CMIBM
VALENCIA 2022

CMIBM

VALENCIA 2022

VIII Congreso Nacional de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

ORGANIZA Y COLABORA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MICROBIOLOGÍA

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MICROBIOLOGÍA

iata
Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos

2sysbio
INSTITUTE FOR INTEGRATIVE SYSTEMS BIOLOGY

Margarita Salas

CSIC
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Universitat de València

PATROCINA

Humanizing Genomics
macrogen SPAIN

ADM

INDICE

BIENVENIDA AL CONGRESO.....4

COMITÉ CIENTÍFICO.....5

COMITÉ ORGANIZADOR.....5

COLABORADORES.....5

PROGRAMA.....6

CONFERENCIA INAUGURAL.....9

COMUNICACIONES ORALES

-Microbiota y Biotecnología.....11

-Biotecnología Farmacéutica.....16

-Biotecnología de Alimentos.....22

-Biotecnología Ambiental-Agrícola.....28

-Biotecnología Enzimática.....35

CONFERENCIA DE CLAUSURA.....40

POSTERS

-Microbiota y Biotecnología.....41

-Biotecnología Farmacéutica.....59

-Biotecnología de Alimentos.....67

-Biotecnología Ambiental-Agrícola.....90

-Biotecnología Enzimática.....116

ASISTENTES.....131

BIENVENIDA AL CONGRESO

Quisiera dar la bienvenida a todos los participantes a esta octava edición del Congreso Nacional de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Ha pasado mucho tiempo desde la exitosa edición del último CMIBM en Cádiz y ha llegado por fin el momento de poder volver a reunirnos en este evento científico. El SARS-CoV-2 cortó en seco el congreso en el año 2020, pero en este 2022 volvemos a reencontrarnos con el ánimo renovado. Como novedad, ésta es la primera vez que el CMIBM se realiza de manera híbrida (presencial y online), lo que posibilita en mayor medida la asistencia en estos tiempos complicados.

Quiero también mostrar mi agradecimiento a las instituciones que han hecho posible que nos reunamos en esta ocasión en Valencia: la Sociedad Española de Microbiología y su Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas y la Universitat de València. De igual manera quiero agradecer a todos los miembros de los comités y a los colaboradores por el trabajo desarrollado, a la Fundación Universidad-Empresa de la Universitat de València por la excelente organización y a las empresas que han prestado su apoyo económico. Finalmente, cómo no, agradecer a todos los ponentes por su fantástica contribución científica.

Estoy seguro de que la calidad de las ponencias y presentaciones con las que contamos, el marco de la ciudad de Valencia y las ganas con las que retomaremos esta actividad científica, después del paro al que la pandemia nos ha obligado, harán de esta edición del CMIBM todo un éxito.

Vicente Monedero García
Presidente del Comité Organizador

COMITÉ CIENTÍFICO

José Antonio Gil Santos
Presidente del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana.
Departamento de Biología Molecular, Área de Microbiología, Universidad de León.

Juana Rodríguez Bullido
Vicepresidenta del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana.
Departamento de Biomedicina y Biotecnología, Universidad de Alcalá de Henares.

Ángel Manteca
Secretario y Tesorero del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana.
Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo.

Jesús Manuel Cantoral
Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana
Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Universidad de Cádiz.

Vicente Monedero
Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana
Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Valencia.

Francisco Javier Ruiz Dueñas
Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana.
Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

Antonio Sánchez Amat
Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana
Departamento de Genética y Microbiología, Universidad de Murcia.

Ramón I. Santamaría
Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana.
Instituto de Biología Funcional y Genómica, CSIC, Universidad de Salamanca.

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente:
Vicente Monedero
(Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Valencia)
Vocales:
Margarita Orejas
(Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Valencia)
Emilia Matallana
(Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, Universitat de València)
José Luis García
(Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid)
Andrew P. MacCabe
(Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Valencia)

COLABORADORES

Pilar Rodríguez Viso
Eva María Moya Gonzálvez
David Roldán López

PROGRAMA

Miércoles 1 junio

14:30 Recogida de documentación y colocación de pósteres.

15:30 Inauguración del Congreso
16:00 Conferencia inaugural
-Una perspectiva microbiana para la medicina de precisión
Toni Gabaldón (Institute for Research in Biomedicine and Barcelona Supercomputing Center, Barcelona)
17:00 Pausa Café
17:30 Sesión I (MICROBIOTA Y BIOTECNOLOGÍA). Moderador: Antonio Sánchez Amat
-Consorcios artificiales como base de productos disruptivos
Manuel Porcar (Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, Valencia)
-Distintas estrategias de las bifidobacterias para sobrevivir y adaptarse al entorno
Abelardo Margolles (Instituto de Productos Lácteos de Asturias, Villaviciosa)
18:30 Presentaciones orales cortas:
Mecanismos alternativos de resistencia a bacteriófagos en una misma especie bacteriana
Andrea Martínez-Cazorla; Martínez-Jiménez, Christian J.; Andrés-González, V. Mateos-Sánchez, Carlos; Lucas-Elío, Patricia; Sánchez-Amat, Antonio. Universidad de Murcia
Caracterización de nanobioconjugados de péptidos Cry11 y su actividad insecticida en larvas de *Aedes aegypti*.
Diego F. Herrera-Pineda; Orozco-Holguín, Jahir; Rueda-Forero Nohora J.; William-Avila, Frank; Cruz-Laiton, Jenniffer; Guzmán-Quimbayo, Fanny; Suárez-Barrera, Miguel O. Universidad de Santander, Colombia y Universidad de Antioquía, Colombia.
Biofilms catalíticos mixtos sustentados por mecanismos de quorum sensing
Jorge Barriuso. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Madrid
19:15 Visita guiada por el centro histórico y cocktail de bienvenida en el Jardín Botánico de la Universidad de Valencia.

Jueves 2 junio

09:00 Sesión II (BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA). Moderadores: Ramón Santamaría y Ángel Manteca.
-Microbioma marino como fuente de antitumorales
Fernando de la Calle (Pharmamar, Madrid)
-Metaboloma microbiano y descubrimiento de nuevos productos naturales
Olga Genilloud (Fundación MEDINA, Granada)
-De la cuna a la tumba: EntreChem, una experiencia spin-off en Biotecnología entre la biocatálisis y la biología sintética
Francisco Moris (Entrechem, Oviedo)
10:30 Presentaciones orales cortas:
Ferrocinas, un nuevo antibiótico frente a las bacterias multirresistentes: biosíntesis y bioactividad
Carolina Cano Prieto; Harald Gross. Universidad de Tübingen, Alemania
Expresión heteróloga de complejos de señalización dependientes de receptores de tipo Toll en *Saccharomyces cerevisiae*
Elba del Val; Coronas-Serna, Julia María; Molina, María; J. Cid, Víctor. Universidad Complutense de Madrid
Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for hydroxytyrosol overproduction directly from glucose
Ricardo Bisquert; Planells-Cárcel, Andrés; Valera-García, Elena; Guillamón, José Manuel y Muñiz-Calvo, Sara. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia

11:00 Pausa café

PROGRAMA

11:30 Sesión III (BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS). Moderador: Jesús M. Cantoral
-Virus de transmisión alimentaria: relevancia y futuros desafíos
Gloria Sánchez (Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia)
-Nuevas vías de disminución del grado alcohólico del vino mediante evolución dirigida
Jordi Tronchoni (Universidad Internacional de Valencia, Valencia/Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino, Logroño)
-Identificación de moléculas responsables de los mecanismos de acción de los probióticos
Daniel Ramón (ADM-Biopolis, Valencia)
13:00 -Presentaciones orales cortas:
Optimización del pie de cuba para favorecer el desarrollo de la fermentación alcohólica mediante levaduras autóctonas
Katherine Bedoya; M.Carmen Portillo; Albert Mas. Universitat Rovira i Virgili, Tarragona
S. cerevisiae* responde de forma similar al co-cultivo o a una fracción enriquecida en vesículas extracelulares de *M. pulcherrima
Miguel Mejias-Ortiz; Mencher, Ana; Tronchoni, Jordi; Gonzalez, Ramon; Morales, Pilar. Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino, Logroño
An ADH2 gene conversion drove the adaptive evolution of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts Sonia Albillos-Arenal; Noemi Daroqui; Paloma Manzanares; Roberto Pérez-Torrado; Amparo Querol; Eladio Barrio. Intitute of Agrochemistry and Food Technology, Valencia

13:30 Pósteres
14:00 Comida
15:30 Sesión IV (BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL-AGRÍCOLA). Moderadores: F. Javier Ruiz Dueñas y Jose A. Gil
-Los bioplásticos de origen microbiano, ¿Una alternativa sostenible?
Auxi Prieto (Centro de Investigaciones Biológicas, Madrid)
-Microbiología de ambientes extremos y la búsqueda de vida en exploración planetaria
Víctor Parro (Centro de Astrobiología, Madrid)
-Depuración de efluentes por hongos y algas
Paqui Blánquez Cano (Universitat Autònoma de Barcelona)
-FungalBraid: Una plataforma de clonaje modular universal para el desarrollo de la biología sintética en hongos. Aplicaciones en agroalimentación
José F. Marcos (Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia)
17:30 Presentaciones orales cortas:
Producción de lípidos y carotenoides usando medios derivados de residuos y la levadura oleaginosa *Rhodosporidium toruloides*
María Gallego-García; Moreno, Antonio D.; Ballesteros, Ignacio; Negro, María José. Departamento de Energía. CIEMAT, España
Transcriptoma comparativo de basidiomicetos saprófitos
Idoia Jiménez; Alfaro, Manuel; Pisabarro, Antonio G.; Ramírez, Lucía. Universidad Pública de Navarra, Pamplona
Micovirus como posible alternativa a los fungicidas sintéticos contra *Botrytis cinerea*
Maripaz Villanueva; Gustavo Cordero; María Carbú; María Gutiérrez; Jesús Cantoral. Universidad de Cádiz

18:00 Pausa Café y pósteres
21:00 Cena del Congreso

PROGRAMA

Viernes 3 junio

9:30 Sesión V (BIOTECNOLOGÍA ENZIMÁTICA). Moderador: Juana Rodríguez Bullido

-Reprogramming fungal peroxygenases by directed evolution for biotechnological applications

Miguel Alcalde (Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, Madrid)

-Nuevas termoenzimas de origen metagenómico

María-Isabel González-Siso (Universidade da Coruña)

10:30 Presentaciones orales cortas:

Nanoensamblajes de acetilcolinesterasa y β-lactamasa inmovilizadas sobre nanopartículas magnéticas biomiméticas como biosensores para detectar contaminantes

Mónica Jiménez Carretero; Ylenia Jabalera; Alberto Sola Leyva; María Paz Carrasco Jiménez; Concepción Jiménez López. Universidad de Granada

Expresión y caracterización de nuevas monooxigenasas fúngicas

Gabriel Roscales; Molinero, Amaya; Alfaro, Manuel; Ibáñez-Vea, María; Ramírez, Lucía; Pisabarro, Antonio G. Universidad Pública de Navarra, Pamplona

Síntesis enzimática de glicósidos de EGCG para potenciar sus propiedades bioactivas

Juan A. Méndez-Líter, Ana Pozo-Rodríguez, Enrique Madruga, María Rubert, Laura I. de Eugenio, Ana Martínez, Cristina Sánchez, Alicia Prieto, María Jesús Martínez. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Madrid

11:00 Pausa café

11:30 Conferencia de clausura

-Compartimentos en la membrana bacteriana y su papel en la resistencia a antibióticos

Daniel López (Centro Nacional de Biotecnología, Madrid)

12:30 Clausura del congreso

13:00 Comida

CONFERENCIA INAUGURAL

UNA PERSPECTIVA MICROBIANA PARA LA MEDICINA DE PRECISIÓN

Gabaldón, Toni[1,2,3,4]

[1]Barcelona Supercomputing Centre (BSC-CNS), Spain. [2]Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), Spain, [3]Catalan Institution for Research and Advanced Studies (ICREA), Spain, [4]CIBERINFEC, Spain.

toni.gabaldon@irbbarcelona.org

Los avances técnicos en secuenciación masiva han abierto nuevas oportunidades para la investigación médica y la práctica clínica. Desde que se completó el primer borrador completo de la secuencia del genoma humano, la mayor parte del enfoque se ha puesto en explotar la genómica humana con importantes avances logrados en el diagnóstico de enfermedades genéticas y en la orientación de la terapia contra el cáncer. Aunque se considera menos comúnmente, el uso de tecnologías de secuenciación para microbios infecciosos o comensales también ha generado muchas nuevas oportunidades en medicina. Basándome en trabajos de mi propio grupo, mi charla ilustrará como la secuenciación permite una medicina de precisión desde el punto de vista de los microorganismos, tanto como posibles agentes infecciosos, como en su papel de organismos comensales. Mostraré algunas de las posibles aplicaciones que van desde el establecimiento de nuevos métodos de diagnóstico basado en el microbioma, como la búsqueda de nuevos compuestos antifúngicos que permitan vencer a cepas multiresistentes.

CMIBM

VALENCIA 2022

COMUNICACIONES ORALES

CONSORCIOS ANTIFICIALES COMO BASE DE PRODUCTOS DISRUPTIVOS

Porcar, Manuel
Universitat de València/Darwin Bioprospecting Excellence, Paterna, València, España
mporcar@darwinbioprospecting.com; manuel.porcar@uv.es

La diversidad microbiana de nuestro planeta es enorme, y muchos de los microorganismos naturales tienen aplicaciones industriales en procesos de fermentación o biorremediación, entre otros. Sin embargo, la dificultad para abarcar toda la biodiversidad de microorganismos, las dificultades de su cultivo y la tendencia a usar monocultivos dificultan la puesta a punto de soluciones microbianas para la industria. En esta ponencia se describirán estos problemas, así como ejemplos de la selección y desarrollo de consorcios microbianos como soluciones “prête a porter” para la industria. Estos ejemplos incluyen la biorremediación de aguas ácidas ricas en sulfatos procedentes del refinado de aceites; el diseño de preparados panificables que combinan levaduras salvajes y lactobacilos para elaborar pan de masa madre o bebidas fermentadas; el uso de cócteles de microorganismos como probióticos de uso veterinario; o la síntesis de biomateriales alternativos a aquellos de origen animal (“piel” vegana a partir de celulosa microbiana).

DISTINTAS ESTRATEGIAS DE LAS BIFIDOBACTERIAS PARA SOBREVIVIR Y ADAPTARSE AL ENTORNO

Abelardo Margolles[1,2]

[1] Grupo de Funcionalidad y Ecología de Microorganismos Beneficiosos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias. Paseo Río Linares s/n 33300 Villaviciosa.

[2] Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias. Avenida Hospital Universitario s/n 33011 Oviedo.

amargolles@ipla.csic.es

Las bifidobacterias son miembros de la microbiota intestinal de los mamíferos y otros animales. Son bacterias del filo Firmicutes, Gram positivas, no formadores de esporas, inmóviles, anaerobias y con un alto contenido en G + C en sus genomas. Su nombre deriva de las formas con dos ramas en Y o V que suelen presentar bajo ciertas condiciones de cultivo. De las más de cien especies descritas en el género *Bifidobacterium*, solo cinco tienen estatus de QPS otorgado por la EFSA (*Qualified Presumption of Safety*; microorganismos que se utilizan en la cadena alimentaria y que no suponen un problema de seguridad). Cepas de estas cinco especies (*B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. adolescentis* y *B. animalis*) están siendo utilizadas como probióticos en humanos y existe evidencia científica sólida sobre sus efectos beneficiosos en nuestra salud.

Para poder sobrevivir y ejercer su actividad, las bifidobacterias han desarrollado una serie de capacidades que les permiten adaptarse al entorno intestinal, tales como la tolerancia a factores de estrés, el metabolismo de poli/oligosacáridos presentes en la dieta y la producción de moléculas bioactivas que intervienen en sus interacciones con las células del hospedador. Estas capacidades pueden ser modificadas para obtener cepas de interés para la industria alimentaria y biotecnológica, con características funcionales y/o tecnológicas mejoradas.

MECANISMOS ALTERNATIVOS DE RESISTENCIA A BACTERIÓFAGOS EN UNA MISMA ESPECIE BACTERIANA

Martínez-Cazorla, Andrea; Martínez-Jiménez, Christian J.; Andrés-González, V. Mateos-Sánchez, Carlos; Lucas-Elío, Patricia y Sánchez-Amat, Antonio*

[1]Departamento de Genética y Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia. España

**a.martinezcazorla@um.es*

Entender los mecanismos bacterianos de resistencia a fagos es importante por el papel de estos en la supervivencia bacteriana y como elementos de transferencia horizontal de genes, entre otros aspectos. Además, de estos mecanismos de resistencia se pueden derivar importantes aplicaciones biotecnológicas, como es el caso de las enzimas de restricción y de los sistemas CRISPR-Cas.

Marinomonas mediterranea es una bacteria marina Gram-negativa. En la cepa MMB-1 la resistencia a podovirus está mediada por sistemas CRISPR-Cas. Esta cepa posee dos sistemas de tipo I-F y III-B, respectivamente. Los dos sistemas cooperan en la resistencia y están sujetos a mecanismos reguladores comunes. Otras cepas de *M. mediterranea* poseen una dotación distinta de sistemas CRISPR-Cas. La cepa MMB-2 solo tiene un sistema I-F, mientras que la cepa MMB-3 tiene un sistema I-F y otro III-B, que se diferencia del de la cepa MMB-1 en no tener Cas1 fusionada a una retrotranscriptasa. Estas dos cepas son resistentes a algunos podovirus pese a no poseer espaciadores que reconozcan a estos fagos. Estos datos sugieren que la resistencia es debida a la actuación de sistemas de defensa alternativos a CRISPR-Cas. Análisis genómicos comparativos de las tres cepas han mostrado una gran diversidad de sistemas de defensa que difieren de una cepa a otra. Se han aislado fagos mutantes infectivos sobre la cepa MMB-2 o sobre la MMB-3, con mutaciones localizadas en distintos genes virales. Estos resultados sugieren que los mecanismos de resistencia frente a los fagos en las dos cepas son diferentes entre sí.

MICROBIOTA Y BIOTECNOLOGÍA: COMUNICACIONES CORTAS

CARACTERIZACIÓN DE NANOBIOCONJUGADOS DE PÉPTIDOS CRY11 Y SU ACTIVIDAD INSECTICIDA EN LARVAS DE *AEDES AEGYPTI.*

Herrera-Pineda, Diego F.[1-2-3]; Orozco-Holguín, Jahir[3]; Rueda-Forero Nohora J.[1]; William-Avila, Frank[4]; Cruz-Laiton, Jenniffer[1]; Guzmán-Quimbayo, Fanny[5]; Suárez-Barrera, Miguel O. [1-3]*

[1-]Universidad de Santander, Grupo de investigación Biología Molecular y Biotecnología, Colombia, [2-] Universidad de Antioquía, Corporación Ciencias Básicas Biomédicas, Colombia, [3-] Universidad de Antioquia, Grupo Max Planck Tandem en Nanobioningeniería, Colombia, [4-] Universidad de Antioquia, Grupo Max Planck Tandem en Biología Reproductiva del mosquito, [5-]Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

**Email del autor que presentará el trabajo: biomol.investigacion@udes.edu.co*

Cry11Aa es una toxina que controla *Aedes aegypti*, vector del Dengue, Fiebre Amarilla, Zika y Chikungunya; sin embargo, su modo de acción y características aún no se han elucidado completamente. Mediante una técnica de barajado de ADN de genes *cry11* se obtuvo la variante 8Cry11Aa, la cual fue 6 y 4 veces más toxica que las parentales Cry11Aa y Cry11Bb respectivamente. Esta toxicidad posiciona esta proteína como una candidata de interés biotecnológico para combatir la resistencia natural adquirida por diferentes vectores de enfermedades.

