* 67: 891-905
- Bernreiter A, Ramon A, Fernandez-Martinez J, Berger H, Araujo-Bazan L *et al.* (2007) Nuclear export of the transcription factor NirA is a regulatory checkpoint for nitrate induction in *Aspergillus nidulans*. *Mol Cell Biol.* 27: 791-802
- Espeso EA, Roncal T, Diez E, Rainbow L, Bignell E *et al.* (2000) On how a transcription factor can avoid its proteolytic activation in the absence of signal transduction. *EMBO J.* 19: 719-728
- Etxebeste O, Garzia A, Espeso EA y Ugalde U. (2010) *Aspergillus nidulans* asexual development: making the most of cellular modules. *Trends Microbiol* 18: 569-576
- Etxebeste O, Villarino M, Markina-Inarrairaegui A, Araujo-Bazan L y Espeso EA. (2013) Cytoplasmic dynamics of the general nuclear import machinery in apically growing syncytial cells. *PLoS. One.* 8: e85076-
- Findon H, Calcagno-Pizarelli AM, Martinez JL, Spielvogel A, Markina-Inarrairaegui A *et al.* (2010) Analysis of a novel calcium auxotrophy in *Aspergillus nidulans*. *Fungal. Genet. Biol.* 47: 647-655
- Hernandez-Ortiz P y Espeso EA. (2013) Phospho-regulation and nucleocytoplasmic trafficking of CrzA in response to calcium and alkaline-pH stress in *Aspergillus nidulans*. *Mol Microbiol* 89: 532-551
- Markina-Inarrairaegui A, Etxebeste O, Herrero-García E, Araujo-Bazan L, Fernandez-Martinez J *et al.* (2011) Nuclear transporters in a multinucleated organism: functional and localization analyses in *Aspergillus nidulans*. *Mol Biol. Cell* 22: 3874-3886
- Markina-Inarrairaegui A, Pantazopoulou A, Espeso EA y Penalva MA. (2013) The *Aspergillus nidulans* peripheral ER: disorganization by ER stress and persistence during mitosis. *PLoS. One.* 8: e67154-
- Shantappa S, Dhingra S, Hernandez-Ortiz P, Espeso EA y Calvo AM. (2013) Role of the zinc finger transcription factor SltA in morphogenesis and sterigmatocystin biosynthesis in the fungus *Aspergillus nidulans*. *PLoS. One.* 8: e68492-
- Spielvogel A, Findon H, Arst HN, Araujo-Bazan L, Hernandez-Ortiz P *et al.* (2008) Two zinc finger transcription factors, CrzA and SltA, are involved in cation homeostasis and detoxification in *Aspergillus nidulans*. *Biochem. J.* 414: 419-429
- Taheri-Talesh N, Horio T, Araujo-Bazan L, Dou X, Espeso EA, *et al.* (2008) The tip growth apparatus of *Aspergillus nidulans*. *Mol Biol. Cell* 19: 1439-1449



# Grupo de investigación en microbiología aplicada y medioambiental

M<sup>a</sup> Angeles Calvo Torras, Gisela Girmé Vila, Eduard Grau Noguier  
y Esteban Leonardo Arosemena Angulo

Grupo de investigación en Microbiología Aplicada y Medio-Ambiental. Facultat  
de Veterinària. Universidad Autònoma de Barcelona

[mariangels.calvo@uab.cat](mailto:mariangels.calvo@uab.cat)



Foto de grupo. De izquierda a derecha. Gisela Girmé Vila, Eduard Grau Noguier, M. Angeles Calvo Torras, Esteban Leonardo Arosemena Angulo.

Desde el año 1976, inicialmente en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona y posteriormente desde 1983 en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona, el grupo de investigación del que es responsable la Dra. M. Angeles Calvo Torras, ha ido modificando su composición en cuanto a personal investigador y de apoyo, estando formando en la actualidad por los investigadores que figuran en la fotografía y de forma rotatoria por alumnos de Grado, Master y Doctorado. Las líneas de investigación en el ámbito de la Micología podríamos definir las en:

- Estudio de hongos capaces de alterar Patrimonio e incidir en la salud: aislamiento, identificación, diagnóstico, propuesta de métodos de control y seguimiento.
- Estudio taxonómico de hongos miceliarios y levaduras.
- Evaluación de la presencia de micotoxinas en una amplia variedad de sustratos.

## BIBLIOGRAFÍA

Pérez L, Girmé G, Arosemena EL, y Calvo Torras MA (2013). «Qualitative evaluation of the capacity of *Lactobacillus* strains to degrade mycotoxins developed and accumulated by strains of the genus *Alternaria*» Food and Nutrition Sciences 35-36.

Molina-Lopez RA, Adelantado C, Arosemena EL, Obón E, Darwich L y Calvo MA (2012). «Integument Mycobiota of wild European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) from catalonian, Spain» ISRN Microbiology: 1-6

Rodríguez M, de la Fuente A, Arosemena L, Adelantado C y Calvo MA (2009). «Efecte dels colorants adicionats a pinsos per a animals de companyia sobre el desenvolupament de soques fúngiques» TECA-Asociació Catalana de Ciències de l'Alimentació 1137-7976 11: 20-22.

Figueroa S, Centeno S, Calvo MA, Rengel A. y Adelantado C. (2009) «Mycobiota and concentration of Ochratoxin A in concentrated poultry feed from Venezuela» Pakistan Journal of Biological Sciences.72: 147-150

Calvo MA, Adelantado C. y Agut M. (2006). Identificació de microorganismes que afecten el patrimoni documental. En: La problemàtica dels fongs en el patrimoni documental. Col·lecció Arxivística i Gestió Documental. Sèrie Conservació i restauració. Departament de Cultura i Mitjans de Comunicació. Núm.1. Barcelona pp: 27-42.

Calvo MA, Adelantado C. y Corcuera, E (2005). Principales características de los hongos causantes de alteraciones en materiales celulósicos. PH: Boletín del Instituto Andaluz del Patrimonio Histórico 13: 18-23

Grup d'investigació en microorganismes que afecten el patrimoni documental (2008). Protocols per a la prevenció, el control i el tractament de les infeccions per microorganismes que afecten el patrimoni documental. Col·lecció Arxivística i Gestió Documental. Sèrie Conservació i restauració. Departament de Cultura i Mitjans de Comunicació. Núm.2. Barcelona, 108 pp.

## Clave dicotómica para la identificación de hongos aislados sistemáticamente en ambientes mediterráneos

Aunque las bacterias puedan ser agentes de biodeterioro sobre diversos sustratos, los hongos se aíslan reiteradamente en nuestro medio como agentes causales de graves problemas en archivos, bibliotecas, obras de arte, edificios, etc. por lo que en este estudio aportamos una clave dicotómica resumida que incluye los hongos filamentosos más frecuentemente aislados de nuestro medio ambiente.

Las características descritas se basan en cultivos desarrollados en agar extracto de malta al 2 % durante cinco días a 28°C.

Las preparaciones para la observación de las características microscópicas se realizan en fresco y entre portaobjetos y cubreobjetos.

