

DIVERSIDAD DE COMUNIDADES HETERÓTROFAS ASOCIADAS A LAS AGUAS DE CONSUMO

Autora: Laura Sala Comorera

Directores: Dr. Anicet R. Blanch Gisbert y Dra. Cristina García Aljaro

Centro de realización: Universitat de Barcelona

El agua mineral embotellada y el agua de la red de distribución no son aguas estériles sino que contienen una gran diversidad de microorganismos. De hecho, la diversidad propia del agua de consumo ha sido poco explorada hasta el momento. El propósito de esta tesis doctoral fue contribuir al estudio de la composición y la dinámica de las comunidades microbianas de el agua mineral natural envasada y agua potable de distribución a lo largo del proceso de potabilización.

Las marcas de agua mineral tienen una huella molecular característica durante su vida comercial, lo que sugiere la posibilidad de definir un marcador molecular para su trazabilidad. El número de células viables y heterótrofos en placa experimentan cambios durante el tiempo de vida comercial en función del material de la botella.

En el ámbito del agua potable, se evaluó el uso de MALDI-TOF MS para la identificación rutinaria de las cepas aisladas en una planta de tratamiento de agua potable. La identificación por MALDI-TOF MS es una metodología útil y prometedora gracias a su robustez y a la velocidad para la identificación microbiana. El factor limitante es la falta de una base de datos de espectros adecuada para cepas ambientales.

EL EXÓMERO DE SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE COLABORA EN EL TRÁFICO VESICULAR ENTRE EL APARATO DE GOLGI Y EL SISTEMA ENDOSOMAL

Autora: Marta Hoya Gallego

Directora: M^a Henar Valdivieso Montero

Centro de realización: Departamento de Microbiología y Genética – Universidad de Salamanca

Centro de presentación: Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) centro mixto CSIC/USAL

A pesar de su importancia biológica, el paso del tráfico vesicular entre el aparato de Golgi y la membrana plasmática es uno de los menos entendidos del proceso de secreción. El exómero es un complejo de proteínas que participa en el tráfico entre la zona *trans* del aparato de Golgi (TGN) y la membrana plasmática en la levadura de gemación *Saccharomyces cerevisiae*. En este trabajo hemos demostrado que en *Schizosaccharomyces pombe* las proteínas Cfr1 y Bch1 constituyen la forma más simple de exómero posible. En la levadura de fisión el exómero cicla entre el TGN, los endosomas y el compartimento pre-vacuolar, mostrando que la distribución de este complejo es más amplia de lo que se sospechaba. Además, el gen *cfr1** interactúa con distintos adaptadores de clatrina, tanto APs como GGAs, que llevan a cabo funciones en estos orgánulos.

En esta tesis doctoral se ha demostrado que el exómero interactúa con adaptadores de clatrina en el tráfico a través de distintos compartimentos intracelulares y que esta interacción es importante en el mantenimiento de la integridad del sistema. Esto indica que el exómero podría participar en otros pasos del tráfico vesicular en otros organismos.

COMUNICACIÓN INTERCELULAR BACTERIANA Y SU INHIBICIÓN EN AMBIENTES SALINOS

Autora: Marta Torres Béjar

Directoras: Inmaculada Llamas Company y Emilia Quesada Arroquia

Centro de realización: Facultad de Farmacia, Universidad de Granada

Las enfermedades infecciosas que afectan a la acuicultura constituyen un serio problema en todo el mundo y causan enormes pérdidas económicas en el sector. Se ha demostrado que un gran número de bacterias patógenas poseen sistemas de comunicación intercelular de tipo quorum sensing (QS) dependientes de moléculas señal, con las que regulan la producción de factores de virulencia. Debido a ello, aunque tradicionalmente se han utilizado los antibióticos, hoy en día la alternativa más novedosa para combatir las enfermedades en la acuicultura es la interrupción de los sistemas QS de las bacterias patógenas. Entre las distintas estrategias que

existen para interferir los mecanismos QS se encuentra la degradación enzimática de las moléculas señal, conocida como quorum quenching (QQ).

En este estudio presentamos la selección y caracterización de 22 cepas con actividad QQ a partir de dos colecciones de 146 y 450 aislados marinos procedentes de criaderos de peces y moluscos de Lugo y Granada. Las cepas seleccionadas han dado muy buenos resultados en ensayos *in vivo* en moluscos y corales frente a patógenos marinos cuyas moléculas señal han sido caracterizadas por primera vez y de forma paralela en este trabajo.

En esta tesis también se ha abordado la búsqueda de enzimas QQ en ambientes salinos utilizando técnicas de ecología molecular. Así, a partir de una librería metagenómica de un suelo salino constituida por 250.000 clones se ha identificado una nueva clase de enzima QQ no relacionada con otros tipos de enzimas descritos previamente. Esta enzima ha sido probada *in vivo* frente a bacterias patógenas tanto del sector de la acuicultura como de la agricultura, y se han obtenido resultados muy prometedores.

Se reivindica así la interferencia de la comunicación intercelular bacteriana como una estrategia eficaz para combatir las enfermedades en la acuicultura y agricultura.

PATHOGENESIS AND TRANSMISSION OF LYMPHOCYSTIS DISEASE VIRUS (LCDV) IN GILTHEAD SEABREAM (*SPARUS AURATA* L.)