Diversas investigaciones han reportado que el uso de nanomateriales es una estrategia óptima en conjunto con las proteínas Cry para el control de mosquitos transmisores de enfermedades, debido a sus características físico-químicas. En este estudio, se planteó caracterizar nanobioconjugados basados en péptidos sintetizados mediante Fmoc en fase sólida a partir de regiones del dominio II y III de Cry11Aa y 8Cry11Aa; las mutaciones se realizaron mediante aumentos de carga, hidrofobicidad y estabilidad con cisteínas. A la fecha, mediante pruebas de letalidad en larvas de primer estadío estos han presentado toxicidad en concentraciones aproximadas de 100 µM. Adicionalmente, mediante Docking molecular se ha señalado que existen regiones del receptor ALP1 de *A. aegypti* que presentan interacciones fuertes con algunos péptidos sintetizados. Así que, el uso de herramientas de mejoramiento genético ancladas a modelamientos *in silico* en este proyecto; han permitido el estudio de la relación receptor/proteína, recolectando de esta forma información relevante que permitan una mejora en procesos de evolución dirigida al sitio en proteínas tipo insecticidas.

BIOFILMS CATALÍTICOS MIXTOS SUSTENTADOS POR MECANISMOS DE *QUORUM SENSING*

*Barriuso, Jorge**

Grupo de Sistemas Microbianos e Ingeniería de Proteínas, Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Madrid. *jbarriuso@cib.csic.es*

El hongo dimórfico saprófito *Ophiostoma piceae* regula su transición morfológica y la secreción de enzimas mediante mecanismos de *quorum sensing* (QS), siendo el farnesol la única molécula de QS detectada. Esta molécula señal también puede servir para establecer una comunicación cruzada con microorganismos pertenecientes otros reinos de la naturaleza, como por ejemplo bacterias. En este sentido, se ha descrito que la bacteria *Pseudomonas putida* KT2440 es capaz de formar biofilms y de producir compuestos de valor añadido, además posee dos sistemas de QS, uno "huérfano" sin producción de molécula señal y otro mediado por ácido dodecanoico.

La cooperación entre microorganismos es esencial para coordinar sus actividades metabólicas y la distribución espacio-temporal de las comunidades polimicrobianas en el ambiente. Esta cooperación suele estar regulada por mecanismos de QS, de manera que manipulando estos sistemas se puede optimizar la eficiencia de los procesos de biocatálisis llevados a cabo por consorcios microbianos.

En este trabajo estudiamos el papel de los mecanismo de QS en la formación de biofilms mixtos de *O. piceae* y *P. putida* con actividad catalítica. Para ello se han realizado experimentos de co-inoculación en presencia de distintas moléculas señal, se ha analizado la arquitectura de los biofilms, así como su capacidad para valorizar residuos agro-industriales produciendo compuestos de valor añadido. Además se han llevado a cabo análisis "omicos" para dilucidar los componentes moleculares del sistema y las interacciones que se dan entre ambos microorganismos.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos BIO2015-73697-JIN (MINECO/FEDER) y PID2020-114210RB-I00 (MICINN).

BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

MICROBIOMA MARINO COMO FUENTE DE ANTITUMORALES

Fernando de la Calle
Dpto. Microbiología I+D. PharmaMar S.A.

El microbioma marino contiene un astronómico número de genes con la potencialidad de producir un inimaginable arsenal de compuestos naturales que pueden ser "humanizados" para el descubrimiento de nuevos farmacéuticos, enzimas mejorados, novedosos materiales o nuevas fuentes de alimentación, servicios de diagnosis o cualquier otra aplicación que podamos imaginarnos. Es el concepto de "biotecnología azul".
Hace cuatro décadas comenzó la exploración de invertebrados (y tunicados) marinos como fuente de nuevas moléculas con bioactividades. Se elucidaron estructuras de alta complejidad y precisos mecanismos de acción. Dieron lugar al llamado "*Marine Drug Discovery*" y "*Marine Natural Products*". Se trata fundamentalmente de pequeños metabolitos péptidos y policétidos. Desde entonces, varios de esos compuestos han entrado en ensayos clínicos, fundamentalmente en el tratamiento del cáncer e incluso hoy existen varios medicamentos de origen marino aprobados para su uso en hospitales por todo el mundo.
Recientes estudios de metagenómica sugieren que esos compuestos encontrados en metazoos marinos son en realidad de origen microbiano. Los casos de ecteinascidinas, didemninas, dolastatinas o pederinas son algunos ejemplos del papel del microbioma marino en la biosíntesis de antitumorales.
Hoy en día podemos explorar genomas bacterianos para identificar policétidos sintasas (PKS) y péptido sintetasas no ribosomales (NRPS) y así seleccionar microorganismos candidatos a producir metabolitos de interés industrial. Muchos de estas agrupaciones génicas están silenciadas y se necesitan nuevas metodologías de inducción para que puedan biosintetizarlos.
Todos estos temas serán tratados en la presentación del Dr. Fernando de la Calle "*Microbioma marino como fuente de antitumorales*" aportando la experiencia realizada por PharmaMar.

BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

METABOLOMA MICROBIANO Y DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS PRODUCTOS NATURALES

Genilloud, Olga
Fundación MEDINA, España.
olga.genilloud@medinaandalucia.es

Los productos naturales de origen microbiano son una de las fuentes más relevantes para el descubrimiento de nuevos fármacos, y especialmente en el caso de los antibióticos. Dada su complejidad estructural, y su selectividad y potencia resultado de una larga selección evolutiva, son moléculas con propiedades adecuadas para su interacción con una amplia diversidad de dianas biológicas, y punto de partida para el diseño de nuevos fármacos.

MEDINA es un centro de referencia en la investigación de productos naturales de origen microbiano dirigida a la búsqueda de nuevas moléculas con aplicación en biomedicina y biotecnología a partir de una de las mayores colecciones de cultivos y librerías de extractos. Una de nuestras líneas de trabajo se centra en explorar el potencial metabólico de estos microorganismos, y abordar aproximaciones que permitan explorar la enorme diversidad de metabolitos que pueden ser producidos. Estos programas integran desde la minería de genomas para la identificación de nuevas rutas de biosíntesis en cepas de alto interés a la aplicación de herramientas analíticas para el análisis integral de la diversidad metabólica de los extractos microbianos. Hemos descrito recientemente diferentes familias de nuevos compuestos con interesantes características químicas y actividades biológicas que servirán de base para presentar los abordajes que desarrollamos en el centro en la búsqueda de nuevos productos naturales.

BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

DE LA CUNA A LA TUMBA: ENTRECHEM, UNA EXPERIENCIA SPIN-OFF EN BIOTECNOLOGÍA ENTRE LA BIOCATÁLISIS Y LA BIOLOGÍA SINTÉTICA

Morís, Francisco
EntreChem SL, Oviedo, España
fmv@entrechem.com

EntreChem fue una empresa de biotecnología fundada como spin-off de la Universidad de Oviedo con la misión de valorizar la investigación de los fundadores académicos de la misma. La tecnología de ingeniería genética de actinomicetos por un lado y la biocatálisis por otro permitieron desarrollar una cartera de fármacos innovadores en oncología basados en productos naturales, y por otra parte facilitar el acceso de moléculas quirales ópticamente puras para aplicaciones en química médica. Esto supone abordar varias líneas de trabajo, discutiremos los distintos modelos de negocio para la creación de valor que exige cada caso.
Tras 15 años de trayectoria, EntreChem se posicionó como la única empresa en el mundo con 2 productos naturales híbridos, obtenidos por biosíntesis combinatoria y biología sintética, listos para ensayos clínicos. La falta de financiación para dichos ensayos clínicos llevó a EntreChem SL a la tumba, mientras que los programas de fármacos fueron adquiridos por una empresa norteamericana para continuar en EEUU su desarrollo clínico.

BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA: COMUNICACIONES CORTAS

FERROCINAS, UN NUEVO ANTIBIÓTICO FRENTE A LAS BACTERIAS MULTIRRESISTENTES: BIOSÍNTESIS Y BIOACTIVIDAD.

Cano-Prieto, Carolina[1]; Gross, Harald[1];*
[1]Departamento de Biología farmacéutica, Universidad de Tübingen, Alemania.
**cano.prieto.carolina@gmail.com*

Las bacterias resistentes a múltiples antibióticos son un grave problema de la salud pública requiriendo una urgente necesidad de nuevos fármacos. Aquí presentamos a las ferrocinas como candidato a nuevos tratamientos.

Ferrocina A y sus tres congéneres son lipodecapéptidos producidos por *Pseudomonas fluorescens* YK-310. Esta familia de péptidos no-ribosomales (NRP) fueron descritos por primera vez hace treinta años y ya mostraban un gran potencial frente a las bacterias Gram-negativas del panel ESKAPE, especialmente frente a la bacteria nosocomial *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, su ridículo nivel de producción (0´0016g/l en fermentador) ha hecho inviable su desarrollo biotecnológico y farmacéutico. Por ello, nuestra investigación se ha centrado en la caracterización del agrupamiento génico biosintético (BGC) y su regulación para una mejora de la producción. BGC consta de seis genes estructurales de los cuales cuatro codifican para una sintetasa de péptidos no-ribosomales (NRPS), dos elementos génicos implicados en la regulación, un transportador y un gene implicado en la resistencia.

La ferrocina A y sus derivados son potentes inhibidores de la proteína LspA (1 mg en ensayos en placa). LspA es una peptidasa del péptido señal de lipoproteínas, presenta una solo copia del gen en el genoma bacteriano y esencial para la maduración y secreción proteínas del metabolismo primario en *Pseudomonas* sp. Las ferrocinas actúan directamente en esta novedosa diana terapéutica bloqueando su capacidad catalítica. Además, para resistir a la acción de su propio antibiótico, *P. fluorescens* YK-310 posee una segunda copia de LspA filogenéticamente alejada de las LspA descritas.

EXPRESIÓN HETERÓLOGA DE COMPLEJOS DE SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTES DE RECEPTORS DE TIPO TOLL EN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

del Val, Elba[1]; Coronas-Serna, Julia María[2]; Molina, María[1]; J. Cid, Víctor[1]
[1]Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad Complutense de Madrid, España.
[2]Department of Fundamental Microbiology, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland.
**elbadval@ucm.es*

Un rasgo común en los receptores de la inmunidad innata es la transmisión de las señales mediante la formación de macrocomplejos denominados SMOCs (Supramolecular Organizing Centers). El myddosoma, integrado por MyD88 y otras proteínas, es uno de los SMOCs más conocidos, y se forma tras la estimulación de la mayoría de los receptores de tipo Toll (TLR) y del receptor de la interleuquina 1 (ILR1). A pesar de la evidencia de la formación de estos complejos en las células de mamífero, queda mucho por elucidar en cuanto a su regulación, jerarquía de ensamblaje y localización subcelular.

El desarrollo de nuevos modelos para el estudio de estos complejos es importante para su estudio molecular. *Saccharomyces cerevisiae* proporciona un modelo unicelular sencillo para la reconstitución de rutas heterólogas. En este trabajo abordamos el desarrollo de levaduras humanizadas mediante la expresión y ensamblaje de componentes del myddosoma. Entre ellos, las proteín quinasas IRAK4 e IRAK1 conducen a un fenotipo de inhibición del crecimiento. El análisis del perfil transcriptómico de las levaduras expresando estas quinasas revela interferencias en regulación metabólica, si bien resulta específico para cada una de ellas.

Por otra parte, hemos sido capaces de recapitular varias de las interacciones que tienen lugar en las células superiores. Entre ellas, la interacción entre MyD88 e IRAK4, que coinmunoprecipitan y colocalizan en puntos citosólicos que coinciden con las uniones entre el retículo endoplásmico y las mitocondrias (ERMES). Por último, hemos expresado versiones mutantes y truncadas de MyD88 para definir los determinantes de su localización en el modelo levadura, la cual no está definida en células superiores.

METABOLIC ENGINEERING OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* FOR HYDROXYTYROSOL OVERPRODUCTION DIRECTLY FROM GLUCOSE

Bisquert, Ricardo[1]; Planells-Cárcel, Andrés[1]; Valera-García, Elena[1]; Guillamón, José Manuel[1] and Muñiz-Calvo, Sara[1].

[1]Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), España.

r.bisquert@iata.csic.es

Hydroxytyrosol (HT) is a polyphenol with remarkable bioactivity that has numerous properties and applications in different areas, including cosmetics, nutraceuticals and food. The main ways to obtain it are plant extraction or chemical synthesis. To cope with high amounts of impurities or the elevated costs of synthesis the design and development of yeast cell factories brings an attractive and challenging way to produce HT in a simple water-based matrix from an affordable substrate, such as glucose. We recently achieved high HT titers by overexpressing heterologous hydroxylase complex HpaBC from *E. coli* and integrating it into the *Saccharomyces cerevisiae* genome in multiple copies and redirecting the metabolic flux toward tyrosol synthesis by tweaking endogenous gene expression to avoid exogenous tyrosol or tyrosine supplementation. After evaluating the potential of our selected strain as an HT producer from glucose, we adjusted the growth conditions for HT production and proposed interesting ways of improve metabolic flux efficiency with exogenous genes overexpression. The combination of the selected modifications in our engineered strain, combined with culture conditions optimization, resulted in a titer of approximately 375 mg/L of HT obtained from shake flask fermentation using a minimal synthetic-defined medium with 160 g/L glucose as the sole carbon source. To the best of our knowledge, this is the highest HT concentration produced by an engineered *S. cerevisiae* strain and it also brings out the potential of yeast as a robust and versatile HT cell factory.

BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

VIRUS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA: RELEVANCIA Y FUTUROS DESAFÍOS

Gloria Sánchez
Grupo de Virología Ambiental y Seguridad Alimentaria. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Valencia
gloriasanchez@iata.csic.es

Los principales patógenos víricos que podemos adquirir ingiriendo alimentos contaminados son los norovirus, el virus de la hepatitis A y el virus de la hepatitis E que se propagan principalmente a través de la vía fecal-oral. En los últimos años, la incidencia de brotes de transmisión alimentaria causados por estos patógenos ha experimentado un aumento considerable, en parte debido al comercio globalizado y a los cambios en los hábitos de consumo. Estos patógenos alimentarios son responsables de diversas patologías desde gastroenteritis, normalmente leves, hasta patologías más graves como hepatitis agudas.

Las matrices alimentarias que mayor riesgo representan para el consumidor son los moluscos bivalvos, vegetales de IV gama, frutas tipo baya y platos listos para comer. Actualmente las técnicas moleculares son las más habituales para la detección de estos patógenos en alimentos, aunque todavía existen dudas acerca del significado de la presencia de estos genomas víricos en términos de seguridad alimentaria. La infectividad de estos patógenos en alimentos viene también determinada por su elevada persistencia ambiental y por su resistencia a los tratamientos aplicados para la conservación de los alimentos. Por otra parte, el SARS-CoV-2 causante de la COVID-19 también se excreta en heces de personas infectadas, lo que ha generado debate alrededor de la posibilidad de transmisión a través del consumo de alimentos, y se ha utilizado como herramienta epidemiológica para el seguimiento de la pandemia.

BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

NUEVAS VÍAS DE DISMINUCIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO DEL VINO MEDIANTE EVOLUCIÓN DIRIGIDA

*M. Guindal, Andrea[1]; Roodink, Jorik[1]; Morales, Pilar[1]; Gonzalez, Ramon[1]; Tronchoni, Jordi[2]**

[1]*Instituto de Ciencias de La Vid y Del Vino (CSIC, Gobierno de La Rioja, Universidad de La Rioja*, España, [2]Universidad Internacional de Valencia, España.

** jtronchoni@universidadviu.com*

En los últimos años, los vinos han aumentado su porcentaje en etanol debido principalmente al desequilibrio entre la madurez tecnológica (concentración azúcares) de la uva, adelantada por el cambio climático, y la madurez fenólica óptima, exigida por los consumidores, que prefieren vinos con cuerpo y estructura. Este escenario es especialmente problemático en los países cálidos, más afectados por el cambio climático y los productores tradicionales de vino. Para paliar esta tendencia, las fermentaciones aeróbicas se han propuesto como método para reducir el grado alcohólico. Teóricamente, la adición de oxígeno en el proceso de fermentación permitiría a la levadura *S. cerevisiae* respirar los azúcares en lugar de fermentarlos, disminuyendo así el contenido final de etanol. Esta propuesta tiene una serie de problemas, siendo uno de ellos, la alta producción de ácido acético que *S. cerevisiae* alcanza en estas condiciones.

Para solucionar esta desventaja, utilizando cepas de *S. cerevisiae* comerciales, hemos puesto a punto una metodología, basada en la evolución dirigida en laboratorio que nos ha permitido obtener levaduras capaces de fermentar el mosto en condiciones aeróbicas con baja producción de ácido acético y con una disminución del rendimiento en la producción de etanol.

Este trabajo se ha financiado con los proyectos AGL 2015-63629-R (cofinanciado con fondos FEDER), y PCI 2018-092949 (financiado por MCIN/AEI /10.13039/501100011033 y cofinanciado por la Unión Europea). JT ha sido contratado del programa COMFUTURO de FGCSIC. AMG tiene un contrato predoctoral de la Consejería de Desarrollo Económico e Innovación de la C.A de La Rioja.

BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

IDENTIFICACIÓN DE MOLÉCULAS RESPONSABLES DE LOS MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

DANIEL RAMÓN VIDAL
Archer Daniels Midland Co.-Biopolis; Parc Cientific Universitat de València

Durante los últimos veinte años se ha producido un avance considerable en el uso comercial de los probióticos. En el mercado existen centenares de estos productos, tanto para nutrición humana como para nutrición animal, si bien no todos ellos tienen un argumentario científico sólido. Aun así conviene destacar que las publicaciones de probióticos en revistas del SCI han crecido de forma exponencial durante los últimos años, si bien un porcentaje mayoritario de dichas publicaciones describen la selección e identificación de nuevas cepas o su efectividad en ensayos preclínicos y/o clínicos. Es claro que esta información es básica para poder poner a la venta un producto basado en la ciencia, pero también es cierto que en la mayoría de las ocasiones estos probióticos comercializados con base científica funcionan aunque no sabemos el por qué.

En esta comunicación discutiremos el estado actual y el futuro de la investigación de las moléculas responsables de la funcionalidad de probióticos comerciales. Para ello presentaremos el ejemplo de un probiótico de nuestra compañía que mejora la salud metabólica en el que hemos logrado identificar la molécula responsable de la funcionalidad y empezamos a descifrar su mecanismo de actuación.