### Clave de identificación

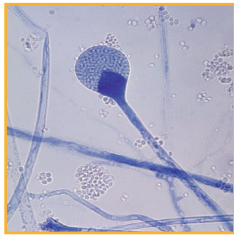
- |  |  |
|--|--|
| <b>1a</b> Presencia de esporangios y esporangióforos ..... 2   | <b>13a</b> Fiálides largas. Ausencia de polifiálides ..... 14  |
| <b>1b</b> Ausencia de esporangios y esporangióforos ..... 4  | <b>13b</b> Fiálides en forma de botella.<br>Polifiálides presentes o ausentes ..... 15                                     |
| <b>2a</b> Esporangios y esporangióforos generalmente oscuros.<br>Esporangióforos a menudo con estrías..... <i>Rhizopus</i> | <b>14a</b> Fiálides solitarias o en conidióforos ramificados,<br>normalmente no en verticilos ..... <i>Acremonium</i>      |
| <b>2b</b> Esporangios y esporangióforos generalmente<br>no pigmentados. Esporangióforos sin estrías..... 3                 | <b>14b</b> Fiálides en conidióforos ramificados<br>en verticilos ..... <i>Verticillium</i>                                 |
| <b>3a</b> Esporangio piriforme con apófisis ..... <i>Absidia</i>   | <b>15a</b> Colonias verdes ..... <i>Trichoderma</i>  |
| <b>3b</b> Esporangio globoso sin apófisis..... <i>Mucor</i>  | <b>15b</b> Colonias de otros colores ..... 16  |
| <b>4a</b> Conidios en peritecio o picnidio ..... 5   | <b>16a</b> Colonias blancas, amarillo-rosadas o púrpuras.<br>A menudo presencia de macroconidios ..... <i>Fusarium</i>     |
| <b>4b</b> Conidios no formados en peritecis ni en picnidios..... 6   | <b>16b</b> Colonias negruzcas.<br>Conidios no septados..... <i>Stachybotrys</i>  |
| <b>5a</b> Presencia de peritecios..... <i>Chaetomium</i>   | <b>17a</b> Conidios sólo ártricos ..... <i>Geotrichum</i>  |
| <b>5b</b> Presencia de picnidios..... <i>Phoma</i>   | <b>17b</b> Conidios ártricos y/o blásticos ..... 18  |
| <b>6a</b> Ontogenia basípeta. Conidios en cadenas o agrupados..... 7   | <b>18a</b> Conidios blásticos que nacen de hifas o de células<br>ensanchadas o ramificadas ..... 19                        |
| <b>6b</b> Ontogenia acropétala o por fragmentación de hifas ..... 17   | <b>18b</b> Conidios blásticos que no cumplen el requisito<br>anterior ..... 20   |
| <b>7a</b> Conidios en cadenas ..... 8  | <b>19a</b> Colonias gris-marrónáceas. Conidios que nacen<br>de pequeños denticulos..... <i>Botrytis</i>                    |
| <b>7b</b> Conidios en agrupaciones ..... 13  | <b>19b</b> Colonias semejantes a levaduras. De color crema<br>que se transforman en verde-negruzca... <i>Aureobasidium</i> |
| <b>8a</b> Conidios con un septo transversal.<br>Colonias rosadas..... <i>Trichothecium</i>                                 | <b>20a</b> Conidios en agrupaciones de color<br>negruzco ..... <i>Epicoccum</i>  |
| <b>8b</b> Conidios sin septos o con más de un septo ..... 9  | <b>20b</b> Conidios no en agrupaciones ..... 21  |
| <b>9a</b> Conidios formados de hifas fértiles.<br>Colonias rojo-marrónáceas ..... <i>Wallemia</i>                          | <b>21a</b> Conidios mayoritariamente unicelulares.<br>Colonias gris-verdosas ..... <i>Cladosporium</i>                     |
| <b>9b</b> Conidios no formados por división de hifa fértil ..... 10  | <b>21b</b> Conidios con septos transversales o longitudinales ... 22   |
| <b>10a</b> Conidióforos con ensanchamiento apical..... <i>Aspergillus</i>  | <b>22a</b> Conidios jóvenes de base redonda.<br>Conidióforos generalmente rectos ..... <i>Alternaria</i>                   |
| <b>10b</b> Conidióforos sin ensanchamiento apical ..... 11   | <b>22b</b> Conidios jóvenes de base atenuada.<br>Conidióforos generalmente no rectos ..... <i>Ulocladium</i>               |
| <b>11a</b> Células conidiógenas con anélides.<br>Conidios de base truncada ..... <i>Scopulariopsis</i>                     |  |
| <b>11b</b> Células conidiógenas fiálidicas. Conidios<br>sin base truncada..... 12  |  |
| <b>12a</b> Colonias de color amarillo o marrón.<br>Fiálides de cuello largo..... <i>Paecilomyces</i>                       |  |
| <b>12b</b> Colonias a menudos verdosas.<br>Fiálides de cuello corto ..... <i>Penicillium</i>                               |  |



Las características microscópicas de los géneros citados se muestran a continuación. Asimismo debemos mencionar que estas cepas poseen una marcada actividad enzimática que les facilita su desarrollo sobre los sustratos y la degradación de los mismos.