Autora: Estefanía Jiménez Valverde

Directores: Dr. Juan José Borrego García y Dra. Dolores Castro López

Centro de realización: Universidad de Málaga

El virus de la enfermedad de linfocistis (LCDV), familia *Iridoviridae*, es el agente causal de la enfermedad de linfocistis (LCD), una de las principales patologías descritas en las piscifactorías de dorada. Los principales objetivos de esta tesis doctoral han sido el estudio de la patogénesis del LCDV en dorada, y el establecimiento de las rutas de transmisión del mismo en larvas y alevines de esta especie.

Se han diseñado y evaluado protocolos de qPCR y RT-qPCR para la cuantificación de genomas y transcritos virales, de ICC-RT-PCR para la detección y cuantificación de virus infectivos, y de hibridación *in situ* para la detección de transcritos virales en secciones histológicas, así como un ensayo LAMP que permite la detección rápida y económica del virus en piscifactorías. Por otra parte, se han realizado estudios histopatológicos en doradas infectadas con LCDV.

Los resultados obtenidos indican que la infección por LCDV en juveniles de dorada presenta un carácter sistémico, incluso en infecciones subclínicas. Además, el curso de la infección puede ser crónico, presentando los peces una infección persistente durante un periodo de tiempo indeterminado. El LCDV presenta un tropismo muy amplio. Además de los fibroblastos de la dermis, existen células en hígado, bazo, riñón, intestino y cerebro que son capaces de soportar una infección vírica productiva. Las células permisivas para la replicación del LCDV parecen ser fibroblastos, hepatocitos y células del sistema fagocítico mononuclear. Los cambios histopatológicos asociados con la LCD aparecen en diferentes órganos de alevines de dorada, y revierten cuando los peces se recuperan de la enfermedad.

En cuanto a la transmisión del LCDV, se ha comprobado que los reproductores asintomáticos son portadores que podrían liberar partículas víricas en sus fluidos reproductivos y/o excreciones, provocando la transmisión del virus a las larvas. Además, tanto los rotíferos como los metanauplios de *Artemia* pueden actuar como vector para la transmisión del LCDV a doradas. Por último, el LCDV provoca una infección productiva en *Artemia*, al menos en las condiciones experimentales

utilizadas, lo cual extiende el rango de hospedador del LCDV a crustáceos.

DESCRIPCIÓN DE NUEVOS TAXONES BACTERIANOS ASOCIADOS A ALMEJA CULTIVADA. CARACTERIZACIÓN DE LA ESPECIE *VIBRIO TORANZONIAE* SP. NOV.

Autor: Aide Lasa González

Director: Jesús López Romalde

Centro de realización: Facultad de Biología-CIBUS, Universidad de Santiago de Compostela.

El estudio de la microbiota asociada a diferentes especies de almeja cultivada es importante, no solo para la identificación y descripción de nuevas especies bacterianas, sino también para el éxito de los cultivos, ya que permite la detección de posibles patógenos de especies con interés acuícola. Los estudios que analizan las comunidades microbianas en almejas todavía son escasos. Uno de los trabajos más extensos fue el realizado por nuestro grupo de investigación en el que se analizaron comparativamente las poblaciones microbianas asociadas a cultivos de almeja fina y japónica. Sin embargo, un número considerable de aislados no pudo ser identificado por tratarse de posibles nuevos grupos bacterianos. Sobre esta base nos propusimos los objetivos de describir algunos de estos nuevos taxones bacterianos mediante una aproximación polifásica.

De esta forma se han identificado cinco nuevos taxones bacterianos, dos de ellos miembros del género *Vibrio* (*Vibrio toranzoniae* sp. nov. y *Vibrio cortegadensis* sp. nov.), una especie del género *Lacinutrix* (*Lacinutrix venerupis* sp. nov.) y dos pertenecientes al género *Marinomonas* (*Marinomonas gallaica*

sp. nov. y *Marinomonas atlantica* sp. nov.). Además, se analizaron los genomas de tres posibles nuevas especies del género *Psychrobacter* con potencial interés en procesos de biorremediación.

En este trabajo también incluimos la primera descripción de *Vibrio toranzoniae*, asociada a mortalidades de congrio rojo en Chile, demostrando el potencial patógeno para peces de los aislados chilenos, pero no de las cepas aisladas de almeja en Galicia. El análisis genómico comparativo realizado entre la cepa tipo de la especie y un representante de los aislados chilenos mostró diferencias en diferentes factores de virulencia que permiten explicar este comportamiento, como son: los sistemas de adquisición de hierro, la producción de toxinas RTX o la capacidad para sintetizar cápsula.

El estudio de los mecanismos de persistencia de estas cepas de *V. toranzoniae* en condiciones ambientales adversas demostró que siguen estrategias diferentes. Mientras la cepa tipo entra en el estado viable no cultivable y es capaz de resucitar, la cepa representativa chilena mantiene intacta su cultivabilidad, aunque mostrando una reducción en el número de células cultivables. El análisis de la expresión de los genes *ftsZ* y *mreB* mostró una reducción en ambas cepas durante el estudio, mientras que en el gen *envZ* observamos una sobreexpresión en la cepa tipo de la especie. Este resultado indicaría que este gen cumple una función relevante en la adaptación de la bacteria al ambiente.

Los resultados obtenidos en este trabajo abren nuevos frentes para futuros trabajos en el estudio de esta especie como patógeno de peces, como puede ser la determinación del rango de hospedador o la ruta de entrada en el hospedador.

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 (m.sanchez@umh.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.

Los resúmenes de tesis dirigidas por miembros de la SEM no serán publicados en esta sección. Se recomienda enviar a la sección "Nuestra Ciencia" un resumen de alguno de los artículos producidos por la tesis.