

Taxonomía de bacterias del medio acuático: diversidad, recursos genéticos y aspectos aplicados

María A. Ruvira², Teresa Lucena², David R. Arahal^{1,2}, Rosa Aznar^{1,2}, María J. Pujalte^{1,2}, M. Carmen Macián²



¹Departament de Microbiologia i Ecologia y ²Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universitat de València. <http://www.uv.es/cect>



Foto de grupo.

De izquierda a derecha: Amparo Ruvira, David R. Arahal, María Jesús Pujalte, Teresa Lucena, MariCarmen Macián.

UN POCO DE HISTORIA

En la década de los 80, el grupo de investigación fundado por Esperanza Garay y dedicado al estudio de la microbiota bacteriana de las aguas del lago de la Albufera de Valencia expandió su área de estudio a las aguas marinas costeras colindantes, iniciándose así una línea de trabajo ampliada al medio marino dentro de la cual realizaron sus tesis doctorales María J. Pujalte (1985) y Rosa Aznar (1991), hoy investigadoras senior y catedráticas del equipo. M. Carmen Macián, *curator* de procariotas en la CECT, se formó como doctora en el seno de este grupo (2001), lo mismo que Teresa Lucena y María A. Ruvira algunos años más tarde (2012 y 2013, respectivamente). Por su parte David R. Arahal, se incorporó a la Universidad de Valencia en 2004 con un contrato Ramón y Cajal y, por su historial en taxonomía de halófilos (doctor por la U. de Sevilla en 1998), no tuvo problemas

en sumar casi toda su dedicación investigadora a esta línea.

EVOLUCIÓN RECIENTE

El grupo ha desarrollado su actividad centrado sobre todo en aspectos taxonómicos de la microbiota marina cultivable, con especial dedicación al trabajo en sistemática, pero con conexiones con el diagnóstico de patógenos bacterianos en organismos marinos (bivalvos, peces cultivados) y estudios sobre la incidencia y distribución anual de bacterias autóctonas marinas en diferentes tipos de muestras. En los últimos diez años el enfoque taxonómico se ha acentuado notablemente gracias a la financiación recibida a nivel nacional con los proyectos 'TAXPROMAR - Taxonomía, filogenia y conservación de bacterias marinas' (CGL2005-02292/BOS) y 'TAXPROMAR2010' (CGL2010-18134/BOS) y, a nivel autonómico,

con el proyecto 'Exploración de la diversidad microbiana y de su potencial biotecnológico' (PROMETEO/2012/040) dentro de las ayudas de la Generalitat Valenciana para Grupos de Investigación de Excelencia.

Desde el punto de vista metodológico, nuestro grupo ha hecho un esfuerzo por incorporar las técnicas más resolutivas y de mayor aplicabilidad al trabajo de rutina. Entre las primeras podemos nombrar el análisis de secuencias génicas multilócicas (MLSA) y, más recientemente, el cálculo de índices genómicos como criterios para la definición de especies bacterianas y para establecer relaciones evolutivas. Entre las segundas se encuentran la obtención de perfiles de ácidos grasos de membrana metil esterificados (FAME) y de perfiles proteicos totales por MALDI-TOF MS.

El cálculo de índices genómicos tales como el Average Nucleotide Identity (ANI) o la Hibri-

dación DNA-DNA estimada *in silico* (eDDH), implica trabajar con secuencias genómicas (completas o borrador), lo que a su vez posibilita nuevas vías de estudio y caracterización de microorganismos mediante el análisis genómico y la genómica comparada. Así, el análisis de las secuencias genómicas permite hacer la anotación de genes y clústeres, detección de islas genómicas, secuencias regulatorias, y otros rasgos descriptivos. Pero además, se pueden hacer estudios de inferencia fenotípica para establecer correspondencias entre las secuencias genómicas observadas y los caracteres fenotípicos de la cepa. Así mismo, permiten desvelar la presencia de genes y rutas metabólicas, que no siendo esperadas pueden ser valiosas para la descripción del microorganismo y, más aún, para su potencial aplicación biotecnológica.

PRESENTE Y FUTURO

Actualmente, el grupo participa en el proyecto Retos Colaboración 'Drinking Water Library' (RTC-2015-4496-2) junto con Aigües de Barcelona y la Fundación Bosch i Gimpera - Universitat de Barcelona. La investigadora principal por la Universitat de València es la Dra. Rosa Aznar, directora de la Colección Española de Cultivos Tipo. El objetivo del proyecto es el desarrollo de una biblioteca de perfiles MALDI-TOF MS para la identificación de microorganismos aislados de aguas de consumo (redes de distribución y embotelladas). El papel del grupo en el proyecto viene avalado por la experiencia de haber participado en el proyecto europeo 'European Consortium of Microbial Resource Centres -EMbaRC' (FP7- 228310), en el que se generaron más de 1000 perfiles MALDI-TOF MS consensuados y representantes de diversas especies bacterianas, así como por la experiencia de los miembros del grupo en la taxonomía de bacterias de origen acuático. La colaboración del grupo contribuirá al desarrollo de una base de datos específica de microbiota de aguas de consumo, amplia y validada que facilitará la implementación de la espectrometría de masas MALDI-TOF como técnica de rutina en el análisis microbiológico del agua. Junto a proyectos como éste con metas aplicadas, mantenemos el interés de

seguir haciendo ciencia básica, explorando y describiendo la diversidad microbiana en un ambiente tan importante como es el medio acuático.

AGRADECIMIENTOS

A los investigadores que se formaron con nosotros y tiraron del carro con todo su empeño. A los colaboradores externos que han compartido su trabajo y experiencia con nosotros.