OPTIMIZACIÓN DEL PIE DE CUBA PARA FAVORECER EL DESARROLLO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHOLICA MEDIANTE LEVADURAS AUTÓCTONAS

Bedoya, Katherine[*1]; Portillo, M. Carmen*[1]; Mas, Albert*[1]
[1]Universitat Rovira i Virgili, Facultat d'Enología, Dept Bioquímica i Biotecnología. Tarragona, España
**khaterine.bedoya@urv.cat*

El Pie de Cuba (PdC) es una técnica empírica usada por las bodegas como alternativa al uso de levaduras comerciales como sistema de control de la fermentación. No obstante, cuando se parte de fermentaciones espontáneas, el resultado puede ser imprevisible y quizás no se cumplen todas las condiciones de un buen control microbiológico. En el presente trabajo se han analizado diferentes condiciones para el desarrollo de la fermentación espontánea con el objetivo de obtener un PdC controlado y efectivo. Las poblaciones de levaduras en las fermentaciones espontáneas y las modificadas, se analizaron a través del contaje al microscopio y en placas, y mediante la cuantificación por qPCR (total y qPCR de células viables).

La puesta a punto de los parámetros (SO_2, fortificación con etanol, tiempo de aplicación del PdC), se realizó en mosto sintético con una población de levaduras mixtas que imitaba la composición y proporción encontrada en estudios previos en mostos del Priorat. Los parámetros seleccionados se aplicaron en mosto natural de la variedad Moscatel para ser usado como PdC al 2%. Los resultados preliminares indican que las cinéticas de la fermentación conseguidas con el PdC, son similares a las de una levadura comercial, representando así, una mejoría con respecto a la fermentación espontánea (no inoculada). Actualmente, se están analizando las poblaciones de levaduras autóctonas seleccionadas en cada caso y su posible efecto sobre las características enológicas del vino producido.

S. CEREVISIAE RESPONDE DE FORMA SIMILAR AL CO-CULTIVO O A UNA FRACCIÓN ENRIQUECIDA EN VESÍCULAS EXTRACELULARES DE *M. PULCHERRIMA*

*Mejias-Ortiz, Miguel[1]; Mencher, Ana[1]; Tronchoni, Jordi[2]; Gonzalez, Ramon[1]; Morales, Pilar[1]**

[1]Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC-Universidad de La Rioja-Gobierno de La Rioja), España, [2] Universidad Internacional de Valencia, España

**Email del autor que presentará el trabajo: pilar.morales@icvv.es*

La introducción de levaduras no-*Saccharomyces* como iniciadores complementarios en enología ha propiciado el interés por las interacciones microbianas durante la fermentación. Existen evidencias de interacciones entre diferentes especies de levaduras utilizadas como iniciadores, incluyendo competición por interferencia o por explotación, así como interacciones dependientes del contacto físico entre las células. Además, el análisis transcriptómico ha revelado cambios en los patrones de expresión génica tras breves periodos de cultivo mixto, lo que sugiere una comunicación interespecífica, pero no se han investigado las moléculas o estructuras biológicas implicadas. En este trabajo, hemos explorado las vesículas extracelulares (VEs) como mediadores de la comunicación interespecífica entre levaduras enológicas. Se obtuvo una fracción enriquecida a partir del sobrenadante de cultivo de células de *M. pulcherrima*. La respuesta transcriptómica de *S. cerevisiae* tras tres horas de contacto con esta fracción se comparó con la inducida por células activas de *M. pulcherrima*. Se observó buena coincidencia entre los perfiles transcriptómicos de las células de *S. cerevisiae* enfrentadas a *células enteras de M. pulcherrima* o a la fracción enriquecida con VEs. Se aprecia una aceleración del metabolismo de la levadura ante la presencia de especies competidoras. Podemos considerar que existe una señal, en la fracción enriquecida con VEs, que puede ser interpretada por las células de *S. cerevisiae* como un indicador de la presencia de competidores, incluso en ausencia de células metabólicamente activas de la otra especie. Financiado por el Gobierno español: subvención PID2019-105159RB-I00 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) y BES-2016-077557 y PRE2020-093420 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por “FSE Invierte en tu futuro”).

AN *ADH2* GENE CONVERSION DROVE THE ADAPTIVE EVOLUTION OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* WINE YEASTS

Albillos-Arenal, Sonia [1]; Daroqui, Noemi [1]; Manzanares, Paloma [1]; Pérez-Torrado, Roberto [1]; Querol, Amparo [1]; Barrio, Eladio [1, 2]

[1]Intitute of Agrochemistry and Food Technology (IATA-CSIC), Spain.

[2]Department of Genetics, University of Valencia (UV), Spain.

sonia.albillos@iata.csic.es

Saccharomyces cerevisiae has suffered keystone events, such as a whole-genome duplication that was the seed for a drastic ecological strategy change to favor glucose consumption efficiency and alcoholic fermentation. The selective pressures derived from humanity during winemaking originated the domestication of a homogeneous subpopulation of *S. cerevisiae*: the wine strains. Although some genetic features have been found explaining wine strains' specific abilities, the key change that allowed the original differentiation of wine strains subpopulation from the wild strains has yet to be discovered.

In this study, an *ADH2* allele specific to the wine strains, derived from an *ADH1-ADH2* gene conversion that confers a significant selective advantage in wine fermentations was unveiled. Diverse populations of *S. cerevisiae* strains presented a different *ADH2*-wine allele. The results confirmed that each encoded Adh2 protein presented different enzymatic properties. Besides, the Adh2-wine enzyme presents three amino acid changes that significantly alter its kinetic properties, resulting in a K_M for ethanol similar to that of the *ADH1* enzyme.

The presence of *ADH2*-wine in wine strains analyzed suggested that it provides an advantage over other strains in grape juice fermentation. Allele swapping between one wine strain and a non-recombinant ADH2 strain was performed to determine the competition effect of ADH. The resulting selection coefficient confirmed a significant advantage in strains with *ADH2*-wine allele compared with wild *ADH2* allele fermentation conditions. Our results demonstrate that the appearance of recombinant *ADH2*-wine allele triggered a key step in the specialization of wine yeast subpopulation.

Agradecimientos: RTI2018-093744-B-C31; RTI2018-093744-B-C32; PRE2019-088621.

LOS BIOPLASTICOS DE ORIGEN MICROBIANO, ¿UNA ALTERNATIVA SOSTENIBLE?

Prieto, M. Auxiliadora
Grupo de Biotecnología de Polímeros. Centro de Investigaciones Biológicas-Margarita Salas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España
auxi@cib.csic.es

La producción masiva de polímeros plásticos de origen petroquímico ha originado un importante problema medioambiental. Los polímeros de base biológica son con considerados como una alternativa sostenible a esta problemática. El calentamiento global, la demanda de mercado y la capacidad de producción están siendo los principales impulsores para la selección de los principales actores de las próximas décadas en este campo. Las versiones "Bio" del polietileno tereftalato (PET) o el polietileno (PE), denominados polímeros de reemplazo o *drop in* están en la parte superior de la lista. Estos van seguidos de cerca por el ácido poliláctico (PLA), los bioplásticos de origen bacteriano o polihidroxialcanoatos (PHA) y los polímeros basados en polímeros naturales como el almidón o la celulosa. Los PHA son una familia de poliésteres microbianos cuya implantación en el mercado es inminente. Esto es principalmente debido a que, en comparación con otros plásticos de base biológica disponibles en el mercado, presentan las siguientes características diferenciales: (i) es posible generar más de 150 monómeros diferentes de PHA, por lo que las propiedades de estos plásticos pueden modificarse en función de la aplicación; (ii) son biodegradables y/o compostables; (iii) la polimerización ocurre durante la fermentación en un único proceso, de forma que las materias primas son transformadas en un solo paso; (iv) su producción es completamente sostenible, puesto que las fuentes de carbono empleadas son de origen renovable. Su estructura química depende de la capacidad metabólica de la bacteria productora y de las condiciones de cultivo utilizado en la fermentación.

MICROBIOLOGÍA DE AMBIENTES EXTREMOS Y LA BÚSQUEDA DE VIDA EN EXPLORACIÓN PLANETARIA

Parro, Víctor

Centro de Astrobiología (CAB), CSIC-INTA, Spain

parrogv@cab.inta-csis.es

Según los datos de los que dispone la ciencia actual, la Tierra es el único planeta que alberga vida tal y como la conocemos, con su tremenda diversidad de formas y metabolismos. La hipótesis central de la Astrobiología establece la vida como una consecuencia natural de la evolución de la materia y la energía en el universo, y una prueba contundente de ello sería encontrar un segundo ejemplo de vida en otro planeta. De hecho, la búsqueda de vida fuera de la Tierra es uno de los motores principales que impulsan la exploración del espacio por parte de las grandes agencias NASA y ESA, tanto el Sistema Solar como los miles de exoplanetas ya conocidos. Las misiones espaciales y el desarrollo de instrumentación requieren un gran esfuerzo y colaboraciones internacionales. Pero antes es importante definir conceptos y refinar los métodos y los instrumentos en Tierra, por ejemplo: i) desarrollando instalaciones en el laboratorio para simular condiciones espaciales y planetarias o; ii) estudiar y aprender de la vida microbiana en aquellos sitios de la Tierra que se asemejan a otros planetas, lo que se denomina ambientes extremos o análogos terrestres. Se hará un repaso de nuestro trabajo sobre la geomicrobiología, metabolismos, y estrategias de adaptación de microorganismos en ambientes extremadamente ácidos, hipersalinos, temperaturas extremas, o en el subsuelo profundo. Se reportarán ejemplos de cómo el conocimiento de los extremos de la vida en la Tierra puede ayudar en la búsqueda de vida microbiana en otros cuerpos planetarios como Marte o las lunas heladas de Júpiter (Europa) y Saturno (Encelado o Titán).

DEPURACIÓN DE EFLUENTES POR HONGOS Y ALGAS

Blánquez, Paqui; Caminal, Glòria; Marco-Urrea, Ernest; Sarrà, Montserrat; Vicent, Teresa*
Biorem UAB, Departament d'Enginyeria Química, Biològica i Ambiental, Escola d'Enginyeria, Universitat Autònoma de Barcelona, España.
**paqui.blanquez@uab.cat*

La presencia de microcontaminantes en aguas superficiales y subterráneas se debe a la baja eficiencia de eliminación de estos contaminantes en las estaciones depuradoras de aguas residuales. La transformación biológica utilizando hongos de podredumbre blanca es efectiva debido a su sistema enzimático oxidorreductasa inespecífico tanto intracelular como extracelular. Aunque se ha demostrado la capacidad de estos hongos para tratamiento de aguas residuales, los procesos desarrollados son escasos. La principal causa es la elevada concentración de bacterias en las aguas residuales, que dificulta el buen funcionamiento de procesos de tratamiento a tiempos largos en condiciones no estériles con biomasa suspendida. Esto ha llevado al desarrollo de procesos con reactores con biomasa inmovilizada sobre sustratos lignocelulósicos, demostrando la gran efectividad de tratamiento. Por otro lado, los procesos basados en microalgas son efectivos y económicamente viables tanto para el tratamiento de aguas urbanas como aguas industriales, ya que estos sistemas tienen la capacidad de eliminar nutrientes, a la vez que se pueden obtener productos derivados de las algas de valor añadido. Estudios realizados recientemente demuestran que los sistemas basados en microalgas son capaces de eliminar microcontaminantes *vía biodegradación,* bioadsorción y bioacumulación, a un nivel similar a los tratamientos bilógicos convencionales de tratamiento de aguas, y además también tienen la capacidad de eliminar los contaminantes vía fotodegradación y volatilización. La eliminación de los contaminantes por uno u otro mecanismo dependerá mayoritariamente de la estructura de éste y del tiempo de residencia hidráulico (TRH) del reactor, siendo los TRHs mayores los que favorecen especialmente la fotodegradación.

FUNGALBRAID: UNA PLATAFORMA DE CLONAJE MODULAR UNIVERSAL PARA EL DESARROLLO DE LA BIOLOGÍA SINTÉTICA EN HONGOS

Marcos, Jose F. [1,]; Moreno-Giménez, Elena [1,2]; Giner-Llorca, Moisés [1]; RoperoPérez, Carolina [1]; Locascio, Antonella [1]; Vázquez-Vilar, Marta [2]; Gandía, Mónica [1]; Garrigues, Sandra [1]; Yenush, Lynne[2]; Orzaez, Diego [2]; Manzanares, Paloma [1]*

[1]Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA) (CSIC), Valencia

[2]Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP) (CSIC-UPV), Valencia

** jmarcos@iata.csic.es*

Los hongos filamentosos se emplean como biofactorías en la producción biotecnológica e industrial de algunos metabolitos y proteínas. Sin embargo, la escasez de herramientas de biología sintética es un obstáculo para acelerar el desarrollo biotecnológico de los hongos. El término 'Biología Sintética' (SynBio, Synthetic biology) alude al diseño racional y sistemático de sistemas biológicos para dotarles de funciones que no tienen en la naturaleza. La SynBio pretende alcanzar los objetivos propios de la biotecnología mediante la aplicación de principios de ingeniería, como son la adopción de piezas modulares, procedimientos y normas estandarizadas, universales e intercambiables. Hemos adaptado a hongos filamentosos la plataforma modular de clonación GoldenBraid (GB), desarrollada inicialmente para la SynBio de plantas, implementando la variante FungalBraid (FB) (https://gbcloning.upv.es/). Sus principales ventajas son la estandarización, la reutilización de sus elementos genéticos y su estrategia de clonación en bucle ('braid') que permite la adición 'ilimitada' de nuevos elementos mediante ciclos iterativos. GB y FB utilizan vectores abiertos derivados de pCAMBIA para la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, permitiendo la intercambiabilidad del sistema entre plantas y hongos. Se han adoptado 'códigos de barras' para el clonaje compatibles con otros sistemas modulares, lo cual aumenta la intercambiabilidad de piezas. Se presentará el sistema FB y distintas piezas universales validadas funcionalmente en distintos hongos filamentosos, así como algunas aplicaciones prácticas de FB incluyendo las más recientes. Las piezas y construcciones genéticas más significativas de FB se encuentran disponibles en el repositorio AddGene. El sistema está abierto a su desarrollo e implantación colaborativa.

PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS Y CAROTENOIDES USANDO MEDIOS DERIVADOS DE RESIDUOS Y LA LEVADURA OLEAGINOSA *Rhodosporidium toruloides*

Gallego-García, María; Moreno, Antonio D.; Ballesteros, Ignacio; Negro, María José
Unidad de Biocarburantes Avanzados y Bioproductos, Departamento de Energía. CIEMAT, España.
maria.gallego@ciemat.es

El empleo de materias primas de bajo coste en procesos biotecnológicos es un punto crucial para aumentar la viabilidad y rentabilidad de los procesos, abaratando costes e incorporando residuos como materias primas en lugar de explotar nuevos recursos. En este trabajo se ha estudiado el cultivo de la levadura oleaginosa *Rhodosporidium toruloides* usando sólo medios derivados de residuos. Con este fin se han obtenido dos tipos de medios; uno procedente de la fracción líquida del pimiento de destrío y otro procedente del hidrolizado enzimático del residuo sólido obtenido tras el pretratamiento de explosión por vapor de residuo de poda urbana. Además, se han estudiado dos estrategias de cultivo para favorecer la acumulación de lípidos en esta levadura. La primera estrategia consistió en un cultivo en modo *"fed-batch"* con medio de pimiento y pulsos de poda urbana como modo de alimentación del cultivo. En la segunda estrategia fue empleado el modo *"batch"* en dos etapas (producción de biomasa con medio de residuo de pimiento, seguida de la fase de acumulación con medio procedente de poda urbana). Tras finalizar los ensayos se evaluó la acumulación de lípidos en *R. toruloides*, así como su coproducción de carotenoides. Los mejores resultados se han obtenido aplicando la estrategia de cultivo en *"fed-bacth"*, donde se ha alcanzado una acumulación de lípidos superior al 30% y más de 50 µg carotenoides/g células.

Agradecimientos:
Ayuda PRE2018-086317 financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por FSE invierte en tu futuro
Ayuda PID2020-119403RB-C2-2 financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033

TRANSCRIPTOMA COMPARATIVO DE BASIDIOMICETOS SAPRÓFITOS

Jiménez, Idoia; Alfaro, Manuel; Pisabarro, Antonio G.; Ramírez, Lucía

Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, España,

**Email del autor que presentará el trabajo: idoia.jimenez@unavarra.es*

La lignocelulosa es el biopolímero más abundante de la Tierra. Está compuesto por polímeros de carbohidratos (celulosa y hemicelulosa) y aromáticos (lignina). La celulosa es una fuente de carbono que puede ser utilizada para producir biocombustibles de segunda generación y la lignina que cubre las fibras de celulosa es un polímero recalcitrante que sólo puede ser degradado por un pequeño número de microorganismos, como por ejemplo los hongos basidiomicetos. Algunos de ellos, denominados *White Rot* (WR), degradan la lignina haciendo accesible la celulosa para otros microorganismos. Otros, los *Brown Rot* (BR), atacan enzimáticamente a la celulosa, produciendo modificaciones mínimas en la lignina.

En este estudio se ha analizado la expresión génica de siete especies de estos hongos (cuatro WR: *Fomitiporia mediterranea, Heterobasidion annosum, Phanerochaete chrysosporium y Pleurotus ostreatus* y tres BR: *Fomitopsis pinicola, Serpula lacrymans* y *Postia placenta*) en cultivos sumergidos con dos fuentes de carbono diferentes: glucosa para establecer las condiciones basales de la comparación y un substrato lignocelulolítico.

El estudio se ha hecho usando como genomas de referencia los depositados en la base de datos Mycocosm del *Joint Genome Institute*. Hemos reconstruido los perfiles transcriptómicos de las principales rutas metabólicas y, finalmente, nos hemos centrado en las principales rutas de degradación de la lignocelulosa identificadas en estos hongos. Mediante este análisis se pretende establecer una comparación de las estrategias utilizadas por los diferentes basidiomicetos saprófitos lignocelulolíticos para comprender los mecanismos de la degradación de la madera y aplicarlos en otros campos biotecnológicos, como el desarrollo de nuevos biocombustibles.

MICOVIRUS COMO POSIBLE ALTERNATIVA A LOS FUNGICIDAS SINTÉTICOS CONTRA *BOTRYTIS CINEREA*

Villanueva-Llanes, Maripaz; Cordero-Bueso, Gustavo; Carbú, María; Gutiérrez, María Teresa; Cantoral, Jesús Manuel

Laboratorio de Microbiología. Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Universidad de Cádiz, España.

**Email del autor que presentará el trabajo: mariapaz.villanueva@uca.es*

Los micovirus son virus que infectan a la mayoría de los hongos fitopatógenos, como es el caso de *Botrytis cinerea*. Algunos de estos virus tienen la capacidad de reducir la virulencia del hongo al que infectan, fenómeno denominado hipovirulencia. Esto los hace ideales para el desarrollo de nuevos métodos de control biotecnológicos empleándolos para reducir el impacto de enfermedades fúngicas como la podredumbre gris en el viñedo.