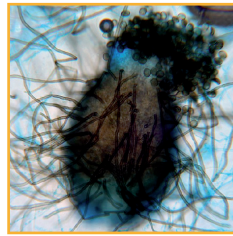
*Rhizopus sp.*



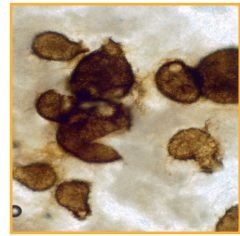
*Absidia sp.*



*Mucor sp.*



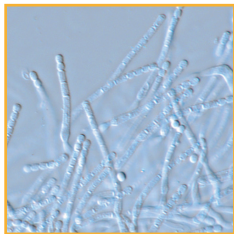
*Chetomium sp.*



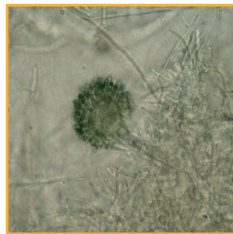
*Phoma sp.*



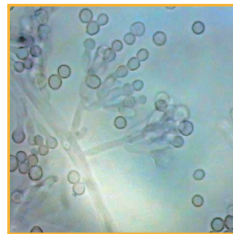
*Trichothecium sp.*



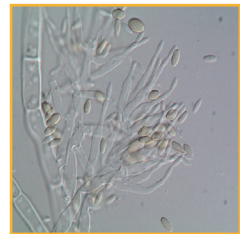
*Wallemia sp.*



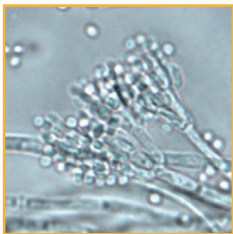
*Aspergillus sp.*



*Scopulariopsis sp.*



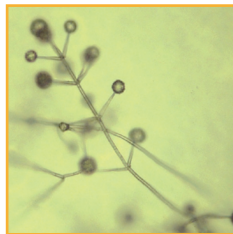
*Paecilomyces sp.*



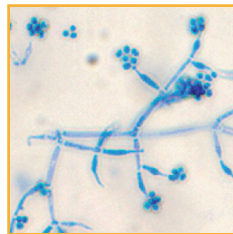
*Penicillium sp.*



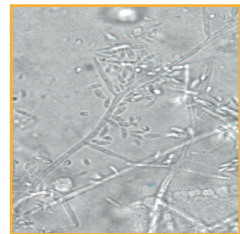
*Acremonium sp.*



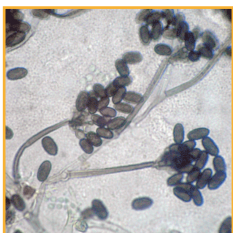
*Verticillium sp.*



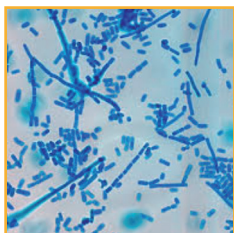
*Trichoderma sp.*



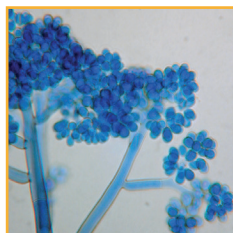
*Fusarium sp.*



*Stachybotrys sp.*



*Geotrichum sp.*



*Botrytis sp.*



*Aureobasidium sp.*



*Epicoccum sp.*



*Cladosporium sp.*



*Alternaria sp.*



*Ulocladium sp.*

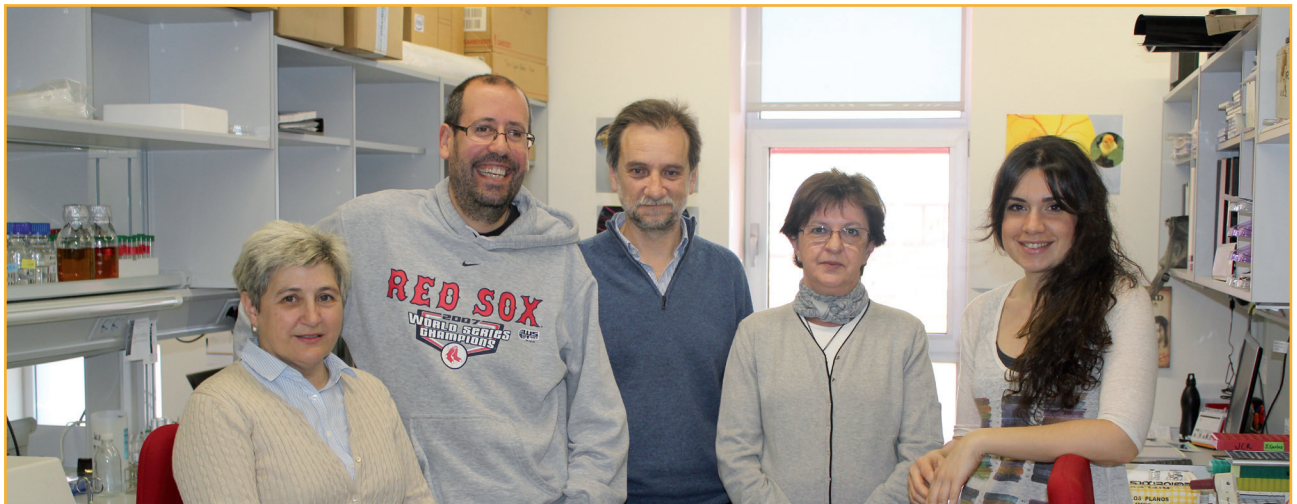
# Premio Fleming 2014

## Un papel central para un polisacárido de la pared celular en la regulación de la división celular

Muñoz J *et al* (2013) *J. Cell Biol*

Comunicado por: Pilar Pérez

[piper@usal.es](mailto:piper@usal.es)



**Autores del artículo premiado en 2014.** De izquierda a derecha. Pilar Pérez, Juan Carlos Cortés, Juan Carlos Ribas, Belén Moreno y Mariona Ramos.

El premio Fleming de la Sociedad Española de Micología ha sido concedido este año a un trabajo publicado por el grupo que lidera el Dr. Juan Carlos Ribas. Este grupo, junto con otros grupos del Instituto de Biología Funcional y Genómica, mantiene la línea de investigación sobre la pared celular, la citocinesis y la morfogénesis fúngica iniciada hace años por el grupo del Dr. Angel Durán en el Instituto de Microbiología Bioquímica. El grupo del Dr. Ribas trabaja con la levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe* centrándose en la caracterización funcional de los genes estructurales implicados en la biosíntesis de los diferentes glucanos que constituyen los polímeros esenciales de la pared celular. De este laboratorio han surgido trabajos clave en el estudio de la pared que han permitido definir el papel diferencial de cada una de las enzimas que sintetizan los diferentes glucanos y el de los propios polímeros. Así, en uno de sus numerosos trabajos demostraron por

primera vez la síntesis de un determinado  $\beta(1,3)$ glucano por una enzima específica (Cortés *et al.*, 2007). Bgs1 es responsable de la síntesis del  $\beta(1,3)$ glucano lineal, el cual es a su vez necesario pero no suficiente para la formación del septo primario. En sus trabajos más recientes, el Dr. Ribas y su grupo han caracterizado la función esencial del  $\alpha$ -glucano sintetizado por Ags1 en la integridad celular durante el crecimiento celular y durante la división celular. Este glucano confiere al septo primario la fuerza necesaria para mantener la adhesión celular y permitir una separación gradual y segura de las células hijas, capaz de soportar la presión interna de turgencia durante la separación celular (Cortés *et al.*, 2012). En su trabajo más reciente, merecedor del Premio Fleming, el laboratorio del Dr. Ribas ha puesto de manifiesto el papel central de un polisacárido de la pared celular en la regulación de la división celular (Muñoz *et al.*, 2013). Así, han demostrado que el  $\beta(1,3)$

glucano de la pared celular sintetizado por la enzima Bgs4 es esencial para anclar el anillo contráctil de actomiosina a la membrana plasmática y para mantener acoplados la progresión del septo y la contracción del anillo de actomiosina, conectando así la pared celular a la membrana plasmática y al anillo contráctil. La importancia de estos trabajos radica en que demuestran que la pared celular no solo confiere resistencia mecánica y osmótica y da soporte estructural a la célula fúngica sino que participa directamente en la regulación de procesos celulares esenciales como el crecimiento y la citocinesis.

Por otra parte, aunque los estudios del Dr. Ribas son esencialmente de Biología Celular, no debemos olvidar que la pared fúngica es una estructura vital que está ausente en células animales y por ello constituye una diana esencial de antifúngicos con toxicidad selectiva. De hecho los antifúngicos más recientes de uso clínico, Caspofungina, Micafungina y Anidulafungina, son inhibidores de la  $\beta$ -(1,3)-D-glucán sintasa que sintetiza el polímero estructural de la pared celular fúngica. El Dr. Ribas también ha caracterizado en detalle el mecanismo de acción de estos antifúngicos y ha caracterizado nuevas mutaciones de resistencia de la enzima Bgs4 (Martins *et al.*, 2011).

Javier Muñoz, primer autor del trabajo premiado está actualmente realizando la estancia postdoctoral en el laboratorio de Damien Coudreuse. Institute of Genetics and Development of Rennes CNRS UMR 6290. Rennes, France 35043.

