

**García-González P, García-Lamas N, Fuentes Edfuf C y Santos Y.** (2011). Development of a PCR method for the specific identification of the marine fish pathogen *Tenacibaculum soleae*. *Aquaculture* 319: c1-4.

**Matos MJ, Vázquez-Rodríguez S, Santana L, Uriarte E, Fuentes-Edfuf C, Santos Y y Muñoz-Crego A.** (2013). Synthesis and structure-activity relationships of novel amino/nitro substituted 3-arylcoumarins as antibacterial agents. *Molecules* 18: 1394-1404.

**Muñoz Atienza E., Araújo C, Magadán S, Hernández PE, Herranz C, Santos Y y Cintas LM.** (2014). *In vitro* and *in vivo* evaluation of lactic acid bacteria of aquatic origin as probiotics for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) farming. *Fish Shellfish Immunol* 41: 570-580.

**Piñeiro-Vidal M, Rianza A y Santos Y.** (2008). *Tenacibaculum discolor* sp. nov. and *Tenacibaculum gallai-*

*cum* sp. nov., isolated from sole (*Solea senegalensis*) and turbot (*Psetta maxima*) culture systems. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 21-25.

**Piñeiro-Vidal M, Carballas CG, Gómez-Barreiro O, Rianza A y Santos Y.** (2008). *Tenacibaculum soleae* sp. nov. isolated from diseased sole (*Solea senegalensis*, Kaup). *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 881-88521-25.

**Piñeiro-Vidal M, Gijón D, Zarza C y Santos Y.** (2012). *Tenacibaculum dicentrarchi* sp. nov. a novel marine bacteria of the family *Flavobacteriaceae* isolated from European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 425-429.

**Santos Y, García-Márquez S, Pereira PG, Pazos F, Rianza A, Silva R, El Morabit A y Ubeira FM.** (2005). Efficacy of furunculosis vaccines in turbot, *scophthal-*

*mus maximus* (L.): evaluation of immersion, oral and injection delivery. *J Fish Dis* 28: 165-172.

**Vilar P, Failde LD, Bermúdez R, Vigliano F, Rianza A, Silva R, Santos Y y Quiroga MI.** (2012). Morphopathological features of a severe ulcerative disease outbreak associated with *Tenacibaculum maritimum* in cultivated sole, *Solea senegalensis* (L.). *J Fish Dis* 35: 437-445.

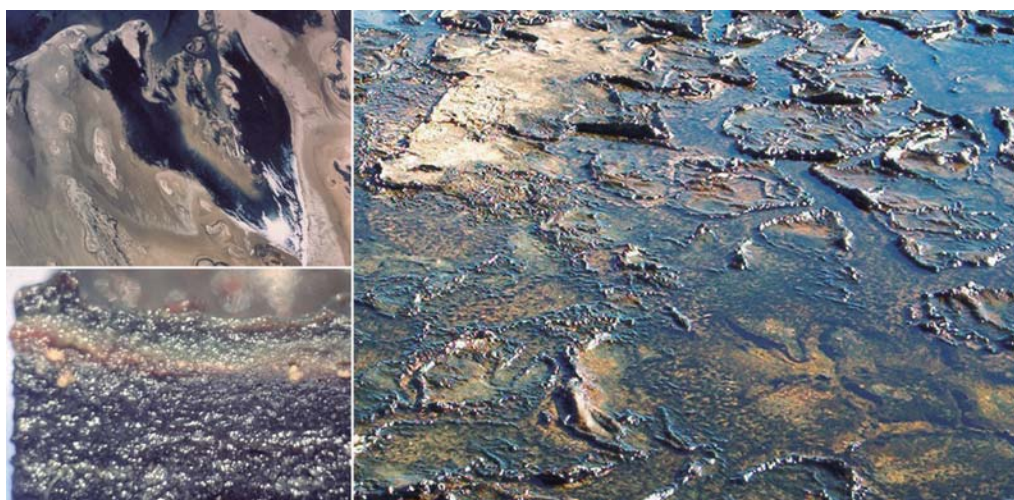
**Vázquez-Rodríguez S, Lama-López R, Matas MJ, Armesto-Quintas G, Serra S, Uriarte E, Santana L, Borges F, Muñoz A y Santos Y.** (2015). Design, synthesis and antibacterial study of new potent and selective coumarin-chalcone derivatives for the treatment of tenacibaculosis. *Bioorgan Med Chem* 23: 7045-7052.