El objetivo de este trabajo fue la detección e identificación de micovirus en cinco cepas de *B. cinerea* mediante técnicas basadas en PCR y posteriormente, un bioensayo para estudiar la hipovirulencia en estas cepas en plantas modelo de laboratorio. Aunque el uso de cebadores específicos para la detección de micovirus fue útil en algunos casos, permitiendo detectar e identificar la presencia de micovirus en dos de las cepas estudiadas, en el resto de las cepas no se detectaron virus. Los bioensayos desarrollados para el estudio de la virulencia de las cepas de estudio en semillas de soja mostraron que la cepa Pi258.8 utilizada como control y la que contenía mayor número de micovirus, presentaban una mayor hipovirulencia durante los primeros días con respecto al resto de cepas. Se puede concluir que algunos micovirus pueden retardar la infección del hongo a la planta. Actualmente se están complementado las técnicas basadas en PCR con técnicas de secuenciación de nueva generación para una detección e identificación más precisa y poder utilizarlos como alternativa a los fungicidas.

Financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. RTI2018-097356-B-C22

REPROGRAMMING FUNGAL PEROXYGENASES BY DIRECTED EVOLUTION FOR BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS

Miguel Alcalde
Department of Biocatalysis, Institute of Catalysis, CSIC, Marie Curie 2, 28049 Cantoblanco, Madrid, Spain.
malcalde@icp.csic.es

The selective insertion of oxygen into non-activated organic molecules has to date been considered of utmost importance to synthesize existing and next generation industrial chemicals or pharmaceuticals. In this respect, the minimal requirements and high activity of fungal unspecific peroxygenases (UPOs) situate them as the jewel in the crown of C-H oxyfunctionalization biocatalysts. Although their limited availability and development has hindered their incorporation into industry, the conjunction of directed evolution and computational design is approaching UPOs to practical applications. This lecture will address the most recent advances in UPO engineering, while discussing the future prospects in this fast-moving field of research.

BIOTECNOLOGÍA ENZIMÁTICA

NUEVAS TERMOENZIMAS DE ORIGEN METAGENÓMICO

González-Siso, María-Isabel
Universidade da Coruña, Grupo Exprela, CICA (Centro de Investigacións Científicas Avanzadas), Facultade de Ciencias, 15071-A Coruña, España.
isabel.gsiso@udc.es

Las enzimas producidas por los microorganismos termófilos (termoenzimas) son muy apreciadas en la industria debido a su robustez, pues resisten diversos agentes desnaturalizantes además de ser termoestables. Los termófilos, que viven a temperaturas superiores a 50ºC, son difíciles de cultivar en el laboratorio y muestran bajos rendimientos de crecimiento y producción de enzimas nativas. La Metagenómica estudia el genoma de comunidades microbianas sin necesidad de aislar los microorganismos que las componen, y representa una herramienta muy útil para la bioprospección de nuevas enzimas, pues permite el acceso a la gran diversidad de microorganismos no cultivables, todavía mayoritariamente inexplorada. En Galicia existe un elevado número de fuentes geotermales, con temperaturas de surgencia de las aguas superiores a 65ºC. En nuestro grupo de investigación estamos estudiando, mediante metagenómica, el potencial biotecnológico de los microorganismos que habitan algunos de estos manantiales. Descubrimos nuevas hidrolasas termoestables, las expresamos heterólogamente en bacterias y levaduras mesófilas con condiciones de cultivo bien establecidas, y las caracterizamos en vista de sus aplicaciones en química verde, en la industria de los detergentes o en la industria alimentaria.

Esta investigación está financiada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (proyecto RTI2018-099249-B-I00) y por la Xunta de Galicia (Consolidación Grupos Referencia Competitiva, ED431C 2020/08) cofinanciada por FEDER.

NANOENSAMBLAJES DE ACETILCOLINESTERASA Y β-LACTAMASA INMOVILIZADAS SOBRE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS BIOMIMÉTICAS COMO BIOSENSORES PARA DETECTAR CONTAMINANTES

Jiménez-Carretero, Mónica [1]; Jabalera, Ylenia [1]; Sola-Leyva, Alberto [2]; Carrasco-Jiménez, María Paz [2]; Jiménez-López, Concepción [1]*

[1]Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, España

[2]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Granada, España

**monicajc@correo.ugr.es*

El desarrollo de biosensores para detectar contaminantes es uno de los grandes objetivos del campo de la biorremediación. Algunos de los biosensores más empleados actualmente utilizan enzimas inmovilizadas sobre diversos soportes, entre los que destacan las nanopartículas magnéticas por su capacidad para ser controladas mediante campos magnéticos externos, lo que permite recuperar y reciclar las enzimas inmovilizadas. Las nanopartículas magnéticas biomiméticas (BMNP), producidas mediante precipitación química en presencia de la proteína MamC de *Magnetococcus marinus* MC-1, han demostrado ser una buena alternativa por su mayor tamaño, que les permite tener mayor momento magnético por partícula, y la incorporación de MamC en las últimas capas del cristal de magnetita, que aporta grupos funcionales que facilitan la inmovilización[1].

En este trabajo se inmovilizaron acetilcolinesterasa y β-lactamasa sobre nanopartículas magnéticas inorgánicas (MNP) y biomiméticas (BMNP) con el objetivo de crear biosensores capaces de detectar, respectivamente, pesticidas organofosforados (clorpirifos) y antibióticos β-lactámicos (penicilina G) en muestras acuosas. La inmovilización se llevó a cabo mediante interacciones electrostáticas y covalentes, siendo estas últimas las que mostraron mejores resultados en términos de porcentaje de adsorción y actividad enzimática. Estos biosensores, especialmente los que empleaban BMNP, fueron capaces de detectar concentraciones traza de los respectivos contaminantes e incrementaron en gran medida la estabilidad de las enzimas inmovilizadas. Además, la concentración magnética de las nanopartículas permitió recuperar las enzimas asociadas y reutilizar los biosensores durante varios ciclos, lo que supone una gran ventaja en comparación con los biosensores existentes y puede abaratar considerablemente muchos procesos biotecnológicos.

References

[1] K. Salem, Y. Jabalera, et al. (2021) *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 9(11), pp. 4054–4063.

BIOTECNOLOGÍA ENZIMÁTICA: COMUNICACIONES CORTAS

EXPRESIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS MONOOXIGENASAS FÚNGICAS

Roscales, Gabriel; Molinero, Amaya; Alfaro, Manuel; Ibáñez-Vea, María; Ramírez, Lucía; Pisabarro, Antonio G.

Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, España,

**Email del autor que presentará el trabajo: gabriel.roscales@unavarra.es*

Las monooxigenasas líticas de polisacáridos o LPMOs (EC 1.14.99.54/6) son enzimas presentes de manera natural en algunas bacterias y una gran cantidad de hongos, que son capaces de participar en el proceso de degradación de polisacáridos recalcitrantes como la lignocelulosa. Dicha función despierta un amplio interés biotecnológico en diversos sectores estratégicos: salud, industria alimentaria, así como energía y recursos. Dada la importancia que su estudio y producción tendría para estos campos, los objetivos de este trabajo han sido: (1) identificar, sintetizar y producir en sistemas heterólogos nuevas LPMOs de origen fúngico, seleccionadas por su atractivo biotecnológico; (2) caracterizarlas funcional y bioquímicamente; y (3) evaluar el escalado de su producción.

Para ello, se han identificado LPMOs presentes en hongos basidiomicetos, un grupo poco explotado, empleando distintas bases de datos genómicos. Así, los genes de las oxigenasas seleccionados han sido sintetizados y posteriormente clonados en el sistema de expresión heteróloga *Pichia pastoris*. Una vez expresada y detectada la proteína, se ha optimizado y escalado el proceso de producción. Finalmente, el producto purificado se ha analizado mediante ensayos espectrofotométricos de actividad peroxidasa, con el fin de evaluar su función.

Esta aproximación nos permitirá ampliar el rango de LPMOs descritas, incluyendo aquellas presentes en organismos no cultivables. De igual manera, esperamos ahondar en la función de estas proteínas en el proceso de degradación de polisacáridos. Así, confiamos en traducir todo ello en aplicaciones industriales de gran calado como el desarrollo de biocombustibles o la obtención de compuestos de valor añadido a partir de lignocelulosa.

SÍNTESIS ENZIMÁTICA DE GLICÓSIDOS DE EGCG PARA POTENCIAR SUS PROPIEDADES BIOACTIVAS

*Juan A. Méndez-Líter [1], Ana Pozo-Rodríguez [1], Enrique Madruga[2], María Rubert[3], Laura I. de Eugenio[1], Ana Martínez[2], Cristina Sánchez[3], Alicia Prieto[1], María Jesús Martínez[1]**

[1]Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas y [2]Departamento de Biología Estructural y Química. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid, España.

[3]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Complutense de Madrid, C/ José Antonio Novais 12, 28040 Madrid, España

ana.pozo@cib.csic.es / mjmartinez@cib.csic.es

Las glicosil hidrolasas (GHs) son enzimas que hidrolizan enlaces glicosídicos, pero algunas de ellas también pueden llevar a cabo reacciones de transglicosilación. Dado que el rendimiento de estas reacciones es generalmente bajo porque los glicósidos formados acaban siendo hidrolizados por las GHs, se han desarrollado variantes mutagénicas en las que se elimina o reduce drásticamente su actividad hidrolítica y se potencia la de síntesis. El galato de epigalocatequina (EGCG) es un compuesto fenólico, presente en el té verde, con efectos antioxidantes y beneficios terapéuticos, cuya glicosilación podría aumentar su biodisponibilidad y mejorar sus propiedades bioactivas.

En este trabajo se utilizaron dos variantes mutagénicas de una b-glucosidasa (BGL-1-E521G) y una b-xilosidasa (BxTW1-E495A) del ascomiceto *Talaromyces amestolkiae*, expresadas en *Pichia pastoris*, para sintetizar tres glicósidos de EGCG. La primera es una glicosintasa que da lugar al glucósido y al soforósido de EGCG, mientras que la segunda es una tioglicoligasa que forma el xilósido de EGCG. Tras comprobar la capacidad para glicosilar EGCG de las dos variantes, se optimizaron las condiciones de reacción, consiguiendo una conversión del 90% del EGCG con BGL-1-E521G, y del 60% con BxTW1-E495A. La glicosilación del EGCG provocó una ligera pérdida de su capacidad antioxidante, pero incrementó notablemente su solubilidad (entre 10 y 20 veces). En el caso del glucósido y el soforósido, también aumentó su estabilidad térmica. Finalmente, los tres glicósidos mostraron una mejora en las propiedades antitumorales del EGCG y, solo para los derivados glucosilados, se encontró mayor potencial neuroprotector.

Financiación: GLYSUS RTI2018-093683-B-I00 (MCIU/AEI/FEDER) y RETOPROSOST2 S2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid). Ana Pozo-Rodríguez agradece al MIU su contrato FPU19/04192.

CONFERENCIA DE CLAUSURA

COMPARTIMENTOS EN LA MEMBRANA BACTERIANA Y SU PAPEL EN LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Daniel López
Centro Nacional de Biotecnología, Madrid
dlopez@cnb.csic.es

La función de muchos procesos bacterianos depende de la formación de microdominios funcionales de membrana (FMM), que se asemejan a los lipid rafts eucariotas y a otros dominios lipídicos de orgánulos celulares. Cómo se organizan estos microdominios y cuál es su función biológica son conceptos todavía desconocidos en biología. Usamos el patógeno *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) para mostrar que la interacción de una proteína scaffold de FMM llamada flotillina con lípidos isoprenoides de membrana conduce a la formación de FMM en estas bacterias. Mediante cryo-EM, demostramos que los FMM estabilizan la oligomerización de proteínas de membrana siendo la flotillina la responsable de esta estabilización. Una de las proteínas estabilizadas es PBP2a, responsable de la resistencia a la penicilina en MRSA. Los mutantes en la flotillina son defectuosos en la oligomerización de PBP2a y por tanto, la perturbación de FMM afecta la oligomerización de PBP2a y desactiva la resistencia a la penicilina en MRSA, lo que genera infecciones de MRSA susceptibles a penicilinas. Nuestro trabajo demuestra que las bacterias desarrollan sofisticados programas de organización celular y define terapias alternativas para combatir patógenos multirresistentes utilizando antibióticos convencionales.

CMIBM

VALENCIA 2022

PÓSTERES MICROBIOTA Y BIOTECNOLOGÍA

Comparative evaluation of the antimicrobial properties of selected *Bacillus* strains against gastrointestinal pathogens.

Lorente Torres, Blanca [1]; Sanz Machín, Irene [1]; Castañera Estrada, Pablo [1]; Llano Verdeja, Jesús [1]; Voigt, Isabel [2]; Guerrero Villanueva, Silvia [1]; López García, Álvaro [1]; Durante, Elena [3]; Valdivia Álvarez, Carlos [1]; Blanco Abanilla, Samuel [1]; Mourenza, Álvaro [1]; Gil, José A. [1]; Mateos, Luis M. [1]; Letek, Michal [1]

[1]Departamento de Biología Molecular, Área de Microbiología, Universidad de León, 24071 - León, Spain

[2]Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena, Alemania

[3]L'Università di Urbino Carlo Bo, Via Aurelio Saffi, 2, 61029 Urbino PU, Italia; (Elena Durante)

**bloret00@estudiantes.unileon.es*

Antibiotic resistance has become a global concern. Nowadays, the so-called “superbugs” have a significant social and economic impact on health systems. This can be translated as prolonged hospital stays, increased care and treatment expenses, and an overall diminishment of life quality, due to diseases becoming either chronic or untreatable. This is an increasing tendency and, along with an emptier clinical pipeline of new antibiotics, the need for treatment alternatives is only growing.

Modifying the human microbiome with probiotics is a promising strategy to prevent and even treat infections caused by multidrug-resistant pathogens. Here, we screened a collection of 20 different *Bacillus* spp strains to identify those with antimicrobial activity against a wide range of bacteria, including *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella* Typhimurim or *Enterobacter cloacae*. Our results have identified several *Bacillus* spp strains that secrete antimicrobials effective against different pathogens bacteria. In addition, some of these strains are resistant to acid pH and physiological concentrations of biliary salts, making them suitable for colonizing the gastrointestinal tract. Overall, our data indicate that the genus *Bacillus* is an up-and-coming resource of probiotic strains with promising medical applications.

The SCO2102 DnaA homologue participates in chromosomal DNA replication during sporulation

Fernández-García, Gemma[1]; González-Quiñonez, Nathaly[2]; Alonso, Sergio[3]; Yagüe, Paula[4]; Rioseras, Beatriz[5]; Manteca Ángel[6].

[1] Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, IUOPA and ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, Spain,

[2] VEnvirotech Biotechnology S.L., Barcelona

[3] Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, IUOPA and ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, Spain,

[4] Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, IUOPA and ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, Spain

[5] Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, IUOPA and ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, Spain

[6] Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, IUOPA and ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, Spain

Gemmafg06@hotmail.com.

Cell division is a complex and regulated events in bacteria. Streptomyces DNA replication starts with the DnaA AAA+ ATPase binding to the origin of replication and differently to most bacteria, the chromosome is replicated without cytokinesis generating multinucleated hyphae. Cytokinesis occurs during sporulation, and is modulated by the divisome, consisting in an orderly, and not fully understood succession of proteins, initiated by the polymerisation of the tubulin-like FtsZ protein. We characterise SCO2102, a protein harbouring a DnaA II protein-protein interaction domain highly conserved in Streptomyces. The ΔSCO2102 knockout shows a highly delayed sporulation. SCO2102-mCherry frequently co-localises with FtsZ-eGFP during sporulation and greatly reduces FtsZ-eGFP Z-ladder formation, indicating an interaction between both proteins in sporulating hyphae. SCO2102 co-transcribes with SCO2103 a methylenetetrahydrofolate reductase involved in methionine and DNA synthesis. The SCO2102/SCO2103 expression is highly increased during sporulation

and it is highly regulated, involving at least two promoters and a conditional transcription terminator into the SCO2103 ORF. The ΔSCO2103 knockout shows a reduced DNA synthesis during sporulation leading to a bald phenotype. Interestingly, SCO2102-mCherry co-localises with SCO2103-eGFP during sporulation but it does not show visible fluorescent spots when expressed in the ΔSCO2102 knockout, indicating an interaction between the SCO2102 and SCO2103 proteins. We propose that SCO2102 recruits SCO2103 at sporulating hyphae facilitating nucleotide biosynthesis and enhancing the massive chromosomal replication accompanying sporulation. Furthermore, SCO2102 is the first protein harbouring a DnaA II domain specifically found during sporulation, whereas SCO2103, is the first methylenetetrahydrofolate reductase found to be essential for Streptomyces sporulation.

Desarrollo de una plataforma automatizada de aislamiento mediante Dilución a Extinción para el cribado de bacterias no filamentosas productoras de compuestos con actividad antitumoral

Benítez, Xulio; G. Gonzalez, Elena; García, Jesús; Zúñiga, Paz; de la Calle, Fernando; Cuevas, Carmen.
PharmaMar, España
xuliobenitez@gmail.com

Las bacterias marinas suponen una extraordinaria fuente de compuestos bioactivos. Sin embargo, el continuo redescubrimiento de las mismas o similares entidades químicas, obliga a redoblar los esfuerzos destinados a cambiar el paradigma de lo que se conoce como "*Great Plate Count Anomaly*", para ampliar de esta forma la fracción de bacterias cultivables e incrementar la probabilidad de descubrir nuevos organismos productores de metabolitos de interés. En este trabajo se describe el desarrollo de una plataforma automatizada, basada en la estrategia de Dilución a Extinción, para el aislamiento de bacterias copiotrofas, no filamentosas, productoras de compuestos con actividad antitumoral. El sistema automatizado de alto rendimiento utilizado, integra desde el proceso de aislamiento de estos organismos a partir de muestras marinas, hasta el cribado de las cepas para la detección de actividad antitumoral. Para el desarrollo del método fue seleccionada una esponja marina de la que se obtuvo mediante aislamiento clásico en medio sólido una cepa de *Labrenzia alexandrii* productora de un novedoso análogo de pederina. Tras la prueba de concepto, 70 muestras adicionales fueron procesadas, logrando el aislamiento de cepas con actividad antitumoral pertenecientes a 19 géneros distintos y la identificación de hasta 12 familias de compuestos diferentes. Además, fueron aisladas 9 bacterias que muestran actividad citotóxica no atribuida a ningún compuesto conocido y que podrían pertenecer a grupos taxonómicos no descritos (similitud de secuencia 16S < 97.5%), lo cual las hace especialmente relevantes.