## REFERENCIAS

- Cortes JCG, Konomi M, Martins I, Muñoz J, Moreno MB, Osumi M, Duran A y Ribas JC.** The (1,3) $\beta$ -D-glucan synthase subunit Bgs1 is responsible for the fission yeast primary septum formation. *Mol. Microbiol.* 65: 201-217 (2007).
- Cortés JCG, Sato M, Muñoz J, Moreno MB, Clemente-Ramos JA, Ramos M, Okada H, Osumi M, Durán A y Ribas JC.** Fission yeast Ags1 confers the essential septum strength needed for safe gradual cell abscission. *J. Cell Biol.* 198: 637-656 (2012).
- Muñoz J, Cortés JCG, Sipiczki M, Ramos M, Clemente-Ramos JA, Moreno MB, Martins I, Pérez P y Ribas JC.** Extracellular cell wall  $\beta$ (1,3)glucan is required to couple septation to actomyosin ring contraction. *J. Cell Biol.* 203: 265-282 (2013).
- Martins I, Cortes JCG, Muñoz J, Moreno MB, Ramos M, Clemente-Ramos JA, Duran A y Ribas JC.** Differential activities of three families of specific  $\beta$ (1,3)glucan synthase inhibitors in wild type and resistant strains from fission yeast. *J. Biol. Chem.* 286: 3484-3496 (2011).

## Nuevos socios de la SEM

- Aguinagalde Salazar, Leire
- Alonso Rodríguez, Esmeralda
- Álvarez Arguedas, Samuel
- Amaral Piubeli, Francine
- Baelo Álvarez, Aida
- Ballesteros Benavides, Natalia Andrea
- Bernabé Balas, Cristina
- Bravo Fernández, Enrique
- Cabeza Briales, M<sup>a</sup> Concepción
- Calamita Calderin, Francisco
- Calvo Sein-Echaluze, Violeta
- Canet Miralles, Maite
- Carda Diéguez, Miguel
- Caverro Martín, Mario
- Cervera Alamar, Mercedes
- Cruz Pio, Liz Erika
- De la Concepción Romero, Juan Carlos
- Djukovic, Ana
- Escolano Martínez, María de la Soledad
- Ferrer Alegre, Pau
- Fillat Latorre, Amanda
- García Valero, Rosa María
- Garrido Maestu, Alejandro
- González Castillo, Adrián
- González Torres, Pedro Iñaki
- Guzman, Katerina
- López Álvarez, Marina
- Lorenzo Morales, Jacob
- Lucio Costa, Olga
- Macridachis González, Jorge
- Martín Rodríguez, Alberto Jonatan
- Martínez Gómez, Estrella
- Molina Vega, Elena
- Mora Ruiz, Merit del Rocio
- Moyano, Gabriel
- Muro Pastor, Alicia María
- Naranjo Fernández, Emilia
- Orejas Suárez, Margarita L.
- Reguant Miranda, Cristina
- Reguera Brito, Mercedes
- Ruano Gallego, David
- Salvador Bescós, Miriam
- Salvador de Lara, Manuel
- Sánchez Romero, María Antonia
- Santa-Cruz, Lucía
- Santos, Verónica
- Tomas Miquel, Anna
- Torres Alonso, Luis
- Torres Bejar, Marta
- Torres Grima, Eva
- Valera Martínez, María José
- Valvano, Miguel
- Varadé López, Lourdes
- Vicente Lasa, Ana
- Zlatković, Slobodan
- Zuñiga Ripa, Amaia

Altas desde el 23/11/2013 hasta 19/05/2014

## CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS FUNCIONAL DEL GENOMA DE *LACTOCOCCUS GARVIEAE*

**Autora:** Mónica Aguado Urda

**Directores:** M. Mar Blanco Gutiérrez, José F. Fernández-Garayzábal, Guillermo López Campos

**Centro:** Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

*Lactococcus garvieae* es el agente etiológico de la lactococosis, una enfermedad con gran repercusión en acuicultura. Además, *L. garvieae* es una bacteria muy ubicua capaz de producir enfermedad en un amplio rango de hospedadores incluido el ser humano, considerándose actualmente como un agente potencialmente zoonótico. A pesar de la importancia creciente de este microorganismo, el conocimiento sobre las características y las propiedades de su genoma es limitado. Con el fin de aportar datos que contribuyan a un conocimiento más profundo sobre la biología y los mecanismos de patogenicidad de *L. garvieae*, se han planteado como objetivos generales de este trabajo de Tesis Doctoral, el estudio del contenido genético de esta bacteria y un análisis funcional del mismo.

Se realizó una primera aproximación al conocimiento del contenido genético de *L. garvieae* mediante hibridación genómica comparativa (CGH) inter-especie sobre microarrays de ADN, consiguiendo identificar por primera vez un gran número de genes en este patógeno. Posteriormente, la accesibilidad de las técnicas de ultrasecuenciación permitió la caracterización de los genomas de dos cepas clínicas de *L. garvieae* procedentes de humano (Lg21881) y de trucha arcoíris (Lg8831). La disponibilidad de los genomas de Lg21881 y Lg8831, así como de los de varias cepas más de *L. garvieae*, ha hecho posible realizar estudios de genómica comparativa intra-especie que han llevado a la identificación y caracterización molecular de elementos extracromosómicos únicos de la cepa Lg21881, que podrían estar implicados en su adaptación a un nicho ecológico específico. Además, los análisis de genómica comparativa han evidenciado una elevada variabilidad intra-especie en *L. garvieae* y han posibilitado una primera aproximación hacia la filogenia y evolución de este microorganismo. Por otra parte, y en relación con esta variabilidad intra-especie, se ha evaluado la utilidad de determinados caracteres propuestos como biomarcadores para la clasificación de aislados de *L. garvieae* en función de su origen.

El conocimiento del genoma de *L. garvieae* también ha permitido diseñar un microarray de ADN que demostró ser eficaz en el análisis de la expresión global en esta bacteria. Así, sobre dicho microarray se han realizado estudios funcionales de las cepas Lg21881 y Lg8831 en los que se han analizado los cambios de expresión global en función de la temperatura. Se ha observado que Lg21881 y Lg8831 presentan diferentes patrones de expresi-

ión, y se han detectado genes potencialmente implicados en su patogenicidad.

En conclusión, los resultados obtenidos en este trabajo aportan nuevos conocimientos sobre esta bacteria de importancia creciente en medicina veterinaria y humana, y abren camino hacia una comprensión más profunda de su biología y su evolución.

## MECANISMOS MOLECULARES DE RESPUESTA AL ESTRÉS SOBRE LA PARED CELULAR EN *LACTOCOCCUS LACTIS*

**Autor:** Clara Rocés Rodríguez

**Directores:** Beatriz Martínez Fernández y Ana Rodríguez González

**Centro de realización:** Departamento de Tecnología y Biotecnología de Productos Lácteos. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Villaviciosa (Asturias).

**Centro de presentación:** Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, Universidad de Oviedo, Oviedo (Asturias).

En este trabajo hemos identificado mecanismos desarrollados por *Lactococcus lactis* como respuesta y resistencia al estrés sobre su pared celular, con objeto de mejorar su aptitud tecnológica como *starter* en quesería. Como herramienta para provocar este estrés utilizamos la lactococina 972 (Lcn972), una bacteriocina que bloquea la síntesis de peptidoglicano en el septo de división en *Lactococcus*.

Hemos demostrado que los genes *llmg0169* y *llmg2164-2163* son prescindibles, pero contribuyen a garantizar la viabilidad de *L. lactis* en condiciones de estrés tecnológico (acidez, temperatura, sal, liofilización, compuestos antimicrobianos y bacteriófagos).