## Ecogenética y Diversidad Microbianas

Jordi Urmeneta, Mercè Berlanga y Ricardo Guerrero



Departamento de Genética, Microbiología i Estadística de la Facultat de Biologia y Departamento de Biología, Sanidad y Medio Ambiente de la Facultat de Farmacia y Ciències de la Alimentació de la Universitat de Barcelona



Tapetes microbianos del Delta del Ebro. Foto aérea, vista general y macrofotografía de una sección.

El grupo de Ecogenética i Diversidad Microbianas (ECODIVEM) de la Universidad de Barcelona cuenta con una dilatada y amplia experiencia en el campo de la ecología microbiana tanto en comunidades planc-

tónicas lacustres como en comunidades bentónicas costeras. El grupo fue creado por el Prof. Ricardo Guerrero al conseguir en 1988 una cátedra en el Departamento de Microbiología de la Facultat de Biologia

de la Universidad de Barcelona, dejando el cargo de Director del Departamento de Genética y Microbiología de la Universidad Autónoma de Barcelona, que ocupaba en ese momento. En sus inicios el grupo esta-

ba centrado en el estudio de las dinámicas poblacionales de las bacterias fototróficas de los lagos del sistema cárstico de Banyoles y en la dinámica de acumulación de biopolímeros de reserva, como los poli- $\beta$ -hidroxialcanoatos, en los microorganismos y sus aplicaciones biotecnológicas. El grupo fue también pionero, junto con el grupo de Ecología Microbiana de la UAB, en iniciar los estudios de los tapetes microbianos del Delta del Ebro. Estos estudios se han continuado de forma ininterrumpida hasta el momento actual, siendo la línea principal de trabajo del grupo. A continuación se detallan las principales líneas de investigación llevadas a cabo por el grupo.

### **BIODIVERSIDAD ORGANÍSMICA Y MOLECULAR DE LOS TAPETES MICROBIANOS**

Los tapetes microbianos son comunidades procarióticas que representan los análogos actuales de los primeros ecosistemas que se dieron sobre la Tierra. El estudio de estos ecosistemas revela las estrategias microbianas para la supervivencia bajo una amplia gama de ambientes. Estos ecosistemas son sistemas complejos formados por poblaciones de microorganismos fotoautótrofos, fotoheterótrofos, quimioautótrofos y quimioheterótrofos. Las distintas poblaciones se distribuyen a lo largo del perfil vertical según las características fisicoquímicas presentes. Las poblaciones de cianobacterias, bacterias fototróficas y sulfatorreductoras constituyen la biomasa principal de estas comunidades, pero estudios recientes demuestran la presencia de una gran diversidad de otros microorganismos que desempeñan un papel básico en el reciclaje de los nutrientes en estos ecosistemas.

En primer lugar se localizaron todos los tapetes microbianos que había en la Punta de la Banya del Delta del Ebro, realizando un mapeado y estudiando los diferentes grados de desarrollo que mostraban en los diferentes puntos. Se realizaron observaciones microscópicas y análisis de biomasa y pigmentos a lo largo de ciclos circadianos. Trabajos realizados en colaboración con la Prof. Lynn Margulis, de la Universidad de Massachusetts (Amherst), dieron como resultado la observación y caracterización de la espiroqueta libre

de mayor tamaño descrita hasta el momento, *Spyrosymplokos deltaeiberi*.