Enhanced phosphoproteome analysis of *Streptomyces coelicolor* using automated immobilized Zirconium(IV) affinity chromatography and mass spectrometry reveals novel regulatory phosphoproteins

Alonso-Fernández, Sergio[1]; Arribas Díez, Ignacio[2]; Fernández-García, Gemma[1]; González-Quiñónez; Nathaly[1]; Nørregaard Jensen, Ole[2]; Manteca, Angel[1]

[1] Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, IUOPA, ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, 33006 Oviedo, Spain
[2] Department of Biochemistry and Molecular Biology and VILLUM Center for Bioanalytical Sciences, University of Southern Denmark, Campusvej 55, DK-5230, Odense M, Denmark

**Email del autor que presentará el trabajo: alonsosergio@uniovi.es*

Streptomycetes are multicellular gram positive bacteria that produce many bioactive compounds for biomedical applications, including antibiotics, antitumorals and immunosuppressors. Protein phosphorylation at Ser/Thr/Tyr amino acid residues modulate development and secondary metabolism in *Streptomyces*, but its phosphoproteome is still largely uncharted. We optimised and applied automated immobilized zirconium(IV) affinity chromatography (Zr(IV)-IMAC) and mass spectrometry based phosphoproteomics to identify and characterize *S. coelicolor* phosphoproteins. Comparative phosphoproteome analysis of the *S. coelicolor* vegetative and sporulating stages revealed 361 phosphorylation sites in *S. coelicolor* (41% pSer, 56.2% pThr, 2.8% pTyr) and four previously unrecognized putative Thr phosphorylation motifs, “Kxxxx(pT)xxxxK”, “DxE(pT)”, “D(pT)” and “Exxxxx(pT)”. We identified 351 phosphopeptides derived from 187 phosphoproteins. A total of 154 of the identified phosphoproteins were novel, thereby almost doubling the number of experimentally verified *Streptomyces* phosphoproteins. The novel *Streptomyces* phosphoproteins included key cell division proteins (FtsK, CrgA) and secondary metabolism regulatory proteins (ArgR, AfsR, CutR and HrcA), all of them differentially phosphorylated in the substrate vegetative hyphae and the aerial antibiotic producing sporulating hyphae. Several primary metabolism phosphoproteins were detected, including 27 novel ribosomal phosphoproteins that were phosphorylated during the vegetative stage. Phosphorylation of all these proteins likely participate in the intricate and incompletely understood regulation of *Streptomyces* development and secondary metabolism. We conclude that Zr(IV)-IMAC is an efficient and sensitive method for studies of protein phosphorylation and regulation in bacteria to enhance our understanding of bacterial signalling networks.

Identificación de los sistemas de regulación, exporte y procesado de bacteriocinas en *Streptococcus dentisani* 7746 como primer paso para la producción industrial nativa.

Revilla-Guarinos, Ainhoa[1]; López-López, Arantxa[1]; Camelo, Anny[1]; Cebrián, Rubén[2]; Ferrer, Mariam[1]; Mira, Álex[1].

[1] Grupo Microbioma Oral, Departamento Genómica y Salud, FISABIO, Valencia, España, [2] Universidad de Granada, Granada, España.

**Email del autor que presentará el trabajo:* revilla_ain@gva.es

Muchas bacterias lácticas producen bacteriocinas, péptidos con actividad antimicrobiana, para comunicarse o defenderse de otros microorganismos. En muchos casos dichas bacteriocinas proceden de microorganismos GRAS o probióticos haciéndolas particularmente interesantes para aplicaciones industriales de conserva de alimentos o cosméticos, así como para prevención/tratamiento de enfermedades. Este es el caso de *S.dentisani* 7746, una bacteria probiótica que produce bacteriocinas que inhiben el crecimiento de patógenos orales como *S.mutants* o *S.sobrinus*[1,2].

Para poder inducir una producción nativa de las bacteriocinas es necesario identificar todos los genes codificantes de posibles bacteriocinas, y los sistemas encargados de la regulación de su producción, exporte y procesado en el organismo productor. En este estudio hemos secuenciado y cerrado el genoma de la cepa CECT7746 y lo hemos analizado. Hemos identificado dos islas de bacteriocinas: una correspondiente a la región reportada previamente[2,3], y una segunda que no había sido descrita con anterioridad. Hemos identificado 3 nuevas bacteriocinas y nuestros datos sugieren una producción regulada por sistemas de quórum sensing de tipo Com y Blp compuestos por dos sistemas de dos componentes, dos péptidos auto-inductores/feromonas y dos transportadores SunT (involucrados en procesamiento y exporte de péptidos antimicrobianos y feromonas peptídicas).

Esta información puede ser vital para diseñar condiciones de crecimiento de la bacteria que maximice la producción de bacteriocinas en el cultivo, que sirva no solo para la purificación de los péptidos, sino también para desarrollar un producto postbiótico con actividad antimicrobiana.

(1)10.3389/fmicb.2017.00379 (2)10.3389/fcimb.2019.00110 (3)10.1128/mBio.01985-19

Financiación:
- Horizon2020: beca Marie Sklodowska-Curie No-101026278, proyecto SMILES.
- FISABIO: proyecto BactiDent.

ESTUDIOS DE GENÓMICA COMPARATIVA EN BIFIDOBACTERIAS DE INTERÉS INDUSTRIAL.

Arévalo-Lalanne, Alba[1]; Corbín-Agustí, Paola[1*]; Ferrero-Fernández, Arián[1,2]; Peretó, Juli[1,3]; García-López, José Luis[1]; Ramón-Vidal, Daniel[1,4]; Tortajada, Marta[1,4]*

[1]Instituto de Biología Integrativa de Sistemas I[2]SysBio (Universitat de València-CSIC), España, [2]Máster Universitario en Bioinformática (ETSE-UV), [3]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (UV), [4]ADM-Biopolis, España.

**Autoras que presentarán el trabajo: alba.arevalo@uv.es, paola.corbin@uv.es*

Las bacterias del género *Bifidobacterium* se usan masivamente como probióticos, es decir, microorganismos vivos cuya ingesta aporta beneficios a la salud del hospedador, si bien, los efectos funcionales específicos dependen de cada cepa en particular. En este trabajo hemos analizado los probióticos comerciales *B. animalis* subsp. *lactis* BPL1 (CECT8145) que reduce la deposición de grasa y triglicéridos y modula el estrés oxidativo y el comportamiento alimentario y *B. longum* ES1 (CECT7347), que reduce la toxicidad y la inflamación producida por péptidos derivados de la gliadina. Con el objetivo de descifrar las posibles características diferenciales a escala genómica de estas cepas probióticas con funcionalidad conocida, se han seleccionado otras cepas de las mismas subespecies cuyos genomas completos están depositados en la base de datos RefSeq del NCBI y se ha llevado a cabo un estudio de homología de sus genomas. El análisis del pangenoma obtenido nos ha permitido profundizar más en el conocimiento de regiones génicas de estas cepas con interés industrial. En relación a la funcionalidad probiótica, se han estudiado los genes implicados en la asimilación de colesterol y el estrés oxidativo. Por otro lado, se han caracterizado y descrito los sistemas CRISPR-Cas de estas bifidobacterias, con el fin de establecer posibles herramientas de modificación genética de las mismas que puedan ser útiles en el futuro para identificar sus respectivos mecanismos de acción. En esta comunicación presentaremos estos resultados.

Ecology and Biotechnological Potential of the Microbial Communities from the UVA-UVB Cabins in a Dermatology Service

Molina-Menor, Esther[1]; Carlotto, Nicolás[1]; Vidal-Verdú, Àngela[1]; Pérez-Ferriols, Amparo[2]; Pérez-Pastor, Gemma[2]; Porcar, Manuel[1,3].

[1]Institute for Integrative Systems Biology (I2SysBio, Universidad de Valencia), España, [2] Consorcio Hospital General de Valencia, España, [3] Darwin Bioprospecting Excellence SL, España.

**Email del autor que presentará el trabajo: esther.molina@uv.es*

(250 words)

The study of the microbial communities associated to cabins used for ultraviolet light treatments (UVA and UVB) in the dermatology services of hospital facilities has not been explored to date. The microorganisms living in this environment may be of interest from the biotechnological point of view given the abiotic stresses to which they are subjected (disinfection, UV light, etc) and the clinical relevance of bacterial in a hospital environment. In this study, we have explored through culture-dependent and culture-independent techniques the ecology of the environment in order to obtain a more accurate overview of the taxonomic diversity living both outside and inside the cabins, were bacteria are subjected to the above-mentioned stresses. The communities were dominated by *Proteobacteria*, *Actinobacteria* and *Firmicutes*, among which, the most abundant genera were *Staphylococcus*, *Rubellimicrobium* and *Paracoccus*. In contrast, the most abundant genera isolated in pure culture were *Staphylococcus*, *Kocuria* and *Micrococcus*, highlighting the importance of high-throughput 16S rRNA sequencing in microbial ecology to avoid culture biases. The analysis allowed also the comparison between different UV light cabins and sample orig. Moreover, given the nature of the hospital environment, the resistance to both antibiotics and UV light may represent a threat for patients suffering from dermatological affections UV light is often used as a disinfecting agent, whereas antibiotics are widely used to treat bacterial skin infections. Thus, in this work we have tested the ability of the isolated strains to survive and tolerate them and their co-occurrence.

Protección frente a la toxicidad del mercurio mediante el uso de bacterias lácticas en un modelo epitelial intestinal bicameral

Rodríguez-Viso, Pilar; Domene, Adrián; Vélez, Dinoraz; Devesa, Vicenta ; Zúñiga Manuel; Monedero, Vicente*

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Paterna, Valencia, España.

**b42rovip@iata.csic.es*

La exposición al mercurio (Hg) ocurre principalmente a través de la dieta, donde suele encontrarse como Hg inorgánico [Hg(II)] o metilmercurio (MeHg). Diversos estudios han relacionado la exposición a Hg con enfermedades neurológicas y renales. Las últimas investigaciones también apuntan a un efecto tóxico a nivel gastrointestinal que podría mitigarse mediante el uso de probióticos. Para evaluar el efecto protector frente al Hg utilizamos un modelo de epitelio intestinal bicameral (Transwell®) con cocultivos de las líneas epiteliales intestinales Caco-2 y HT29-MTX y macrófagos THP-1. El modelo se expuso a Hg(II) ó MeHg (1 mg/l) durante 7 días en presencia o ausencia de cepas de lactobacilos (*Lactobacillus johnsonii* o *Lactobacillus intestinalis*). La presencia de Hg(II) o MeHg produjo un aumento de la concentración de IL-8 en el compartimento basolateral y un incremento de la expresión de genes proinflamatorios en los macrófagos (*IL-1b*, *IL-8*, *CXCL9*, *CXCL10*). El Hg indujo estrés oxidativo en Caco-2/HT29-MTX y en los macrófagos y una disrupción del epitelio caracterizada por una menor expresión y deslocalización de ZO-1 y un aumento de la permeabilidad, acompañado de un incremento en la expresión de *MUC5AC*, sobreproducción de mucina y una pérdida de la capacidad de regeneración epitelial. Todos estos daños pudieron ser revertidos en diferente medida y especificidad por las dos cepas de *Lactobacillus*. Esto evidencia probablemente una captura por las bacterias y menor biodisponibilidad del Hg, sumado a un efecto restaurador del daño generado por el metal. Trabajo financiado por el proyecto MCIN/AEI RTI2018-098071-B-I00 con cofinanciación de la UE (ERDF).

CO2SMOS European Project: from anthropogenic CO2 to bioplastics through acetate production

Cano Sánchez, Irene; Molpeceres García, Francisco Javier; Sanz Mata, David; García López, José Luis; Barriuso Maicas, Jorge*

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Spain
** javier.molpeceres@cib.csic.es*

Developing a robust European bio-based industry is a necessary process in the current scenario of increasing greenhouse gases emissions, particularly CO_2, leaving behind an economic model based on fossil fuels. Thus, the recycling and conversion of CO_2 from industrial fermentation of bioethanol or biogas (506.7 Mt/year) it´s important and can be used as a feedstock for the production of value-added products. The CO2SMOS project aims to generate a platform with different biological solutions to fix CO_2 in a sustainable way, using anaerobic bacteria, and transform it into the intermediate molecule (acetate) that will be used as a carbon source to replace sugars in the production of biodegradable plastics and polymers, biopolyesters and biopolycarbonates.

CSIC contribution to the project includes the fermentation of acetate using aerobic microorganisms such as *Pseudomonas putida*, *Cupriavidus necator* or *Yarrowia lipolytica* to produce bioplastic and precursors (long-chain PHAs, short-chain PHAs and LcDCAS, respectively). In addition, an engineered strain of *Escherichia coli* will be used to produce 2,3-butanediol from acetate, an intermediate of interest in the chemical industry.

CO2SMOS. Advanced chemicals production from biogenic CO2 emissions for circular bio-based industries. H2020-EU. Grant Agreement 101000790

Bioprospecting urban environments: diesel-degrading bacteria living in the car tank lid

Vidal-Verdú, Àngela[1]; Gómez-Martínez, Daniela[1]; Latorre-Pérez, Adriel[2]; Peretó, Juli[1,3]; Porcar, Manuel[1,2].

[11]Institute for Integrative Systems Biology I2SysBio (University of Valencia – CSIC). Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch 9, 46980 Paterna, Spain. [2] Darwin Bioprospecting Excellence S.L. Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch 9, 46980 Paterna, Spain. [3] Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Valencia, Calle Dr. Moliner 50, 46100 Burjassot, Spain.

**Email del autor que presentará el trabajo: angela.vidal@uv.es*

Microorganisms suitable for bioremediation of fuel have been typically found in contaminated environments such as oil spills and gas stations. Nevertheless, also usual urban environments can be an interesting source of microorganisms with fuel-degrading activities. In this study, we analyzed the microbial communities thriving below the lids of fuel deposits of diesel and gasoline cars by both approaches, Next Generation Sequencing (NGS) and culturomics. The microbiota colonizing the tank lids was different from other natural hydrocarbon-polluted environments, being *Proteobacteria* the dominant phylum. We observed an increase in relative abundance of the *Pseudomonas* genus when the samples were enriched with diesel as the main carbon source and a collection of culturable strains was set from these enriched cultures. Consecutively, the biosurfactant-producing ability of the strains in the collection was assessed and isolates belonging to *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* and *Isoptericola* genera were selected to perform further analysis on diesel degradation. Eventually, five of these selected strains showed their potential on bioremediation of diesel when analyzed by GC-MS, displaying up to 61% of total diesel degradation after 7 days of incubation in the case of *Pseudomonas reidholzensis*. Moreover, the strain *Isoptericola* sp. 4D.3 was found to be a potential new species whose genome harbors an aromatic hydrocarbon degradation pathway.

La Colección Española de Cultivos Tipo y los recursos microbianos en el entorno de "ESFRI, the European Strategy Forum on Research Infrastructures"

Elizaquível, Patricia[1]; Ruvira, M. Amparo[1]; Lucena, Teresa[1]; Zuzuarregui, Aurora[1]; Rodrigo-Torres, Lidia[2]; López-Coronado, José M.[1]; Aznar, Rosa[1, 2]

[1] Colección Española de Cultivos Tipo, CECT / Universitat de València
[2] Departamento de Microbiología y Ecología / Universitat de València
**raznar@cect.org*

La CECT es un centro de recursos microbianos (mBRC) que participa en la Infraestuctura Europea de Investigación (ESFRI) "MIRRI, Microbial Resource Research Infrastructure". MIRRI promueve la preservación, investigación sistemática, provisión y valorización de los recursos microbianos y la biodiversidad. Actualmente se encuentra en proceso de establecerse legalmente como Consorcio Europeo de Infraestructuras de Investigación (ERIC) y trabaja en la implementación de los servicios de apoyo a la investigación mediante el proyecto IS_MIRRI21. El núcleo del funcionamiento de MIRRI es el Entorno de Trabajo Colaborativo (CWE), plataforma digital dinámica que reúne a los socios y usuarios de MIRRI y cuyo primer prototipo ya está accesible en www.mirri.org. A través del CWE, MIRRI construye un punto único de acceso a gran cantidad de microorganismos (sus datos y derivados, catalog.mirri.org/search), servicios, asesoramiento de expertos y programas de formación sobre el uso y la conservación en apoyo de la bioeconomía circular para un futuro verde, saludable y sostenible.

Además, la CECT participa en el proyecto EOSC-Life (www.eosc-portal.eu/eosc-life) que trata de facilitar el acceso a datos biológicos procedentes de diferentes infraestructuras de investigación (RIs), entre las que se incluye MIRRI, dando soporte digital a la I+D+i. Así mismo, ha desarrollado y mantiene la aplicación StrainsApp (https://strainsapp.redesmi.es), una herramienta personalizable para la gestión de las bases de datos de cepas de colecciones de cultivo, que puede incluir arqueas, bacterias, hongos filamentosos, levaduras, microalgas, y virus animales y vegetales, además de bacteriófagos. También mantiene la web MicrobioSpain (www.microbiospain.org), como soporte de la Red Española de Microorganismos (REDESMI).

Colección Española de Cultivos Tipo: Conservación y suministro de material microbiológico de referencia

Lucena, Teresa[*1]*; Ruvira, M. Amparo*[1]*; Elizaquível, Patricia*[1]*; Macián, M. Carmen*[1]*; Aznar, Rosa*[1,2]

[1] Colección Española de Cultivos Tipo, CECT / Universitat de València

[2] Departamento de Microbiología y Ecología / Universitat de València

**teresa.lucena@uv.es*

La Colección Española de Cultivos Tipo (CECT-UVEG) es el único Centro de Recursos Microbianos (mBRC) público en España y actúa como depositario y proveedor de bacterias, arqueas, levaduras, hongos filamentosos y, recientemente provee el **Mengovirus** (cepa vMC0 mutante no-virulento = CECT100000), que se utiliza como control positivo en los análisis de detección de virus. La CECT es un Servicio de la Universitat de València y está certificada para la norma ISO 9001:2015 y sigue las recomendaciones de la OCDE para el manejo de recursos microbianos. Tiene como misión apoyar el desarrollo de la biotecnología de base microbiológica, ofreciendo servicios tanto a la comunidad científica como al sector empresarial. Por un lado, posee una amplia cartera de cepas con potencial aplicación comercial en áreas tales como probióticos, enología, biocontrol de plagas, fertilización de suelos y bioremediación, entre otros y, por otro, trabaja en la implementación de procedimientos para la conservación de nuevos grupos microbianos i.e. **hongos micorrícicos** y **Bacteriófagos**. Esta reconocida como Autoridad Internacional de Depósito de Microorganismos (IDA) para fines de patentes, según el Tratado de Budapest, con el fin de dar soporte a los investigadores españoles que desean patentar sus desarrollos de base microbiana. Así mismo, ofrece la modalidad de depósito restringido mediante la cual la CECT mantiene las cepas de modo confidencial, asegurando su viabilidad, trazabilidad y disponibilidad inmediata.

Otros servicios que ofrece la CECT (www.uv.es/cect) incluyen la identificación y caracterización de microorganismos (comunicación M.A. Ruvira), liofilización de muestras biológicas y formación a medida.