Por otro lado, la caracterización genética y fenotípica de mutantes de *L. lactis* resistentes a Lcn972 desveló la flexibilidad de *L. lactis* para modificar su peptidoglicano y reducir así su sensibilidad a antimicrobianos que actúan sobre la pared celular como Lcn972, nisina y lisozima. Además, se detectaron reorganizaciones genéticas mediadas por secuencias de inserción; entre ellas, la activación del gen *llmg2447*, un supuesto factor anti-sigma de función extracelular que confiere resistencia a Lcn972.

Asimismo, hemos descubierto que la ausencia de la proteasa de membrana FtsH impide la liberación de viriones del bacteriófago TP712 que son incapaces de lisar la pared de su huésped, reduciendo la carga viral en el ambiente.

Estos resultados establecen las bases para obtener cepas de *L. lactis* más robustas y optimizar su aplicación tecnológica como cultivo iniciador.

### 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.

## CARACTERIZACIÓN DE ARQUEAS HALÓFILAS BASADA EN EL ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE LÍPIDOS POLARES Y OTROS MÉTODOS TAXONÓMICOS

**Autor:** Paulina Corral Villa

**Directores:** Antonio Ventosa Ucero y Carmen Guitérrez Navarro

**Centro de realización:** Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

**Centro de presentación:** Universidad de Sevilla

En esta Tesis Doctoral se ha estudiado la biodiversidad cultivable de haloarqueas de hábitats hipersalinos geográficamente separados, en concreto a partir de cinco lagos salinos de Mongolia Interior y del Tíbet en China, del lago Aran-Bidgol en Irán y de las salinas de Isla Cristina en Huelva. Los resultados han permitido la descripción de cuatro nuevas especies de haloarqueas: *Natronorubrum sediminis*, *Halorubrum aquaticum*, *Natronococcus roseus* y *Halostagnicola bangense*. Los estudios detallados de la composición de lípidos polares en las haloarqueas alcalófilas han permitido la caracterización de una nueva cardiolipina presente en la membrana celular de especies de *Natronococcus*. Esta molécula está constituida por cadenas de diferente longitud nunca descritas previamente en haloarqueas y está involucrada en funciones bioenergéticas y en procesos de adaptación osmótica y de pH.

Debido al elevado número de especies pertenecientes al género *Halorubrum* y a la alta frecuencia con la que se aíslan, hemos utilizado como modelo las cepas aisladas del lago Aran-Bidgol en Irán para realizar un estudio comparativo mediante análisis por secuenciación multilócica (MLSA), el perfil de lípidos polares y el estudio filogenético basado en la comparación de secuencias del ARNr 16S. Los resultados se contrastaron con estudios de hibridación ADN-ADN que permitieron determinar si las cepas que constituyen tres grupos monofiléticos según el estudio MLSA (pero que no pudieron ser diferenciados en base a la comparación de secuencias del ARNr 16S) constituyen nuevas especies. Dicho estudio comparativo ha puesto de manifiesto una clara correlación entre los resultados obtenidos mediante MLSA y los perfiles lipídicos de las cepas estudiadas, pertenecientes a tres grupos filogenéticos bien diferenciados. Los estudios de hibridación ADN-ADN corroboran y validan los resultados previos y nos permiten proponer que en futuros estudios de taxonomía del género *Halorubrum* y de

otros géneros de haloarqueas se utilice el análisis de secuenciación multilócica, en contraste con los actuales estudios filogenéticos basados exclusivamente en la comparación de secuencias del ARNr 16S. Por último, la caracterización polifásica ha permitido describir taxonómicamente las cepas asignadas mediante MLSA a los tres grupos filogenéticos, como nuevas especies del género *Halorubrum*, para las que proponemos las denominaciones: *Halorubrum valerae*, *Halorubrum iranicum* y *Halorubrum halodurans*.

## DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS E (VHE) EN LAS DIFERENTES FASES DE TRATAMIENTO DE PURINES EN PLANTAS DE COMPOSTAJE

**Autor:** Mario García Andrés

**Directora:** María Teresa Pérez Gracia

**Centro:** Área de Microbiología. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad CEU Cardenal Herrera.

El VHE es el agente causal de la hepatitis E, enfermedad autolimitada en la mayoría de casos, siendo la vía oral-fecal su principal vía de transmisión, en concreto por bebida de agua contaminada. En países como España, el ganado porcino actúa como reservorio de la enfermedad y constituye un foco de diseminación de la misma mediante la gran cantidad de purines que son generados en las granjas, en los que se detecta una amplia presencia del VHE.

El principal objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia en la eliminación del VHE en plantas de tratamiento de purines de la provincia de Castellón, así como analizar filogenéticamente las cepas aisladas para compararlas con otras de origen porcino y humano.

No se detectó el VHE en los productos finales obtenidos en estas plantas tras depurar los purines, lo que sugiere que el tratamiento llevado a cabo en las mismas es eficaz en la eliminación del VHE, reduciéndose así los riesgos de transmisión de la enfermedad.

En el estudio filogenético, se observó una elevada similitud de las cepas aisladas en las plantas, con cepas humanas de pacientes de España y Francia, lo que refuerza, que el VHE es un agente zoonótico que puede suponer un problema de salud pública en países desarrollados como España, debido entre otras causas a la gran cantidad de purines que se generan.

## COLILOQUIO by Víctor



## PROTISTOLOGÍA

## LA REGLA TAMAÑO-TEMPERATURA EN EUKARIOTAS UNICELULARES

**Informa:** Ana Martín González.

Ante la gran cantidad de datos científicos contrastados, ni el político más obtuso niega ya la existencia de un cambio climático a nivel global. Es necesario tomar medidas, pero también, es indispensable predecir qué efectos se están produciendo, sobre los seres vivos. En 1994, D. Atkinson dio a conocer una regla para describir la plasticidad fenotípica del tamaño en un organismo ectotérmico frente a la temperatura. Según la regla tamaño-temperatura (RTT), los individuos que se desarrollan en temperaturas más frías dan lugar a adultos de mayor tamaño, que aquellos que se encuentran en temperaturas más cálidas. Este principio parece cumplirse en más de un 80 % de los seres vivos acuáticos ectotérmicos, tanto pluricelulares como unicelulares. En microorganismos, los estudios relacionados con este tema son muy escasos. Nuestra compañera Genoveva F. Esteban (Universidad de Bournemouth, UK), en colaboración con científicos de la Universidad Queen Mary de Londres, han estudiado la aclimatación térmica en el protozoo ciliado *Cyclidium glaucoma*, demostrando que en este microorganismo eucariota también se cumple la RTT. Por primera vez, en organismos unicelulares, se observa que la aclimatación térmica causa un desacoplamiento entre la proliferación celular (división) y el desarrollo celular (incremento de tamaño). Además, la respuesta intrageneracional de aclimatación a la temperatura es muy rápida, pero la abundancia poblacional no es dependiente de temperatura, sino del descenso máximo de biomasa causado por una disminución del tamaño individual de cada una de las células de la población. En definitiva, los microorganismos, al menos algunos protistas, cumplen la RTT, pero su respuesta intraespecífica adaptativa a la temperatura parece que conlleva mecanismos distintos a los que rigen en organismos pluricelulares.

**Forster J, Hirst AG y Esteban GF.** 2013. Achieving temperature-size changes in a unicellular organism. *ISME Journal* 7, 28–36.

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 las revistas o al grupo de divulgación D+D SEM.