Para obtener una buena aproximación a la biodiversidad y al estado fisiológico de la comunidad de los tapetes microbianos es preciso utilizar diferentes enfoques metodológicos. En el grupo se han realizado estudios combinados de biomarcadores lipídicos y de las secuencias del RNA ribosómico 16S en muestras de los tapetes microbianos del Delta del Ebro y del delta del Ródano, en la Camarga. La extracción, identificación y cuantificación de los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA) ha proporcionado información sobre la biomasa microbiana viable y sobre el estado metabólico y fisiológico de la comunidad. A pesar de la gran cantidad de información aportada por los análisis lipídicos, han sido necesarios métodos basados en los ácidos nucleicos para realizar un estudio taxonómico más exacto. La combinación del análisis lipídico con una técnica basada en la amplificación por PCR del 16S rDNA, seguida de un análisis DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis), permitió enumerar e identificar los componentes microbianos de la comunidad y establecer su estado fisiológico.

### **ACUMULACIÓN Y BIODEGRADACIÓN DE POLI- $\beta$ -HIDROXIALCANOATOS POR BACTERIAS. IMPORTANCIA A NIVEL ECOLÓGICO Y BIOTECNOLÓGICO**

La mayor parte de las inclusiones de reserva en organismos procarióticos son de poli- $\beta$ -hidroxialcanoatos (PHA). Los PHA son polímeros formados por subunidades de  $\beta$ -hidroxicarboxiácidos unidos por enlaces éster. Según el número de carbonos que posee cada subunidad tenemos diferentes tipos de PHA, entre los que destaca el poli- $\beta$ -hidroxibutirato (PHB), con subunidades de 4 carbonos. Estos biopolímeros se acumulan bajo condiciones de estrés metabólico o bajo condiciones de crecimiento no equilibrado (alta disponibilidad de carbono y escasez de otros nutrientes, como el nitrógeno y el fósforo). Así, tal y como se ha establecido en diferentes estudios, la acumulación de estos biopolímeros se puede relacionar con el estado fisiológico del microorganismo.

Se han realizado estudios de la acumulación de estos biopolímeros en bacterias y de

biodegradación en sedimentos anaeróbicos. También se ha utilizado la cuantificación de los PHA como indicadores del estado fisiológico y nutricional de las comunidades de los tapetes microbianos a lo largo de un ciclo circadiano.

En el momento actual, las nuevas instalaciones de tratamiento de aguas residuales deben incluir la generación de nuevos productos de valor añadido, con el fin de reducir su impacto ambiental. Por ello, el grupo también ha participado en un proyecto para analizar el potencial de producción de biopolímeros (como los PHA) dentro del mismo reactor biológico utilizado para el tratamiento de aguas residuales. De esta forma, controlando ciertas variables del proceso, es posible obtener, junto al tratamiento del agua residual, una cantidad importante de productos de elevado interés biotecnológico.

### **ESTUDIOS DE PROCESOS DE REDUCCIÓN DE NITRATO POR MICROORGANISMOS QUIMIOAUTÓTROFOS QUE PUDIERAN SER APLICADOS A LA DESCONTAMINACIÓN DE ACUÍFEROS**

La contaminación de los acuíferos por nitratos supone, cada vez más, un serio problema a nivel medioambiental. La desnitrificación es el proceso más importante para la atenuación de esta contaminación. La reducción del nitrato se puede producir por la oxidación de la materia orgánica y/o de distintos compuestos reducidos de azufre. No hay pruebas de que el nitrato pueda actuar como oxidante de la pirita en condiciones abióticas. En cambio, algunos estudios de campo aportan pruebas indirectas de la oxidación de la pirita, un reservorio muy importante de azufre reducido en muchas zonas. Esa oxidación se produciría mediante la respiración anaeróbica del nitrato por parte de bacterias desnitrificantes quimioautótrofas.