Identificación microbiana en la Colección Española de Cultivos Tipo: secuenciación de DNA versus MALDI-TOF MS

*Ruvira, M. Amparo*1; Lucena, Teresa1 ; Elizaquível, Patricia1 ; Igual, Ana1; Macián, M. Carmen1; López, Laura1; Aznar, Rosa1, 2*

1 Colección Española de Cultivos Tipo, CECT / Universitat deValència

2 Departamento de Microbiología y Ecología / Universitat de València

*aruvira@cect.org

La identificación inequívoca de microorganismos es esencial para su aplicación en biotecnología. Conocer la especie a la que pertenece una nueva cepa provee información relevante para su manejo en el laboratorio, así como sobre sus posibles restricciones de utilización en sectores como alimentación, agricultura o salud, siendo requisito obligado para el registro de fertilizantes (RD 999_2017).

La CECT provee el servicio de identificación microbiana mediante diferentes aproximaciones, dependiendo de la cepa a estudiar y de las necesidades del cliente. Una de las técnicas más resolutivas es la secuenciación de genes esenciales (gen 16S rRNA, dominios D1/D2 del gen 28S rRNA y la región ITS), procedimiento de referencia por la comunidad científica.

Otra técnica que se oferta desde la CECT, es la espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS), en la que se analizan principalmente las proteínas ribosómicas del microorganismo. Tiene un poder de resolución equivalente al de la secuenciación de genes ribosómicos (p.e. 16S rRNA) y proporciona resultados más rápidos. En este caso el éxito en la identificación depende en gran medida de la base de datos de perfiles MALDI-TOF con la que se realiza la comparación. La CECT cuenta con una base de perfiles MALDI ampliada con las cepas de referencia del catálogo público, por lo que se está convirtiendo en la opción más solicitada. El sistema Bruker Daltonics, también permite generar dendrogramas, lo que facilita el cribado de aislados procedentes del mismo origen.

Además, se oferta la secuenciación y análisis de genomas de microorganismos.

Identificacióndeagrupacionesdegenesdebiosíntesisparapéptidosnoribosomalesen *Streptomyces* sp.CS113

García-Gutiérrez, Coral[1,2,3]; G. Malmierca, Mónica[1,2,3]; Olano, Carlos[1,2,3]; Méndez, Carmen
[1,2,3]1UniversidaddeOviedo,DepartamentodeBiologíaFuncional,ÁreadeMicrobiología,Facultadde Medicina,Oviedo, España,
[2] InstitutoUniversitariodeOncologíadelPrincipadodeAsturias(IUOPA),Oviedo,España,
[3] InstitutodeInvestigaciónSanitariadelPrincipadodeAsturias(ISPA),Oviedo,España.
**coral93@hotmail.es*

Apesardeexistirungrannúmerodefármacosycompuestosbioactivosenelmercado,sigue habiendo una gran necesidad de nuevos compuestos que puedan ser utilizados contranuevas dianas terapéuticas. La mayoría de estos compuestos son de origen natural, siendolasbacteriasdelgénero*Streptomyces*losmicroorganismosmásimportantescomoproductores de compuestos bioactivos. Estos metabolitos presentan estructuras químicasúnicasycomplejas,conunagrandiversidad,comopolicétidos,péptidosdesíntesisnoribosomal,aminoglicósidos, terpenos, entre otros.

Analizandobioinformáticamenteelgenomadelacepade*Streptomyces*sp.CS113ydescartando las agrupaciones de genes de biosíntesis (BGC) que codificaban compuestos yadescritos, se seleccionaron 4 BGCs de tipo NRPS (Péptido Sintetasa No Ribosomal). EstosBGCs (C1, C15, C23 y C24) se analizaron en profundidad y se generaron mutantes en variosde los genes de cada agrupación génica. Con el fin de determinar en qué medios de cultivose expresan dichos BGCs, se ha introducido el gen reportero de la indigoidina detrás depromotoresdealgunodelosgenesdebiosíntesisdelosmismos,observándoseexpresiónde indigoidina en varios medios de cultivo. Se han realizado cultivos en dichos medios de lasdistintas cepas mutantes en paralelo con la cepa silvestre, para comparar mediante UPLC yMS-HPLC los perfiles de metabolitos, con el fin de identificar compuestos diferenciales. Enalgunoscasossehaidentificadounposiblecompuestodiferencialquesecorrelacionaríaconel compuestoesperadopara esas rutas debiosíntesis.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos BIO2017-82462-R y PID2020-113062RB-100a Carmen Méndez.

Búsqueda de BGCs de compuestos derivados de la unidad estructural 2-hidroxibenzoato en *Streptomyces*

González-Moreno, María Soledad[1]; Méndez, Carmen[2]
[1]Universidad de Oviedo, España, [2] Universidad de Oviedo, España.
**Email del autor que presentará el trabajo: msol95gm@gmail.com*

El análisis de los genomas de *Streptomyces* mediante herramientas bioinformáticas reveló un número mayor al esperado de agrupaciones de genes de biosíntesis (BGC), evidenciando su mayor potencial para producir compuestos bioactivos. Sin embargo, estas herramientas no permiten identificar todos los BGCs existentes. El 2-hidroxibenzoato es una unidad estructural que forma parte de compuestos como el anticancerígeno tetraciclina SF2575 o el antibiótico nataxazol. Se sintetiza a partir de corismato mediante una Salicilato Sintasa. Utilizando el gen *ssfH* que codifica la Salicilato Sintasa de tetraciclina SF2575, se ha realizado un análisis bioinformático de genomas de *Streptomyces* en bases de datos y se han diseñado oligonucleótidos para amplificar por PCR secuencias homólogas en *Streptomyces* de colecciones públicas y de la colección "CS". Como consecuencia, se han identificado varias cepas con BGCs con genes homólogos a *ssfH*, de las cuales el *BGC ssf-gla* de la cepa *Streptomyces glaucescens GLA.O* se seleccionó para estudiar en mayor profundidad. Se ha realizado un estudio comparativo del entorno génico del BGC *ssf-gla* con respecto a otras cepas permitiendo su delimitación y la identificación de distintos bloques de genes de biosíntesis. Además, se han generado distintos mutantes en genes de biosíntesis y se ha sobreexpresado un regulador positivo. El análisis por UPLC de los metabolitos producidos por los mutantes y por la cepa silvestre reveló diferencias en sus perfiles metabólicos, cuya relación con la producción de metabolitos secundarios derivados de 2-hidroxibenzoato se analizará en la presente presentación.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por Proyecto BIO2017-82462-R a C. Méndez.

Identificación de nuevos clústeres de genes de biosíntesis de compuestos con enlaces N-N y derivados de 3,4-AHBA

*Prado-Alonso, Laura[1,2,3]; Ye, Suhui[1,2,3]; Montero, Ignacio[1,2,3]; Fernández, Raúl[1]; Méndez, Carmen[1,2,3]

[1] Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional, Facultad de Medicina, Oviedo, España.
[2] Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA), Oviedo, España.
[3] Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo, España.
* pradoalaura@uniovi.es

La minería genómica es una estrategia dirigida a la búsqueda en genomas de *Streptomyces* de clústeres de genes biosintéticos (BGCs) desconocidos codificantes de nuevos compuestos potencialmente bioactivos. Para ello es interesante la identificación de genes implicados en la biosíntesis de compuestos químicos con grupos estructurales novedosos, que generen elevada diversidad de estructuras y actividades biológicas, como es el caso de las unidades estructurales derivadas de hidroxibenzoatos y aminobenzoatos, y los enlaces N-N, presentes en diferentes compuestos bioactivos producidos por actinomicetos tales como la grixazona A, la cremeomicina o la asukamicina.

En este trabajo se realizó un cribado en una colección de cepas de *Streptomyces* aisladas de hormigas *Attini*, para la detección de nuevos BGCs codificantes de compuestos con enlaces N-N y/o derivados de 3,4-AHBA, identificándose un clúster en la cepa *Streptomyces* sp. CS057, que contiene genes similares a los implicados en la formación de un grupo hidrazina en el antibiótico s56-p1 (*orf11*, *orf14*) y del grupo diazo presente en la cremeomicina (*orf16* y *orf17*); así como dos genes (*orf19* y *orf20*) que presentan similitud con los genes de biosíntesis de 3,4-AHBA. Mediante análisis bioinformáticos, se ha observado que este clúster incluye dos genes codificantes de reguladores de tipo LuxR y TetR (*orf24* y *orf27*) y aparece conservado en diferentes cepas de *Streptomyces*, adyacente en muchos casos a otra región de tipo NRPS-PKS. En este trabajo se han realizado diferentes mutantes y sobreexpresiones en los genes mencionados para la identificación mediante cromatografía del/los compuestos codificados por dicho clúster.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MCI-21-PID2020-113062RB-100 y BIO2017-82462-R a Carmen Méndez.

Búsqueda de agrupamientos de genes de biosíntesis de compuestos derivado de 3,5-AHBA en *Streptomyces*.

Rodríguez Miriam[1,2,3]*; *Méndez Carmen*[1,2,3]

[1] Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional, Oviedo, España.

[2] Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA), Oviedo, España.

[3] Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo, España.

rodriguezmiriam@uniovi.es

Streptomyces es un gran productor de compuestos bioactivos como antibióticos y antitumorales codificados por agrupaciones de genes de biosíntesis (BGC). El análisis de los genomas de *Streptomyces* utilizando herramientas bioinformáticas reveló que contiene un número mayor al esperado de BGCs, aunque no se identifican todos los existentes. Además, estos BGCs suelen estar silenciosos o expresarse poco en condiciones de laboratorio.

Los aminobenzoatos son *building blocks* de compuestos naturales estructural y funcionalmente muy diversos producidos por *Streptomyces*. El 3-amino-5-hidroxibenzoato (AHBA) es un precursor biosintético de antibióticos como el antiberculoso rifamicina y los antitumorales geldanamicina y mitomicina.

La ruta de biosíntesis de AHBA ha sido caracterizada en *Amycolatopsis mediterranei* para la producción de rifamicina. En el presente trabajo, utilizando el gen que codifica la AHBA sintasa, se ha realizado un análisis bioinformático de genomas de *Streptomyces* en bases de datos y se han diseñado oligonucleótidos para amplificar por PCR secuencias homólogas en la colección “CS”, de *Streptomyces* simbiontes de hormigas de la tribu Attini. De esta forma se han identificado varias cepas con genes tipo AHBA sintasa que forman parte de BGCs, de los cuales se han seleccionado para estudiar en mayor profundidad los de *Streptomyces roseosporus*, *Streptomyces* CS014 y *Streptomyces sp* NRRL S-1022. Se han generado mutantes y se ha realizado un estudio de perfiles de metabolitos mediante UPLC frente a las cepas silvestres, mostrándose la aparición de picos diferenciales susceptibles de ser metabolitos secundarios de tipo 3,5 AHBA.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto BIOBENZOS de C. Méndez (MINECO-18-BIO2017-82462-R).

CMIBM

VALENCIA 2022

PÓSTERES BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

EVOLUTION-DRIVEN COMBINATORIAL CHEMISTRY BY GENETICS USING FUNGAL NATURAL PRODUCT GENE CLUSTERS

Cruz-Morales, Pablo[1]; Cano-Prieto, Carolina[1]; Undabarrena, Agustina[1]; Calheiros de Carvalho, Ana[1]; Arsovska, Dushica[1]; Li, Xiaowei[1]; Keasling, Jay D[1].*

[1]Yeas natural Products laboratory. The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability. Kongens Lyngby. Denmark

*cacapr@biosustain.dtu.dk

The availability of affordable genome sequencing platforms, efficient genome mining, analytical methods and synthetic biology tools has granted unprecedented access to microbial natural products, mostly from bacteria. Despite these advances, Fungi which have larger and distinctively different chemical repertoires remain an underexploited source of natural products.

Our team aims to develop genome mining methods and yeast heterologous expression platforms for fungal natural products using a combination of phylogenomic and synthetic biology. Our approach is based in the observation that natural product biosynthetic gene clusters that produce chemically related molecules can be classified into families (BGCFs). Evolutionary analysis of these families reveals that they are formed by groups of highly conserved enzymes that evolved to generate common intermediates which were diversified by a set of accessory enzymes which were acquired through millions of years. Their gain and loss led to the production of metabolites that are filtered by natural selection and fixed within species populations depending on their environments. Our goal is to exploit this evolutionary mechanism to gain access to the chemical diversity encoded in entire BGCFs, capture it into vials and use it for production of drugs and other bioproducts.

Here we will present our efforts to systematically identify and classify fungal BGCFs, define their taxonomic distribution and predict chemical diversity using phylogenomic. We plan to use this information to generate biosynthetic blueprints for combinatorial DNA libraries for heterologous production in yeast. The goal is to produce many molecules that can then be screened for their bioactivities.

Influencia del hierro y de su almacenamiento en el metabolismo secundario de *Streptomyces coelicolor*

García Martín, Javier; Díaz Martínez, Margarita; Santamaría Sánchez, Ramón I.

Instituto de Biología Funcional y Genómica (CSIC/USAL), España

gmjavier9@usal.es

La producción de metabolitos secundarios en bacterias del género *Streptomyces* está muy regulada por factores genéticos y ambientales[1]. Dentro de estos factores, el hierro es un elemento esencial que interviene en muchos procesos celulares y que, en *Streptomyces*, tiene un importante papel en el desarrollo y metabolismo[2].

En este trabajo se ha comparado la producción de los antibióticos actinorrodina (ACT) y undecilprodigiosina (RED) en *S. coelicolor* entre la cepa silvestre M145 y el mutante de deleción *Δbfr*, que carece del gen de la bacterioferritina, la proteína encargada de almacenar hierro en *Streptomyces*[3]. Ambas cepas se cultivaron en medio mínimo líquido y sólido con tres concentraciones de hierro: 10 nM, 4 µM y 2 mM. De los medios líquidos se recogieron muestras cada dos días y se cuantificaron los antibióticos producidos, mientras que en sólido se hizo un seguimiento del fenotipo.

Los resultados muestran que la ausencia de la bacterioferritina en *S. coelicolor* reduce la producción de ACT y RED con bajas y altas concentraciones de hierro, mientras que adelanta la síntesis de ACT en concentraciones intermedias (4 µM) comparado con la cepa silvestre. Respecto al ensayo en medio sólido, el mutante presenta retraso en el desarrollo de micelio aéreo y la esporulación.

Estos datos demuestran el importante papel del hierro en el desarrollo de *S. coelicolor* y su potencial estudio como agente regulador del metabolismo secundario.

Referencias:

1. https://doi.org/10.1038/ s41579-020-0379-y
2. doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07182.x
3. https://doi.org/10.1128/ AEM.01503-18

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE METANOL EN CULTIVOS DE *PICHIA PASTORIS* SEGÚN LA EVOLUCIÓN DE LOS GASES EXHAUSTO COMO INDICADORES DEL METABOLISMO

Verdú, Fuensanta; Checa, José Luis; Moreno-Cid Juan A.*

Departamento de Desarrollo de Procesos. Bionet. Murcia, España

***Email autor correspondiente: juan.morenocid@bionet.com**

La levadura metilotrófica *Pichia pastoris* es un de los sistemas de expresión de proteínas recombinantes más utilizados, con aplicaciones desde alimentación hasta la industria farmacéutica. Es capaz de crecer utilizando metanol como única fuente de carbono, para ello usa el promotor alcohol oxidasa (AOX), un fuerte inductor para la expresión de la proteína recombinante. Unos de los aspectos críticos de las estrategias de adición de metanol en estos cultivos es el momento de inducción con metanol y evitar su adición en exceso, para evitar acumularlo y volverse tóxico para la levadura por encima de ciertos valores de concentración en el medio. Existen limitados sensores de monitorización online de los niveles de metanol a nivel de proceso en cultivos con *Pichia*, y que además sean escalables e integrables con el software de control del proceso y las bombas de adición del sustrato. En este trabajo se ha utilizado la evolución de la composición del gas exhausto en O2 y CO2 como alternativa a los sensores online de metanol, principalmente según la evolución del CO2 exhausto, para establecer unas estrategias óptimas para el momento de la inducción y alimentación con metanol. Para ello se han utilizado fermentadores Bionet de sobremesa y piloto con módulos externos de análisis continuo de O2 y CO2 exhausto integrado en el software de los equipos. Este trabajo preliminar permitirá implementar futuros controles que optimicen las estrategias de adición de sustrato en procesos de fermentación respecto a una medida directa a partir del metabolismo celular.

LA SAVIA DEL XILEMA DE LA VID ES UN POTENTE INDUCTOR DE LA PRODUCCIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN *Streptomyces spp*.

Santamaría, Ramón I.[1]; Martínez-Carrasco, Ana[1]; Martín, Jesús[2]; Tormo, José R.[2]; Pérez-Victoria*, Ignacio[2]; González, Ignacio[2]; Genilloud, Olga[2]; Reyes, Fernando[2]; Díaz, Margarita[1]*

santa@usal.es

1.- Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG)/Departamento de Microbiología y Genética. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)/Universidad de Salamanca, C/ Zacarías González, nº 2 37007-Salamanca, España

2.- Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Avda. del Conocimiento 34, 18016-Granada, España

Las bacterias del género *Streptomyces* son habitantes normales del suelo donde, junto con otras bacterias, hongos y organismos superiores, forman parte de diferentes comunidades en las que producen gran cantidad de metabolitos secundarios de interés industrial.

En este estudio aportamos evidencias que demuestran que la savia del xilema de la vid tiene un efecto positivo en la producción de diferentes antibióticos por parte de *S. ambofaciens* ATCC 23877, *S. argillaceus* ATCC 12596, *S. coelicolor* M145, *S. griseus* subsp. *griseus* ATCC 13273, *S. olivaceus* Tue22 y *S. rochei* CECT 3329. Entre los compuestos inducidos, se ha detectado mediante LC/HRMS la producción de actinomicina G4, actinomicina D, actinorhodina, antibiótico BA 12100MY1, cromomicina A3, fungicromina, mitramicina A, nocardamina, SEK34, xanticina , y otros cinco compuestos con fórmulas moleculares no incluidas en el Diccionario de Productos Naturales (DNP v28.2).

Los experimentos realizados nos han permitido establecer que los elicitores presentes tienen un tamaño molecular menor de 3 kDa y son solubles en agua e insolubles en éter, acetato de etilo y metanol. Investigaciones posteriores identificaron que una combinación de citrato de potasio y dianhídridos de di-D-fructosa (relacionados con la levanbiosa) actúan como los principales efectores en la inducción de antibióticos. Sin embargo, la producción inducida en presencia de estos compuestos es siempre más débil y retrasada temporalmente con respecto a la inducción obtenida cuando se utiliza la savia total o su fracción menor a 3 kDa. Este resultado sugiere que otro/s elicitor/es, no identificado/s, debe/n estar también implicado/s en esta inducción.