[sem.microbiologia@gmail.com](mailto:sem.microbiologia@gmail.com)  
[semaforo@semicrobiologia.org](mailto:semaforo@semicrobiologia.org)  
[noticiasem@semicrobiologia.org](http://noticiasem@semicrobiologia.org)

## BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA

## SOBRE CIENCIA, BIOTECNOLOGÍA Y EL PORQUÉ DE SU GESTIÓN

**Informa:** Ignacio Belda Aguilar.

En los últimos años todos nosotros hemos visto cómo la inversión en materia de Investigación y Desarrollo (I+D) descendía en nuestro país. La inversión en I+D en España alcanzó su máximo en el año 2009, sufriendo desde entonces un descenso continuado que supuso ya el 37 % de quita, en cifras absolutas de inversión, el pasado año 2013. Ante este hecho es necesario identificar los determinantes científicos, políticos y sociales que acompañan a la inversión y que influyen en el avance de la ciencia. La gestión de la I+D a través de las patentes es una herramienta fundamental en la industria, que rige su cultura científica y cada vez más la de la investigación académica.

El porcentaje de inversión pública en España supera al privado. Para poner cifras, en 2008, la inversión privada en I+D en España suponía en 45,5 % de la inversión total, frente a una media europea del 55 % y porcentajes del 74,6 % y 64,3 % para Japón y EEUU, respectivamente. Esto debería obligar al sistema público español a desarrollar mecanismos de gestión eficiente de los resultados obtenidos en I+D. Sin embargo, el estudio llevado a cabo por el grupo de investigación dirigido por los Dres. Domingo Marquina y Antonio Santos, de la Universidad Complutense de Madrid, en colaboración con la Oficina Española de Patentes y Marcas, ha identificado una serie de carencias en la gestión pública de los resultados científicos, los cuales en ocasiones no son gestionados adecuadamente tras la obtención de la protección bajo patente, consumiendo recursos públicos en concepto de tasas de registro y renovación y sin una búsqueda activa de posibilidad de explotación. Esta conclusión se obtuvo tras aplicar un nuevo indicador de I+D basado en el «estado de la patente» (en trámite, en vigor, caducada...), indicador que habla sobre la flexibilidad con la que las distintas instituciones gestionan sus patentes en propiedad, fiel reflejo de la intensidad de su gestión en función de su posibilidad de explotación.

El artículo que se referencia abajo, y que tuvo su breve «precuela» en el n.º 54 de SEM@foro (Diciembre 2012), da pie a la reflexión y propone un sistema integrado de gestión de los resultados de investigación en el que los distintos actores implicados (investigadores, Oficinas de Transferencia de Resultados de Investigación-OTRIs, Industria y Oficinas de Patentes) toman parte, de forma coordinada, en el proceso de explotación del conocimiento generado en los centros de investigación, a fin de hacer rentable toda aquella ciencia que potencialmente pueda serlo.

**Belda I, Penas G, Alonso A, Marquina D, Navascués E y Santos A.** 2014. Biotech patents and science policy: the Spanish experience. *Nature Biotechnology*. Jan;32(1):59-61. doi: 10.1038/nbt.2781.

## BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA

## UN RNA NO CODIFICANTE ES RESPONSABLE DE LA INMUNOGENICIDAD DE LA VACUNA CONTRA LA TUBERCULOSIS MTBVAC

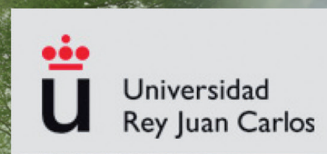
**Informa:** Jesús Gonzalo Asensio

Aunque la mortalidad debida a la tuberculosis ha descendido en los últimos años, la búsqueda de nuevas vacunas más eficaces que la actual BCG es una prioridad ante el desafío de erradicar esta enfermedad. Nuestro grupo ha diseñado una vacuna viva denominada MTBVAC mediante la inactivación de dos genes (*phoP* y *fadD26*) de *Mycobacterium tuberculosis*. PhoP es un regulador transcripcional cuyo papel en la virulencia de *M. tuberculosis* ha sido ampliamente estudiado. Hoy, las técnicas de secuenciación global nos han permitido ampliar nuestros conocimientos y revelar aspectos desconocidos de la red de regulación de PhoP. La

utilización combinada de ChIP-seq y RNA-seq permite conocer la unión de un factor de transcripción en relación con la regulación transcripcional. Usando esta metodología descubrimos que el gen más fuertemente regulado por PhoP no es un verdadero gen sino un RNA no codificante. Este RNA llamado *mcr7*, a su vez regula post-transcripcionalmente la traducción de la proteína TatC, implicada en la secreción de proteínas. Mediante proteómica global pudimos observar el enriquecimiento de proteínas secretadas mediante el sistema TAT en un mutante *phoP* de *M. tuberculosis*. Así, la red de regulación PhoP-*mcr7*-TatC nos ha permitido comprender el mecanismo molecular por el cual la vacuna MTBVAC induce mejor respuesta inmune frente a los antígenos de *M. tuberculosis*.

Solans L, Gonzalo-Asensio J, Sala C, Benjak A, Uplekar S, Rougemont J, Guilhot C, Malaga W, Martín C, Cole ST. . (2014). The PhoP-Dependent ncRNA Mcr7 Modulates the TAT Secretion System in *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathog. 10:e1004183. doi: 10.1371/journal.ppat.1004183.

# 2º Máster en Sanidad Ambiental



**Evaluación ambiental y de riesgos para la salud.  
Normalización, certificación y acreditación.  
Contaminación de aguas, suelos y atmósfera.  
Consultoría. PRÁCTICAS EN EMPRESAS.**

**Abierto el plazo de matriculación Curso 2014-2016.  
[www.ucm.es/edafologia/magister-en-sanidad-ambiental](http://www.ucm.es/edafologia/magister-en-sanidad-ambiental)**

# Querido Presidente,



Quiero unirme a los compañeros que me han precedido en esta sección del boletín SEM agradeciendo igualmente la oportunidad de escribir esta breve carta sobre algunos de los motivos que pueden llevar a re-emigrar a jóvenes investigadores que —al igual que yo— decidieron un día volver a España con un programa de recuperación de talento como el Ramón y Cajal. Hoy echo la vista atrás y he que reconocer que los acontecimientos transcurridos en los últimos tres años son, como poco, un relato ameno que espero disfruten todos los amigos de la SEM y quizá hasta alguno incluso pueda tomar nota para que alguna de las cosas que se cuentan no se vuelvan a repetir.

Como anunciaba David Moreira en su carta anterior (SEM@foro n.º 55 Junio 2013), muchos de los investigadores que ahora nos encontramos estabilizados en el extranjero hemos pasado por un intento de retorno frustrado a España. Querer volver es natural, sean cuales sean las motivaciones: vínculos familiares, apego cultural, la comodidad de manejarte en tu propia lengua, o el peso de una hipoteca por pagar. Independientemente de esto, la realidad es que la inmensa mayoría de los postdoctorales españoles buscan regresar para hacer carrera, y a ser posible al mismo centro de origen, movidos generalmente por una buena experiencia durante el doctorado. En este sentido mi historia no es diferente. Estudié Biología Molecular y Bioquímica en la Universidad Autónoma de Madrid, una Universidad estupenda con la que siempre me sentiré en deuda. Al final de mis estudios tuve la gran suerte de comenzar mi Tesis en el laboratorio del Prof. José Berenguer. Decisión desde todos los puntos de vista acertada, no solo porque me abrió las puertas de los mejores laboratorios para la estancia postdoctoral, sino por la enorme calidad humana que encontré en Pepe, quien ha

Felipe Cava



Felipe Cava obtuvo el doctorado europeo en Biología Molecular por la Universidad Autónoma de Madrid en 2007. Tras una estancia postdoctoral de 3 años y medio (2007-2010) en la Universidad de Harvard, accedió en 2011 a un puesto de investigador Ramón y Cajal en la Universidad Autónoma de Madrid. Desde 2013 es investigador principal del MIMS (EMBL-Suecia) y Profesor Asociado en el Departamento de Biología Molecular de la Universidad de Umeå. Su trabajo se centra en el estudio de la diversidad y plasticidad de las paredes celulares bacterianas combinando química analítica, biología molecular, genética y microscopía de alta resolución.