Experimentos realizados en microcosmos de laboratorio han demostrado la capacidad de *Thiobacillus denitrificans* de reducir el nitrato creciendo autotóticamente utilizando la pirita como única fuente de electrones. También se ha podido observar que la reducción de nitrato es mayor en los experimentos con pirita de tamaño de partícula menor (es decir, con mayor superficie reactiva).

Se han utilizado técnicas químicas, isotópicas y microbiológicas para estudiar, en experimentos de laboratorio, la capacidad de la pirita de estimular la actividad desnitrificante de la microbiota autóctona en aguas y sedimentos provenientes de un acuífero contaminado por nitrato. Además de los experimentos de bioestimulación, también se han llevado a cabo experimentos de bioaumentación mediante la inoculación de una bacteria desnitrificante autóctona conocida, *Thiobacillus denitrificans*.

En acuíferos, la mayor proporción de la biomasa microbiana está adherida a los sólidos y sólo una pequeña parte vive de forma planctónica. Los estudios realizados nos indican la capacidad de adhesión de la bacteria desnitrificante autóctona *T. denitrificans* a la superficie de la pirita y que la población de bacterias desnitrificantes planctónicas sobrevive a expensas del material solubilizado por parte de la población adherida. La gran cantidad de bacterias planctónicas viables favorece su dispersión y la colonización de nuevos nichos.

## SIMBIOSIS Y COMUNIDADES MICROBIANAS. ANÁLISIS DE ECOSISTEMAS MÍNIMOS

El rápido avance en el estudio del microbioma, especialmente en los últimos 15 años, ha revelado la contribución crucial de las comunidades microbianas a muchas funciones fisiológicas de animales, entre otras la digestión, la inmunidad y la reproducción. La coexistencia permanente de los diversos biontes forma el holobionte (según definió Joshua Lederberg), que es el conjunto del hospedador y su microbiana. Hemos analizado las relaciones a nivel de ecosistema tanto de ecosistemas mínimos, como los tapetes

microbianos o el intestino de insectos xilófagos, para intentar comprender la constancia, o equivalencia funcional, de las poblaciones procarionóticas a través de generaciones y a lo largo de la historia evolutiva de cada especie. Las interacciones simbióticas, tanto a nivel orgánico, como funcional o de sistemas, han desempeñado un papel esencial en la constancia, resiliencia y capacidad de adaptación a nuevos nichos ecológicos no explotados que muestran deficiencias nutricionales o factores ambientales no favorables o deletéreos. Nuestros últimos trabajos permiten conocer los mecanismos de las poblaciones microbianas que permiten la resistencia, autonomía y evolución de todo el ecosistema.

## PUBLICACIONES DESTACADAS

**Berlanga M, Llorens C, Comas J y Guerrero R.** (2016). Gut bacterial community of the xylophagous cockroaches *Cryptocercus punctulatus* and *Parasphaeria boleiriana*. PLoS ONE 11: e0152400. doi:10.1371/journal.pone.0152400.

**Guerrero R y Berlanga M.** (2016). From the cell to the ecosystem: The physiological evolution of Symbiosis. Evol Biol (June). DOI 10.1007/s11692-015-9360-5.

**Berlanga M y Guerrero R.** (2016). The holobiont concept: the case of xylophagous termites and cockroaches. Symbiosis 68:49-60 DOI 10.1007/s13199-016-0388-9

**Guerrero R, Margulis L y Berlanga M.** (2013). Symbiogenesis: the holobiont as a unit of evolution. Int Microbiol 16: 133-143.

**Guerrero R y Berlanga M.** (2013). An integrate ecogenetic study of minimal ecosystems: The microbial mats of the Ebro Delta and the Camargue (Western Mediterranean). Contrib Sci 9: 117-139.

**Torrentó C, Urmeneta J, Edwards KJ y Cama J.** (2012). Characterization of Attachment and Growth of *Thiobacillus denitrificans* on Pyrite Surfaces. Geomicrobiol J 29: 379-388.