ESTUDIO DEL EFECTO DE TRES SISTEMAS REGULADORES TIPO XRE/DUF397 DE *Streptomyces coelicolor* SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ANTIBIÓTICOS Y DIFERENCIACIÓN MORFOLÓGICA

Riascos, Carolina; Santamaría, Ramón I; ***Díaz****, Margarita; Martínez-Carrasco, Ana*

Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) / Departamento de Microbiología y Genética, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) / Universidad de Salamanca (USAL), Salamanca, España.

carolinariascos@usal.es

La aparición de nuevas enfermedades producidas por bacterias resistentes a los tratamientos con antibióticos es un problema de talla mundial. A partir de nuestro organismo modelo *S. coelicolor* estamos estudiando el papel regulador de 3 sistemas de proteínas denominadas XRE/DUF397 (Xenobiotic Response Element/ Domain Unknown Function) sobre la producción de antibióticos. Inicialmente, estos sistemas XRE/DUF397 fueron establecidos bioinformáticamente como sistemas Toxina/Antitoxina (TA) (Xie et al 2018). En un estudio previo del grupo hemos descrito que el sistema SCO4441/42, perteneciente a este grupo de reguladores, no se comporta como un sistema TA, sino que es un fuerte regulador positivo en la producción de antibióticos en *S. coelicolor* y en otras especies de *Streptomyces* (Santamaría et al 2018). Nuestro estudio consistió en la clonación, sobreexpresión y deleción de 3 sistemas XRE/DUF397 de este microorganismo y su estudio en diferentes medios de cultivo. Nuestros resultados demuestran que, en las condiciones ensayadas, ninguno de los 3 sistemas XRE/DUF397 se comporta como un sistema toxina antitoxina. Por otro lado, La sobreexpresión o deleción de algunos de estos sistemas, o de sus proteínas por separado, sí que tiene un efecto sobre la diferenciación morfológica y/o sobre la producción de Actinorrodina y undecilprodigiosina, actuando positiva o negativamente en la regulación de estos dos antibióticos. Estos resultados muestran el importante papel de estos reguladores en la producción de antibióticos abriendo paso a su posible manipulación futura con objeto de activar la expresión de nuevos clusters de antibióticos.

Análisis de la producción de Compuestos Orgánicos Volátiles con propiedades antifúngicas en *Streptomyces spp.*

Cuervo, Lorena,[1,2]; Álvarez-García, Samuel[3]; Olano, Carlos,[1,2]; Malmierca, Mónica G.[1,2]

[1]Área de Microbiología, Dpto. Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo, España. [2]Instituto Universitario de Oncología, Oviedo, España.[3]Área de Fisiología Vegetal, Dpto. Ingeniería y Ciencias Agrarias, Universidad de León, León, España.

**cuervolorena@uniovi.es*

Debido al creciente desarrollo de múltiples resistencias a los fármacos empleados en la actualidad existe un emergente interés en la búsqueda de nuevos compuestos como alternativas terapéuticas. Por ello, se están centrando grandes esfuerzos en el estudio del género *Streptomyces*, uno de los mayores productores de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas. En concreto, suscita gran interés el análisis de Compuestos Orgánicos Volátiles (VOCs), ya que son moléculas mediadoras de la comunicación y que en múltiples ocasiones han manifestado presentar propiedades antifúngicas o antibacterianas.

En este proyecto, se trató de evaluar la capacidad antifúngica de trece cepas de *Streptomyces spp.* aisladas de hormigas cortadoras de hojas de la tribu *Attini* de Perú. Para ello, se cultivaron las diferentes cepas junto a *Escovopsis weberi*, hongo parásito que convive junto a estos microorganismos en su ambiente natural. Los cultivos se realizaron en unas cámaras que permitieron el intercambio de VOCs entre ambos microorganismos sin existir contacto físico entre los mismos ni con los compuestos que estos pudiesen difundir al medio. Tras cinco días de cultivo se observó que en muchos de los cocultivos el hongo no había crecido o su crecimiento era mucho menor respecto a los controles debido a los VOCs de naturaleza antifúngica producidos por *Streptomyces.*

Este estudio abre puertas a un nuevo campo escasamente explorado hasta ahora, centrando esfuerzos en el análisis de compuestos orgánicos volátiles por las potenciales propiedades de interés como antifúngicos que estas moléculas puedan albergar.

COMPARATIVE GENOMICS AND BIOSYNTHETIC POTENTIAL ANALYSIS OF THE STRAIN *KIBDELOSPORANGIUM* SP. CA-258510

Sánchez-Hidalgo, Marina[1]; González, Ignacio[1]; Oves-Costales, Daniel[1]; Genilloud, Olga[1]*

[1]Fundación MEDINA, Granada, España.

** marina.sanchez@medinaandalucia.es*

The global threat of the increasing antibiotic resistance of microorganisms has renewed the interest to discover novel antibiotics, taking advantage of state-of-the-art analytic, metabolomic and genomic tools, together with the isolation of less exploited genera of rare actinomycetes[1].

The class *Actinobacteria* is a diverse group of Gram-positive aerobic bacteria with high genomic G+C content (>55%), among which the actinomycetes are the most prolific sources of bioactive secondary metabolites[2]. Among the strains belonging to the *Pseudonocardiaceae* family, the genus *Amycolatopsis* produces several active compounds[3], while only a few have been reported for other genera such as *Kibdelosporangium*[4].

As part of our continuous effort to find new bioactive compounds, we describe the biosynthetic potential of the genus *Kibdelosporangium,* focusing on the strain CA-258510, which was previously isolated in our laboratory and showed antimicrobial activities.

The genome of *Kibdelosporangium* sp. CA-258510 was sequenced and compared with those of other *Kibdelosporangium* strains available in public databases. All the genomes were analyzed with antiSMASH[5], and the predicted biosynthetic gene clusters were used to construct sequence similarity networks with BiG-SCAPE/CORASON[6]. The results confirm the potential of the genus *Kibdelosporangium* to produce bioactive secondary metabolites.

1. Miethke, et al (2021). *Nat Rev Chem* 5, 726–749.
2. De Simeis et al (2021). *Antibiotics* 10, 483
3. Song et al (2021). *Molecules* 26, 1884.
4. Tiwari et al., (2012). *Crit Rev Biotechnol* 32, 108-132.
5. Kai et al., (2021). *Nucleic Acids Res* 49(W1), W29-W35.
6. Navarro-Muñoz et al. (2020). *Nat Chem Biol* 16, 60-68.

CMIBM

VALENCIA 2022

PÓSTERES BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Cribado de cepas de S. cerevisiae para su aplicación en vinificación aeróbica

Andrea M. Guindal [a], Jordi Tronchoni [a,b], Ramon Gonzalez [a], Elena Calleja [a], Pilar Morales [a]

a *Instituto de Ciencias de La Vid y Del Vino (CSIC, Gobierno de La Rioja, Universidad de La Rioja), Finca La Grajera, Carretera de Burgos Km 6, 26007, Logroño, La Rioja.*
b *Universidad Internacional de Valencia – VIU, C/ Pintor Sorolla 21, 46002, Valencia.*

La utilización del metabolismo respiratorio de *S. cerevisiae* podría ser una solución al problema del incremento del grado alcohólico del vino. La mayor dificultad en su aplicación no es la baja tasa de respiración de *S. cerevisiae* (debida al efecto *Crabtree*) sino la sobreproducción de ácido acético bajo condiciones aeróbicas.
En este trabajo hemos realizado un cribado de 25 cepas enológicas de *S. cerevisiae* con el objetivo de identificar cepas aplicables en vinificación aeróbica. Las cepas presentaron homogeneidad en la producción de etanol, pero una gran diversidad para el rendimiento de ácido acético. Las tres cepas más prometedoras fueron seleccionadas para una caracterización en biorreactor. Bajo condiciones aeróbicas la producción de ácido acético fue significativamente baja para dos de ellas. En cuanto al perfil volátil, se hallaron compuestos tanto cepa-dependientes como dependientes de las condiciones de fermentación. También se ha optimizado el proceso para reducir la producción de etanol manteniendo una acidez volátil aceptable. El cambio de ambiente aeróbico-anaeróbico actúa como desencadenante para la producción de ácido acético, incluso en las cepas con menor producción. Con una disminución paulatina de la aireación se consiguió una reducción significativa del contenido alcohólico con una acidez volátil dentro de los estándares enológicos.

Este trabajo se ha financiado con los proyectos AGL 2015-63629-R (cofinanciado con fondos FEDER), y PCI 2018-092949 (financiado por MCIN/AEI /10.13039/501100011033 y cofinanciado por la Unión Europea). JT es contratado del programa COMFUTURO de FGCSIC. AMG tiene un contrato predoctoral de la Consejería de Desarrollo Económico e Innovación de la C.A de La Rioja. EC tiene una beca JAE-Intro del CSIC.

ANÁLISIS DEL SISTEMA DE TRANSPORTE DE ALFA-GLUCÓSIDOS EN DOS LEVADURAS TIPO LAGER

Hernández-Vásquez, César Ignacio[1]; *García-García, Jorge Hugo*[1]; *Pérez-Ortega, Esmeralda*[2]; *Damas-Buenrostro, Luis C.*[2]; *Villarreal-García, Daniel*[2]; *Elías-Santos, Myriam*[1]; *Pereyra-Alférez, Benito*[1]
Instituto de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León[1], México, Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma, México[2].
**cesar.hernandezvsqz@uanl.edu.mx*

La cerveza estilo lager, la de mayor venta a nivel mundial, es elaborada con cepas de *Saccharomyces pastorianus* (Sp). Actualmente se reconocen los tipos I y II, donde los miembros del tipo I son deficientes en el consumo de maltotriosa, carbohidrato importante en el mosto cervecero. Este fenotipo está asociado a condiciones de fermentación, presencia y número de copias de transportadores de maltotriosa como MTY1p y regulación genética diferencial. En este trabajo usamos dos levaduras tipo lager. Las cepas SpI y SpII fueron crecidas bajo las mismas condiciones de temperatura, inóculo y medios de cultivo, para lo cual usamos YP con maltosa al 2% (p/v) y mosto cervecero con 3 y 2% de maltotriosa y maltosa, respectivamente. La tasa de transporte fue determinada en condiciones estándar en ambas cepas. SpII mostró 71% y 68% de transporte para maltosa y maltotriosa con respecto a la SpI. Resultados genómicos mostraron que SpII contiene el gen *MTY*1, mientras que SpI no. El análisis de expresión global indicó que la cepa SpII presentó mayor actividad de genes *MAL*x3, reguladores positivos de los genes *MAL*. En apoyo a estas observaciones, el análisis de expresión de *MAL*x1, *AGT*1, *MPH*x, *MTY*1, demostró que éstos están presentes desde el día 1 en SpII y hasta el día 2 en SpI. A la luz de estos datos, podemos concluir que la regulación genética diferencial es responsable de los fenotipos observados y que las condiciones de fermentación no juegan un papel importante en el transporte de α-glucósidos.

Saccharomyces, a yeast genus model for understanding "well-established" metabolic pathways

David Peris[1,2]*; Emily J. Ubbelohde[3,4]; Russel L. Wrobel[3,4]; Chris Todd Hittinger[3,4]

[1]University of Oslo, Norway, [2]Valencian International University (VIU), Spain, [3]University of Wisconsin-Madison, USA, [4]DOE Great Lakes Bioenergy Research Center, USA.

**david.perisnavarro@gmail.com*

The Leloir pathway, also known as the galactose pathway, is one of the best studied metabolic pathways. This pathway has become a model system for understanding the function and evolution of eukaryotic metabolic pathways and their regulation. In the baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, the galactose pathway catalyzes the conversion of the galactose carbon source to glucose, necessary to keep running key cellular functions. The classical view of the pathway contains a protein transporter, different enzymes and regulators, allowing the yeast to consume galactose when glucose is depleted. However, this classical pathway is changing due to new data from studies of wild isolates of *S. cerevisiae* and other yeasts. Here, we studied the genome sequences of more than a hundred new wild isolates of mostly all *Saccharomyces* species and lineages, covering a macroevolutionary timescale of ~20 million years. Our data unravels new traits and the complex evolutionary history of the Leloir pathway. Our new yeast collection elevates the genus *Saccharomyces* as a model for understanding metabolic pathways, which might facilitate the identification and engineering of biological blocks (genes, promotors, etc) with industrial purposes. In the meantime, we have a great bioresource ready to be used for solving some industrial challenges from sectors such as food to bioenergy.

CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES DE *Penicillium expansum* DEFECTIVOS EN LA PRODUCCIÓN DE PATULINA COMO POSIBLES AGENTES DE BIOCONTROL

Llobregat, Belén; González-García, Adrián; González-Candelas, Luis; Ballester, Ana-Rosa

[1]Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Dpto. Biotecnología de Alimentos. Calle Catedrático Agustín Escardino 7, Paterna 46980, España

luis.gonzalez@iata.csic.es

La patulina es la micotoxina más conocida y estudiada de entre los metabolitos secundarios (MS) producidos por *Penicillium expansum*, hongo necrótrofo patógeno de frutos de pepita durante la postcosecha y que causa la podredumbre azul. Esta micotoxina produce una gran cantidad de efectos tóxicos, como citotoxicidad y genotoxicidad. Este hecho ha generado una intensa preocupación en la sociedad debido a los riesgos sanitarios y económicos que representa. El grupo de genes responsables de la biosíntesis de patulina en *P. expansum* está compuesto por 15 genes, siendo el gen *patK* el que codifica la primera enzima de la ruta de biosíntesis. Además, existen factores reguladores globales que intervienen en la regulación del metabolismo secundario. Entre estos se encuentra la familia de proteínas reguladoras del complejo VELVET (VeA, VelB, LaeA, entre otras) que coordina el desarrollo fúngico y la producción de MS. En el presente estudio hemos caracterizado la capacidad competitiva de mutantes de deleción de los genes *veA* y *patK* frente a la cepa silvestre y su efecto sobre la producción de patulina. Los mutantes de deleción desplazan a la cepa silvestre durante el crecimiento *in vitro* y, en consecuencia, hay una reducción de los niveles de patulina. Paralelamente, se están llevando a cabo pruebas de competencia in vivo en manzanas que empiezan a sugerir resultados similares a los observados *in vitro*. Este estudio preliminar plantea el posible empleo de cepas de *P. expansum* no productoras de micotoxinas como agentes de biocontrol.

Funding: RTI2018-093392-A-I00 (AEI/FEDER, UE), JAEIntro2019-CSIC (JAEINT_19_01896), PRE2019-089326 y RYC-2017-22009.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN COMPUESTO PURIFICADO DE ORIGEN NATURAL FRENTE A PATÓGENOS ALIMENTARIOS.

Mena Ordóñez, Laura; Grande Burgos, Mª José; Gálvez del Postigo Ruiz, Antonio
Universidad de Jaén
mjgrande@ujaen.es

Introducción: El uso de Bioconservantes naturales a base de péptidos antimicrobianos producidos por *Paenibacillus* podría ser una alternativa a los conservantes químicos. En el presente trabajo estudiamos el potencial de la cepa *Paenibacillus thiaminolyticus* UJA_RPAG como productora de AMPs con alta actividad antimicrobiana frente a patógenos transmitidos por alimentos. Se han realizado diferentes ensayos para determinar el espectro antimicrobiano frente a *Escherichia coli* CECT E19, *Listeria innocua* CECT 910, *Staphylococcus aureus* CECT 976, *Salmonella* CECT 3197 y *Bacillus cereus* LWL1.

Resultados y discusión: El crecimiento de la cepa *Paenibacillus thiaminolyticus* se realizó en medio complejo (Glucosa, BHI, casaminoácidos, YNB). La fase estacionaria insoluble formada por el gel C18, que lleva cargas electrostáticas fijas en la superficie, retiene iones que son intercambiados por iones de la fase móvil formada por una solución acuosa con cantidades moderadas de acetonitrilo como solvente orgánico mezclado con agua a diferentes concentraciones. La purificación se llevó a cabo en SPE de extracción en fase sólida y posteriormente se concentró por liofilización y se analizó por HPLC. En los resultados obtenidos observamos una gran actividad del compuesto proteico obtenido en casi todas las cepas ensayadas, aunque esta actividad es notablemente superior frente a *Salmonella* y *Escherichia coli*. El efecto de los eluidos reduce el crecimiento de *E. coli* y *Salmonella* en recuentos de UFC/ml de 10^9 a 10^1 en un periodo de 48 horas mientras que en *B. cereus* y *Listeria* se reducen de 10^8 a 10^ 2 y de 10^9 a 10^5 respectivamente en 24 horas.

Análisis proteómico de las vesículas extracelulares de *Oenococcus oeni*

*Mejias-Ortiz, Miguel[1]; Mencher, Ana[1]; Tronchoni, Jordi[2]; Morales, Pilar[1]; Gonzalez, Ramon[1]**

[1]Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC-Universidad de La Rioja-Gobierno de La Rioja), España, [2] Universidad Internacional de Valencia, España

**Email del autor que presentará el trabajo: rgonzalez@icvv.es*

La fermentación maloláctica (FML) es esencial para la calidad de muchos vinos. Este proceso consiste en la descarboxilación del ácido L-málico hasta ácido L-láctico, aumentando el pH del vino y liberando compuestos con impacto sensorial; y suele estar dirigida por *Oenococcus oeni*. Las interacciones microbianas durante la fermentación del vino son un campo de interés creciente debido a las nuevas estrategias de inoculación en los procesos de vinificación y las vesículas extracelulares (VEs) podrían desempeñar un papel relevante, entre los mecanismos de interacción. La determinación del contenido en proteínas de las VEs es una primera aproximación para entender cómo los procesos biológicos pueden verse afectados por las VEs. En este trabajo, se presenta por primera vez de la producción de vesículas extracelulares por parte de *O. oeni*. El contenido proteico de estas VEs se ha caracterizado mediante análisis proteómico, y comparte algunas características con el contenido proteico recientemente descrito de las VEs de *Lactiplantibacillus plantarum*, una especie bacteriana también capaz de realizar la FML. Las VEs producidas por *O. oeni* tienen un tamaño similar al de otras VEs bacterianas, y el análisis proteómico muestra un enriquecimiento en proteínas ribosomales e integrales de membrana, de manera similar a otras VEs bacterianas y eucariotas. Teniendo en cuenta la ubicuidad de *O. oeni* en la elaboración del vino, este trabajo ayudará en futuros estudios sobre las interacciones microbianas relevantes en enología. Financiado por el Gobierno español: subvenci*ón* PID2019-105159RB-I00 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) y BES-2016-077557 y PRE2020-093420 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por “FSE Invierte en tu futuro”).

Uso de levaduras no convencionales para producir cerveza con bajo contenido alcohólico

Roldán-López, David [1]; Pérez-Través, Laura [1]; Pérez-Torrado, Roberto [1]

[1] Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, España

Email del autor que presentará el trabajo: **david.roldan@iata.csic.es**

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas más consumidas a nivel mundial. Se espera que en los próximos cinco años se produzca un crecimiento del consumo de cerveza de bajo contenido alcohólico en un 2,8% y de cerveza sin alcohol en un 8,8%. Esto se atribuye a tendencias más saludables por parte de los consumidores. Los métodos físicos de desalcoholización que son utilizados en la industria, como la ósmosis inversa o la diálisis, producen la eliminación de otros compuestos volátiles esenciales para las propiedades organolépticas de la cerveza como son los alcoholes superiores y los ésteres. Una alternativa para reducir el contenido en etanol es el uso de levaduras *Saccharomyces* no convencionales. En este proyecto hemos seleccionado alrededor de 300 cepas representativas de las diferentes especies de *Saccharomyces* y sus correspondientes subpoblaciones. También recolectamos cepas de los géneros *Naumovozyma* y *Kazachstania*, que pueden usarse potencialmente para hibridar con *S. cerevisiae,* y especies genéticamente distantes que ya han sido descritas como productoras de bajo contenido en etanol en fermentaciones de cerveza. Actualmente se ha realizado una primera ronda de selección en base al consumo de azúcares y el rendimiento en etanol para decidir que cepas serán utilizadas para desarrollar un análisis con técnicas de transcriptómica y metabolómica. La gran diversidad genética que hemos logrado en nuestra colección es clave para producir híbridos o desarrollar sistemas de cocultivo con el objetivo de producir cerveza con contenido alcohólico reducido sin prescindir de una buena calidad organoléptica.