El laboratorio dirigido por Felipe Cava explora múltiples modelos bacterianos para entender el significado biológico de la regulación química y estructural de la pared, en especial en relación a fenómenos asociados con comunicación microbiana y adaptación ambiental. Uno de los objetivos principales del laboratorio es el desarrollo de la primera base de datos analíticos de paredes bacterianas que permita identificar elementos distintivos en el peptidoglicano de bacterias patógenas como herramienta para el diseño de terapias antimicrobianas más específicas y menos propensas a generar resistencias.

Para más detalles, puede visitarse la página web de su equipo:

[www.mims.umu.se/groups/felipe-cava.html](http://www.mims.umu.se/groups/felipe-cava.html)

[www.wallenbergacademyfellows.se/en/List-of-scientists/CavaFelipe/](http://www.wallenbergacademyfellows.se/en/List-of-scientists/CavaFelipe/)





La Universidad de Umeå es una Universidad joven, fundada en 1965, con gran proyección a nivel internacional en calidad educativa y actualmente la primera en Europa en cuanto a satisfacción del estudiante refiere (<http://www.umu.se/english/education/satisfied-students>). Para más información: <http://www.umu.se/>

El MIMS es el instituto nacional de infecciones biológicas. Se trata de un centro perteneciente al EMBL y a la Universidad de Umeå. La investigación en microbiología es muy potente en la Universidad de Umeå no solo gracias al MIMS sino también al UCMR (del inglés, Umeå Center for Microbial Research), un organismo que a modo de paraguas da cobertura técnico-formativa a los laboratorios de microbiología localizados en los distintos departamentos de la universidad. Para más información:

<http://www.mims.umu.se/>

<http://www.ucmr.umu.se/>

sido un apoyo incondicional durante toda mi carrera. Y aquí llega la segunda decisión vital y por la que verdaderamente comienzo esta historia.

A finales de 2007 tomé rumbo a Boston (USA) para comenzar mi postdoc en el laboratorio del Prof. Matthew K. Waldor en Harvard Medical School. El laboratorio de Matt Waldor es un referente mundial en el estudio de patógenos entéricos, en particular de *Vibrio cholerae*, la bacteria causante del cólera. Este cambio suponía un reto muy importante para mí ya que mi tesis doctoral se trataba de estudios fundamentalmente bioquímicos en una bacteria termófila, no patogénica. A pesar que mi tesis doctoral fue premiada con el premio extraordinario de doctorado (UAM) y el premio a la mejor Tesis del CBMSO (Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa»), los primeros meses de postdoc te bajan en seguida los humos ya que prácticamente comienzas a aprender desde cero e iniciar un proyecto siempre tiene sus riesgos. No obstante, tenía claros mis objetivos y sabía que para poder reincorporarme al sistema científico español como Investigador Ramón y Cajal debía hacer una ciencia excelente en tiempo record, que se tradujera en un mínimo de 2-3 publicaciones en revistas de alto impacto. Cada año es más competitivo y para ello no hay más que ver los CVs de los investigadores RyC de cada hornada. Cuando llegué a Boston, todo el mundo hablaba que el tiempo mínimo que había que invertir como postdoctoral para poder aspirar con garantías a un contrato RyC era de 4 a 7 años y subiéndolo. Por eso recuerdo como si fuera ayer la primera reunión que tuve con Matt para decidir mi proyecto en su laboratorio. Hay que tener en cuenta que, estos laboratorios de primer nivel son grupos con 20 investigadores posdoctorales brillantes, generalmente con su propia financiación, donde el éxito o fracaso de unos cuantos no condiciona terriblemente la producción científica global del grupo. Estos grupos son ideales si uno es suficientemente independiente, ya el grupo proporciona recursos más que suficientes tanto intelectuales como económicos para que el proyecto llegue a buen puerto.

Pensar un buen proyecto es fundamental. La continuación de líneas de investigación anteriores del laboratorio puede derivar en proyectos más seguros a corto plazo pero también más improductivos a la larga ya que raramente alcanzan la novedad necesaria para apuntar alto. No obs-

tante, el querer publicar «un pelotazo» implica asumir muchos riesgos que pueden dejarte al final con las manos vacías. Durante mi periodo postdoctoral vi como el sueño de mucha gente brillante se iba quedando en el camino por ambas causas.

Afortunadamente, mi etapa postdoctoral dio buenos frutos y a finales de 2010 estaba de regreso en Madrid con un contrato RyC debajo del brazo. La sensación de poder comenzar tu grupo en tu país, en tu Universidad, en «tu casa» es única. Te sobra motivación, ideas y ganas de comerte el mundo sin embargo, mi retorno a España coincidió con la mayor crisis económica de los últimos años. Sobre este hecho y su gravísimo impacto sobre el presupuesto nacional de I+D+i se han vertido ya ríos de tinta por lo que no voy a incidir más. No obstante, este motivo fue el claro detonante de un inesperado cambio de planes que ha terminado con mi destino y el de mi familia en Suecia.

Ganar un contrato RyC es complicado pero más aún lo es hacer ciencia digna con 15.000 euros de presupuesto y sin más personal que uno mismo. Para investigadores RyC adscritos a la Universidad, a esto anterior se suma una carga docente, a menudo asfixiante, que dificulta aún más si cabe el compatibilizar producción científica decente con disparar a toda convocatoria abierta de financiación que se mueva. Así poco a poco uno siente como el tiempo pasa y las oportunidades se van desvaneciendo; pero afortunadamente, existe el programa nacional de proyectos de investigación fundamental no orientada —el «Plan Nacional»—, sustento básico de todo grupo de investigación en nuestro país. Aparentemente en época de bonanza, los investigadores RyC tenían prácticamente garantizada la concesión de financiación en una primera convocatoria. No obstante, en vacas flacas, ésto ya no estaba tan claro, y el resultado como os podéis imaginar fue bastante paradójico. Pocos meses después de haber sido reincorporado al sistema científico español como RyC #2 en mi panel y una puntuación de 99.6/100; el mismo sistema de evaluación decidía, por motivos que guardo para mí, no conceder financiación para mi investigación. Son hechos como éste los que hacen que la política científica de nuestro país brille por su ausencia y seamos conocidos a nivel internacional por la inversión ineficiente en personal cualificado.