**Torrentó C, Urmeneta J, Otero N, Soler A, Viñas M y Cama J.** (2011). Enhanced denitrification in groundwater and sediments from a nitrate-contaminated aquifer after addition of pyrite. Chem Geol 287: 90-101.

**Torrentó C, Cama J, Urmeneta J, Otero N y Soler A.** (2010). Denitrification of groundwater with pyrite and *Thiobacillus denitrificans*. Chem Geol 278: 80-91.

**Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, Geyer R, White DC y Guerrero R.** (2007). Monitoring diel variations of physiological status and bacterial diversity in an estuarine microbial mat: An integrated biomarker analysis. Microb Ecol 54: 523-531.

**Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, White DC y Guerrero R.** (2007). Analysis of diurnal and vertical microbial diversity of a hypersaline microbial mat. Arch Microbiol 188: 137-146.

**Wierchchos J, Berlanga M, Ascaso, C y Guerrero R.** (2006). Micromorphological characterization and lithification of microbial mats from the Ebro Delta (Spain). Int Microbiol 9: 289-295.

**Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, White DC y Guerrero R.** (2004). Combined phospholipid biomarker-16S rRNA gene denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial diversity and physiological status in an intertidal microbial mat. Appl Environ Microbiol 70: 6920-6926.

**Urmeneta J, Navarrete A, Huete J y Guerrero R.** (2003). Isolation and characterization of cyanobacteria from microbial mats of the Ebro Delta, Spain. Curr Microbiol 46: 199-204.

**Navarrete A, Peacock A, Macnaughton SJ, Urmeneta J, Mas-Castellà J, White DC y Guerrero R.** (2000). Physiological status and community composition of microbial mats of the Ebro Delta, Spain, by signature lipid biomarkers. Microb Ecol 39: 92-99.

**Guerrero R, Haselton A, Solé M, Wier A y Margulis L.** (1999). *Titanospirillum velox*: A huge, speedy, sulfur-storing spirillum from Ebro Delta microbial mats. Proc Natl Acad Sci USA 96: 11584-11588.

**Urmeneta J, Alcoba Ó, Razquín E, Tarroja E, Navarrete A y Guerrero R.** (1998). Oxygenic photosynthesis and respiratory activity in microbial mats of the Ebro Delta, Spain, by oxygen exchange method. Curr Microbiol 37: 151-155.

**Mas-Castellà J, Urmeneta J, Lafuente R, Navarrete A y Guerrero R.** (1995). Biodegradation of Poly- $\beta$ -hydroxyalkanoates in anaerobic sediments. Int Biodeterior Biodegradation 35: 155-174.

**Urmeneta J, Mas-Castella J y Guerrero R.** (1995). Biodegradation of poly- $\beta$ -hydroxyalkanoates in a lake sediment sample increases bacterial sulfate reduction. Appl Environ Microbiol 61: 2046-2048.

**Margulis L, Ashen JB, Sole M y Guerrero R.** (1993). Composite, large spirochetes from microbial mats: Spirochete structure review. Proc Natl Acad Sci USA 90: 6966-6970.

**Guerrero R, Urmeneta J y Rampone G.** (1993). Distribution of types of microbial mats at the Ebro Delta, Spain. BioSystems 31: 135-144.

## FE DE ERRATAS

En el número anterior (nº 60; diciembre de 2015), en la sección Nuestros Grupos (Microbiología de los Alimentos) en la página 4. Donde dice "la Dra. Capita García" debe decir "la Dra. Capita González".

Asimismo, en el pie de figura de la página 15, correspondiente al artículo "Imaginando Microbios", donde dice: "Una vorticela en microscopía de campo oscuro" debería poner "Un *Stentor* en microscopía de campo oscuro"; y en el pie de foto de la página 16, en lugar de "Una colonia de protozoos" debería decir "Grupo de ciliados del género *Paramecium*".