PUBLICACIONES DE LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS RELACIONADAS CON LA MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO

- Arahal DR, Pujalte MJ y Rodrigo-Torres L.** (2016). Draft genomic sequence of *Nereida ignava* CECT 5292^T, a marine bacterium of the family *Rhodobacteraceae*. *Stand Genomic Sci* 11: 21.
- Arahal DR, Rodrigo-Torres L, Lucena T y Pujalte MJ.** (2015). Draft genome sequences of *Vibrio renipiscarius* strains CECT 8603^T and CECT 8604, two marine gammaproteobacteria isolated from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Genome Announc* 3(2).
- Arahal DR, Shao Z, Lai Q y Pujalte MJ.** (2014). Draft genome sequence of *Actibacterium mucosum* KCTC 23349, a marine alphaproteobacterium with complex ionic requirements isolated from Mediterranean seawater at Malvarrosa Beach, Valencia, Spain. *Genome Announc* 2(3).
- Cuesta G, Soler A, Alonso JL, Ruvira MA, Lucena T, Arahal DR y Goodfellow M.** (2013). *Pseudonocardia hispaniensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from industrial wastewater activated sludge. *Antonie Van Leeuwenhoek* 103: 135-42.
- de la Haba RR, Arahal DR, Sánchez-Porro C y Ventosa A.** (2014). The family *Halomonadaceae*. In: Rosenberg E, DeLong EF, Stackebrandt E, Lory S, Thompson F (ed), *The Prokaryotes—Gammaproteobacteria*, 4th ed, vol 9, pp. 325-60. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Lucena T, Ruvira MA, Pascual J, Garay E, Macián MC, Arahal DR y Pujalte MJ.** (2011) *Photobacterium aphoticum* sp. nov., isolated from coastal water. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 1579-84.
- Lucena T, Pujalte MJ, Ruvira MA, Garay E, Macián MC y Arahal DR.** (2012). *Tropicibacter multivorans* sp. nov., an aerobic alphaproteobacterium isolated from surface seawater. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 844-8.
- Lucena T, Ruvira MA, Arahal DR, Macián MC y Pujalte MJ.** (2012). *Vibrio aestivus* sp. nov. and *Vibrio quintilis* sp. nov., related to *Marisflavi* and *Gazogenes* clades, respectively. *Syst Appl Microbiol* 35: 427-31.
- Lucena T, Ruvira MA, Garay E, Macián MC, Arahal DR y Pujalte MJ.** (2012). *Actibacterium mucosum* gen. nov., sp. nov., a marine alphaproteobacterium from Mediterranean seawater. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 2858-64.
- Lucena T, Ruvira MA, Macián MC, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2013). Description of *Tropicibacter mediterraneus* sp. nov. and *Tropicibacter litoreus* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* 36: 325-9.
- Lucena T, Ruvira MA, Macián MC, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2014). *Roseovarius albus* sp. nov., a new Alphaproteobacterium isolated from the Mediterranean Sea. *Antonie Van Leeuwenhoek* 105: 671-8.
- Pascual J, Lucena T, Ruvira MA, Giordano A, Gambacorta A, Garay E, Arahal DR, Pujalte MJ y Macián MC.** (2012). *Pseudomonas litoralis* sp. nov., isolated from Mediterranean seawater. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 438-44.
- Pérez-Cataluña A, Lucena T, Tarazona E, Arahal DR, Macián MC y Pujalte MJ.** (2016). Taxonomic update of the Splendidus clade, a lineage containing several fish and shellfish pathogenic *Vibrio* spp., through MLSA. *Syst Appl Microbiol*. *Aceptado*.
- Pujalte MJ, Lucena T, Ruvira MA, Arahal DR y Macián MC.** (2014). The family *Rhodobacteraceae*. In Rosenberg E, DeLong EF, Stackebrandt E, Lory S, Thompson F (ed), *The Prokaryotes—Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*, 4th ed, vol 8, pp. 439-512. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genome of *Leisingera aquaeremixtae* CECT 8399^T, a member of the Roseobacter clade isolated from a junction of fresh and ocean water in Jeju Island, South Korea. *Genom Data* 7: 233-6.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genome sequence of *Thalassobius mediterraneus* CECT 5383^T, a poly-beta-hydroxybutyrate producer. *Genom Data* 7: 237-9.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genome sequence of *Shimia marina* CECT 7688^T. *Mar Genomics*, en prensa.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genomes of *Nautella italica* strains CECT 7645^T and CECT 7321: Two roseobacters with potential pathogenic and biotechnological traits. *Mar Genomics* 26: 73-80.
- Ruvira MA, Lucena T, Pujalte MJ, Arahal DR y Macián MC.** (2013). *Marinifilum flexuosum* sp. nov., a new Bacteroidetes isolated from coastal Mediterranean Sea water and emended description of the genus *Marinifilum* Na et al., 2009. *Syst Appl Microbiol* 36: 155-9.
- Tarazona E, Lucena T, Arahal DR, Macián MC, Ruvira MA y Pujalte MJ.** (2014). Multilocus sequence analysis of putative *Vibrio mediterranei* strains and description of *Vibrio thalassae* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* 37: 320-8.
- Tarazona E, Pérez-Cataluña A, Lucena T, Arahal DR, Macián MC y Pujalte MJ.** (2015). Multilocus Sequence Analysis of the redefined clade Scophthalmi in the genus *Vibrio*. *Syst Appl Microbiol* 38: 169-75.
- Tarazona E, Ruvira MA, Lucena T, Macián MC, Arahal DR y Pujalte MJ.** (2015). *Vibrio renipiscarius* sp. nov., isolated from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Int J Syst Evol Microbiol* 65:1941-5.