Perder una convocatoria del Plan Nacional es malo siempre pero es aún peor cuando de ella depende tu investigación más inmediata, tu consolidación posterior, y además no había ninguna garantía de que la siguiente convocatoria saliera en el plazo esperado. La primera etapa como investigador joven independiente es crítica en la vida de todo investigador. Posiblemente se trata de los años de mayor productividad y creatividad científica. Todo lo conseguido hasta el momento, especialmente durante de etapa postdoctoral, puede catapultarte a tener un laboratorio competitivo a nivel internacional y sin embargo ahora esos proyectos pendían de un hilo y cada día que pasaba el futuro resultaba más incierto. Con este horizonte a la vista, tome una decisión que cambió todo. Tan solo unos meses antes, fui invitado como conferenciante en el congreso internacional Vibrio2011 organizado brillantemente por Jesús Romalde de la Universidad de Santiago de Compostela. Tras mi ponencia, una de las personas que se acercó a hablar conmigo fue el director del MIMS (del inglés, Molecular Infection Medicine Sweden, EMBL-Universidad de Umeå). Durante esa conversación me informó sobre las enormes posibilidades que Suecia ofrecía a jóvenes investigadores para iniciar su carrera científica independientes. Aunque agradecí la propuesta, aclaré que recientemente había regresado a España con un programa de reincorporación en la misma línea al que él me comentaba. No obstante, insistió en ofrecerme su tarjeta de visita por si necesitaba cualquier tipo de información adicional en un futuro. Jamás hubiera pensado que aquel momento pudiera resultar tan decisivo en mi vida y la de los míos.

Tras recibir la negativa del Plan Nacional, eché mano al bolsillo, tomé la tarjeta y pensé «que daño me puede hacer tener un plan B». En seguida entré en contacto con la universidad de Umeå y el MIMS, cuyo personal fue extremadamente eficiente en facilitarme todo tipo de ayuda y asesoramiento para mandar mis solicitudes a dos convocatorias competitivas internacionales. El éxito en estas convocatorias condicionaría mi aceptación por parte de la institución. El tiempo pasó muy rápido. En un par de meses había superado el primer corte y pasaba a fase dos que consistía, para ambos procesos, en una presentación

oral frente a un comité de expertos donde defendería en 10 minutos mi plan de trabajo para los próximos 5 años. En cuestión de 6 meses desde mi solicitud, había pasado de no tener nada a tener concedidos 2 proyectos por 5 años, prorrogables otros 5 más, asociados a 2 becas predoctorales y otras 2 postdoctorales y una financiación del calibre de un ERC. Además, uno de estos proyectos (Wallenberg Academy Fellows; <http://www.wallenbergacademyfellows.se/en/List-of-scientists/CavaFelipe/>), venía acompañado de un elemento muy valioso que cada vez se está dando más en este tipo de convocatorias para jóvenes investigadores. Se trata de programa de mentores ideado para ofrecer asesoramiento constante en todo tipo de aspectos prácticos para crear exitosamente un grupo de investigación: conocimiento de la universidad, gestión y aprovechamiento del tiempo, solución de conflictos, cómo manejar la presión y las expectativas de una posición de liderazgo... Cada uno de los «fellows» podíamos elegir a cualquier miembro de la Real Academia de Ciencias Sueca como mentor. Incluso, en caso de tener interés en un investigador no-sueco, la organización también trabajaba al máximo en hacerlo posible.

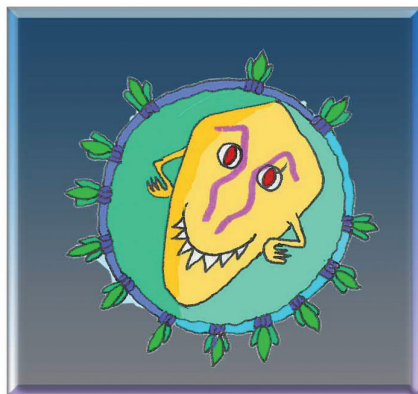
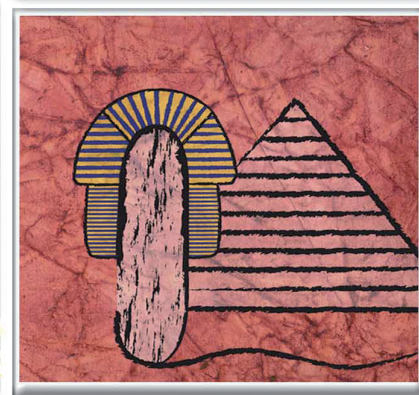
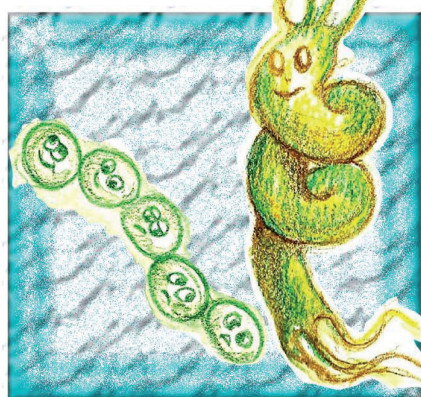
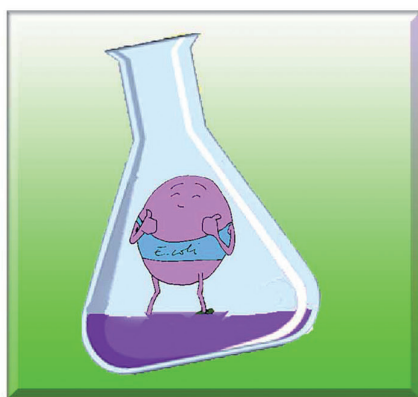
No obstante, la sensación de haber hecho lo correcto no la tuve del todo hasta hace unos meses, cuando me concedieron el equivalente sueco a nuestro Plan Nacional español con la dotación más importante de toda la Universidad de Umeå (<http://www.umu.se/nyhet//.cid224113>). Esta convocatoria es extremadamente competitiva (9 % de éxito), situación bastante paradójica cuando mi aplicación al Plan Nacional español fue denegada aun cuando el porcentaje de éxito es mucho mayor. Este hecho debe llevarnos a todos inevitablemente a un momento de reflexión. La «fuga de cerebros» no es resultado único del déficit presupuestario. La pérdida de talento joven, talento «hecho en casa», es también resultado de un sistema cerrado, donde la lucha por los intereses personales a menudo prevalece sobre el bien colectivo y donde las posibilidades son bajas sin un padrino.

El tiempo pasa y no espera a nadie. Hoy, ya no soy el chaval que volvía esperanzado a España en 2010 persiguiendo un sueño, hoy tengo mujer y dos hijos, y ellos ya hablan sueco.

DESDE EL 1 DE JULIO EN



# RELATOS MICROSCÓPICOS



Finalistas del I Concurso de  
narración corta SEM 2013



editorial  
**A**élice

**ELENA GARCÍA-VALDÉS PUKKITS**

Mariana Bordoy

**ESPERANZA GÓMEZ-LUCIA Y DUATO**

Víctor J. Cid

**MANUEL JOSÉ NIETO DOMÍNGUEZ**

Mercedes Berlanga

**MARÍA DEL CARMEN DE LA ROSA JORGE**

Pedro de la Rosa Jorge

**EMILIA QUESADA ARROQUIA**

Esperanza Campos

**JON TROUT**

XV

**Reunión**  
de Taxonomía,  
Filogenia y Diversidad  
Microbiana

**3-5**  
Julio 2014

Universidad de Alcalá  
Alcalá de Henares  
(Madrid)

[www.taxon2014.com](http://www.taxon2014.com)



Universidad  
de Alcalá