A high-throughput pipeline for studying the effects of polyploidization during adaptive evolution in yeasts

Orellana-Muñoz, Sara[1]; Stelkens, Rike[2]; Kauserud, Håvard[1]; Skrede, Inger[1]; Peris, David[1]

1 Section for Genetics and Evolutionary Biology, Department of Biosciences, University of Oslo, N-0316 Oslo, Norway.
2 Department of Zoology, Stockholm University, Sweden.

Contact e-mail: saraom@ous-research.no

Polyploidy, caused by duplication of entire genomes, is widespread in prokaryotic and eukaryotic organisms. It is common in plants, animals and microbial eukaryotes, such as yeasts. Polyploidization often occurs during periods of environmental change or stress. It promotes the generation of diversity and may have an important role in speciation. However, the connection between polyploidization and the effects on adaptive phenotypes is still unclear.

The budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, has proved to be an interesting model for studies of the evolutionary consequences of polyploidization. Population genomic surveys have unraveled that yeasts involved in beer fermentation are polyphyletic and that different brewing lineages are characterized by high genetic diversity and ploidy levels. Explorations of different brewing lineages have revealed that polyploidization is part of the domestication of these brewing strains, which now possess industrially relevant phenotypic traits. For this reason, we consider polyploidization as a potential mechanism to improve other industrial bioprocesses.

Here, we describe a potential high-throughput screening method for synthetic polyploids, using the genus *Saccharomyces* as a model. Together with adaptive laboratory evolution (ALE) experiments, in industrially relevant conditions, we aim to facilitate the adaptation of the polyploid strains. We envision that using multi-omic analyses on ancestors and evolved polyploids will point to the genetic determinants of industrially relevant phenotypic traits. Finally, we will discuss how the genetic traits responsible of the adaptation to industrial bioprocesses, might provide new ways to improve industrially relevant yeasts.

Scaling-up the bioproduction of Hydroxytyrosol with fed-batch, and continuous fermentation processes

Alba Guillén, Ignacio Sastre, Ricardo Bisquert, Sara Muñiz-Calvo, José M. Guillamón

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, España

alba.guillen@iata.csic.es

Hydroxytyrosol (HT) is a phenol found in the olive tree, as well as in virgin olive oil and by-products of olive oil manufacture and is one of the most powerful dietary antioxidants used in the food industry. Nowadays, the main strategy to obtain HT is processes with a high environmental cost and economically unviable. Currently, we have developed a metabolic engineered *S. cerevisiae* strain able to produce approximately 0,5 mg l^{-1} of HT from shake-flask fermentation and using a minimal synthetic-defined medium.

To improve the industrial bioproduction of HT, we want to determinate the best operating model, as well as detecting the environmental conditions that affect growth and product formation. The production of a certain molecule depends both on the growth rate, on the biomass produced, as well as on the characteristics of the culture medium, being nutrient and substrate concentrations, pH, temperature or oxygen transfer rate the main factors to upscale a result from the bench to the industrial production.

Continuous cultures are a very powerful tool to properly define the HT production criteria, because it allows us to define changes in a single parameter, keeping the rest of them constant. The first approach consists on testing the HT production of our metabolic engineered strain in chemostat cultures at different growth rates. Furthermore, the optimum growth medium will be designed. Once the best physiological conditions for growth have been established, production will be transferred to a fed-batch system, given its widespread use in the industry.

Differences in metabolism among species of the genus *Saccharomyces* and their hybrids in wine fermentation

Contreras-Ruiz, Alba [1], Minebois, Romain[1]; Barrio, Eladio [1, 2],Alonso del Real, Javier[1], Querol, Amparo [1]
[1]Intitute of Agrochemistry and Food Technology (IATA-CSIC), Spain.
[2]University of Valencia (UV), Spain.
acontreras@iata.csic.es

Although *S. cerevisiae* is the most widely used yeast in alcoholic fermentation, other species of the *Saccharomyces* genus, such as *S. uvarum* or hybrids between *S. cerevisiae* and *S. uvarum* or *S. kudriazvezeii* have special interest for the sector to deal with climate change effects. The use of natural and artificial hybrids of *S. cerevisiae*, *S. uvarum* and *S. kudriavzevii* is a solid strategy to introduce or improve the oenological properties in industrials strains of *S. cerevisiae*. Natural hybrids inherit properties of both parentals: the ability to grow at high temperatures (30-37ºC) and higher ethanol tolerance from *S. cerevisiae* and the ability to grow at low temperatures (10-16ºC) from their *S. uvarum* and *S. kudriavzevii* parental. However, these hybrids suppose new challenges for oenological microbiology: What are the contributions, the interactions and the metabolic networks in strains with two genomes?.
To answer these questions we studied the differences in the metabolic flux in hybrids between *S. cerevisiae* and *S. kudriavzevii* or *S. uvarum* to be compared with those observed in their parental species. All experiments were performed in very well controlled laboratory bioreactors (MiniBio, Applikon) using synthetic must at 22ºC. Along the wine fermentations, we have measured concentrations of the most important extracellular compounds: glucose, fructose, glycerol, ethanol, acetic acid, lactate, citrate, succinate, amino acids, higher alcohols and esters; and intracellular metabolites using the Metabolom Platform. Interesting differences were observed among the species and the hybrids in carbohydrate metabolism, lipid metabolism, *de novo* nucleotide synthesis, one-carbon metabolism, and glutathione metabolism.
Acknowledgment: RTI2018-093744-B-C31 and FPU18/02933

DECIPHERING IRON AND COPPER RESISTANCE IN *SACCHAROMYCES* GENUS

Sorribes-Daudén, Raquel [1,2]; Miró, Pilar[2]; Jordá, Tania [2]; Romero, Antonia María [2]; Peris, David [3]; Martínez-Pastor, María Teresa [1] and Puig, Sergi [2]

[1] Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universitat de València. Valencia, Spain.

[2]Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Valencia, Spain.,

[3] Section for Genetics and Evolutionary Biology, Department of Biosciences, University of Oslo. Oslo, Norway

**Raquel.Sorribes@uv.es*

Iron and copper can gain and lose electrons easily, due to their redox properties. For that reason, they participate as cofactors in many essential biological processes. Iron is necessary for DNA replication and repair, cellular respiration and synthesis of proteins and lipids. Copper is required for the oxidative stress response, electron transport chain and proper protein conformation.

However, both transition metals can also participate in Fenton reactions which produce reactive oxygen species (ROS) that induce damage to the cell through lipid, DNA and protein peroxidation. In the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* iron detoxification depends on its storage at the vacuole by the Yap5-target gene *CCC1*, which encodes a vacuolar iron/manganese transporter. Copper detoxification occurs mainly through copper-chelating metallothioneins (encoded by *CUP1-1*, *CUP1-2* and *CRS5* genes) and superoxide dismutase (encoded by *SOD1)*, which expression is regulated by Ace1. In the last decades, the number of available *Saccharomyces* genus strains and genomes has experimented a huge growth, bringing the opportunity to discover new genomic traits associated with phenotypes of biotechnological relevance. We have analyzed the response of representative strains of the most important available populations of *Saccharomyces* species to an excess concentration of iron and copper as well as the molecular mechanisms behind this behavior.

PROCESADO DE MATRICES EN POLVO MEDIANTE LA TECNOLOGÍA DE PLASMA FRÍO ATMOSFÉRICO PARA GARANTIZAR LA INACTIVACIÓN DE *Enterobacteriaceae*

Beyrer, Michael[1]; Ricós, Neus[2]; Ellert, Christoph[1]; Esteve, Consuelo[2]; Pina-Pérez, Maria Consuelo[2]*

[1]University of Applied Sciences, HES.SO Valais-Wallis, Institute of Life Sciences, Suiza, [2]Universitat de València, Departamento de Microbiologia y Ecología, España

**Email: maria.c.pina@uv.es*

La seguridad microbiológica de los productos en polvo dirigidos al público infantil, preocupa a la comunidad científica internacional, siendo patógenos como *Bacillus cereus, Salmonella Agona,* o *Cronobacter sakazakii* causantes de importantes toxiinfecciones alimentarias en los últimos años (2015-2022). La tecnología de Plasma Frío Atmosférico (PFA) emerge con prometedores resultados en la inactivación de patógenos, alcanzados a temperatura ambiente en pocos minutos, siendo aplicable tanto en productos sólidos, líquidos, como en polvo. El presente estudio evalúa el potencial antimicrobiano de la tecnología de PFA (equipo de microdescargas a nivel superficial (SMD-PFA); ignición de aire como carrier gas; frecuencia 10 kV; potencia 10, 12, 14 W) frente a *Salmonella Tyhimurium* y *Enterobacter pulveris* inoculados en dos matrices en polvo, suero de proteína láctea (SL) y fórmula infantil (IF). Los tratamientos se llevaron a cabo en cámara de SMD-PFA, exponiendo láminas de 1±0.2g de muestra inoculada (10^{8} CFU/g) a la nube de plasma, generada a potencias de 10, 12 y 14 W, para tiempos de tratamiento entre 1 y 5 min. La tecnología de SMD-PFA resulta altamente efectiva en la inactivación de *E. pulveris,* alcanzando niveles de reducción máximos de 3.2 ciclos $\log_{10}$, a 14W-1min (niveles de inactivación próximos a 2 ciclos $\log_{10}$, para tratamientos a 12W-5min, en el caso de *S. Typhimurium*). La tecnología de SMD-PFA demuestra ser efectiva en el procesado tanto de IF como de SL en polvo, frente a patógenos de alta relevancia, sin afectar el valor nutricional de alimento.

Efecto de proteínas antifúngicas (AFPs) sobre hongos resistentes al calor (HRMs) causantes de contaminaciones en la industria de zumos y bebidas.

Hernández, Laura[1]; Manzanares, Paloma[1]; Marcos, Jose F.[1]; Martínez-Culebras, Pedro V.[1,2,]*

[1]Departamento de Biotecnología. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA-CSIC), C/ Catedrático Agustín Escardino 7, Paterna, 46980, Valencia, Spain [2]Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. Universitat de València, Vicente

Andrès Estellès S/n, Burjassot, 46100, Valencia, Spain,

**Email del autor que presentará el trabajo: pedro.martinez@uv.es*

Los hongos termorresistentes (HRMs) son capaces de sobrevivir a los tratamientos térmicos causando importantes problemas en la industria alimentaria, en particular en la industria de zumos y bebidas. Una alternativa prometedora son las proteínas antifúngicas (AFPs) producidas por hongos filamentosos. En este estudio se evaluó la actividad antifúngica de las tres AFPs de *Penicillium expansum* (PeAfpA, PeAfpB y PeAfpC) y la única proteína producida por *Penicillium digitatum* (PdAfpB) frente a 20 cepas de HRMs de 18 especies diferentes. PeAfpA fue la que presentó mayor actividad antifúngica, inhibiendo por completo el crecimiento de todos los hongos evaluados, salvo uno, a las concentraciones ensayadas (0.5-32 µg/mL). PdAfpB mostró una actividad significativa, mientras que PeAfpC y PeAfpB mostraron una capacidad inhibitoria limitada. La comparación de la actividad antifúngica de las 4 AFPs en conidios y ascosporas de *B. spectabilis* permitió concluir que no hay diferencias de sensibilidad entre ambos tipos de esporas. Por otra parte, se evaluó la actividad antifúngica de las AFPs frente a una selección de HRMs relevantes en la industria en distintos zumos de frutas. Se observaron importantes diferencias en el comportamiento de las proteínas en los zumos respecto a medio microbiológico. PdAfpB fue la que presentó mayor actividad, seguida de PeAfpB, PeAfpA y PeAfpC respectivamente, lo que indica que los diferentes componentes y condiciones de las distintas matrices influyen en la actividad de las AFPs. Las AFPs utilizadas en este estudio, en particular PdAfpB, tienen potencial para poder ser utilizadas como conservantes en la industria de zumos de frutas.

Implicación de los genes de biosíntesis de acetoína en el modo de acción de la proteína antifúngica PdAfpB de *Penicillium digitatum*

Giner-Llorca, Moisés[1]; Bolós, Begoña[1]; Gandía, Mónica[1]; Manzanares, Paloma[1]; Marcos, Jose F.[1]*

[1]Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), España

**Email del autor que presentará el trabajo: mginer@iata.csic.es*

El desarrollo de nuevos compuestos antifúngicos es una necesidad urgente. Las proteínas antifúngicas (AFPs) producidas por hongos filamentosos son una opción prometedora en este ámbito, pero se requiere un mayor conocimiento de su mecanismo de acción para avanzar hacia su aplicación.

Previamente, realizamos un análisis transcriptómico para dilucidar el modo de acción de la proteína antifúngica PdAfpB sobre su hongo productor *Penicillium digitatum*, patógeno postcosecha de frutos cítricos. Este estudio puso de manifiesto un patrón de expresión diferencial de los genes PDIG_14840 (acetolactato sintasa) y PDIG_14850 (acetolactato descarboxilasa), implicados en la biosíntesis de acetoína y el metabolismo de aminoácidos ramificados. Ambos aumentaron su expresión en tratamientos con PdAfpB a tiempos cortos, pero estaban fuertemente reprimidos tras una exposición continuada a la proteína y en el caso de una cepa sobreproductora de PdAfpB.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar estos genes y averiguar su implicación en el modo de acción de PdAfpB. Para ello, determinamos su expresión génica y generamos cepas deletantes de cada gen y también cepas con la deleción de ambos genes. La caracterización fenotípica de los mutantes mostró que ninguno presentaba diferencias significativas respecto a la cepa parental en cuanto a crecimiento en medio sólido e infectividad en frutos. Sin embargo, los ensayos de actividad antifúngica evidenciaron una mayor tolerancia de todos los mutantes a PdAfpB. Estos resultados sugieren una relación entre la biosíntesis de acetoína y el modo de acción antifúngico de PdAfpB, y nos acercan un paso más a la futura aplicación de las AFPs.

RESPUESTA DE MONOCARIONTES CON VELOCIDAD DE CRECIMIENTO RÁPIDA Y LENTA A DISTINTOS INHIBIDORES DE LA CADENA RESPIRATORIA EN *PLEUROTUS OSTREATUS*

Garde, Edurne; Jiménez, Idoia; Pisabarro, Antonio G.; Pérez Garrido, Gumer; Ramírez, Lucía

Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, España

**Email del autor que presentará el trabajo: edurne.garde@unavarra.es*

Pleurotus ostreatus es un hongo basidiomiceto con importantes propiedades biotecnológicas. Su respiración celular se lleva a cabo a través de la enzima citocromo c oxidasa dependiente de la cadena respiratoria. En ocasiones se activa una respuesta retrógrada y funciona la vía de la oxidasa alternativa. De la cepa dicariótica N001 de P. ostreatus se obtuvieron monocariontes con velocidad de crecimiento rápida y lenta. Datos de análisis transcriptómico permitieron comprobar que la velocidad de crecimiento estaba relacionada con el funcionamiento de la cadena respiratoria. Individuos con velocidad de crecimiento más baja experimentaban una sobreexpresión del gen de la oxidasa alternativa.

El objetivo es analizar la relación entre la velocidad de crecimiento y el funcionamiento de la cadena respiratoria estudiando cómo afectan distintos inhibidores de ésta a la velocidad y cuantificar la expresión en ellos de la oxidasa alternativa. Individuos rápidos y lentos fueron cultivados en medio de agar malta (20 g/l) con distintas concentraciones de inhibidores, a nivel del complejo citocromo c reductasa (III) y complejo citocromo c oxidasa (IV). Para el complejo III se utilizaron los inhibidores Mixotiazol, Antimicina, y ácido salicilhidroxámico (SHAM); para el complejo IV se utilizó el inhibidor KCN.

Los resultados sugieren que los monocariontes lentos expuestos a inhibidores de los complejos III y IV no experimentan cambios significativos en su velocidad, mientras que la velocidad de los monocariontes rápidos sí se ve afectada significativamente.

Al conocer la vía de respiración que llevan a cabo estos individuos se pueden construir organismos mejor adaptados a las condiciones ambientales.

Metabolic engineering of Saccharomyces cerevisiae for serotonin overproduction directly from glucose.

Planells-Cárcel, Andrés; Valera-García, Elena; Bisquert Ricardo; Muñiz-Calvo Sara; Guillamón, José Manuel

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Spain.

anplacar@iata.csic.es

One important aim of EU Green Deal is transformation of chemical industry to an industry more environmentally friendly. This imply the production of molecules usually synthesized from chemical compounds using microorganism such as cell factories for these molecules, being more sustainable and eco-friendlier. *Saccharomyces cerevisiae* plays a key role in this industry conversion as one of the most often used microorganisms in biotechnology with successful applications in the production of both bulk and fine chemicals. In this work, we present an example of overproduction of serotonin using *S. cerevisiae* as cell factory. Serotonin is a molecule of interest due to their health-benefit properties, being use as nutraceutical compounds in different formats, food additives or cosmetics.

For achieve this goal we introduce two heterologous genes to obtain the conversion of L-tryptophan to serotonin. The combination of Tryptophan decarboxylase from *Clostridium sporogenes* (*CsTDC*) and Tryptamine 5-hydroxylase from *Oryza sativa* (*OsT5H*) allow to produce until 120mg/L in a medium with tryptophan supplemented and 34mg/L without supplementation, directly from glucose as carbon source. To improve the carbon flow to serotonin synthesis, unregulated versions of *ARO4* and *TRP2* genes were overexpressed in our engineered strain. These unregulated alleles enhanced the flux into the shikimate pathway and turned out in an increase of the tryptophan levels. The final strain will set up a first step to overproduce serotonin in yeast directly from glucose, to further a stablished cell factory for serotonin production on industrial scale.

Estrategias para reducir el contenido de etanol de los vinos

Pérez-Través, Laura[1]; Bertran, Eva[2]; Adam, Ana Cristina[1]; *Querol, Amparo*[1]

[1] Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA)-CSIC, Valencia, Spain.

[2] Bodegas Miguel Torres S.A., España.

**laupetra@iata.csic.es*

Los vinos actuales presentan, en muchas ocasiones, un incremento del grado alcohólico, en contraposición con las tendencias y gustos del mercado. Esto se debe a la sobremaduración de la uva en el campo, consecuencia del cambio climático, que genera vinos desequilibrados y muy alcohólicos. La búsqueda de actuaciones enológicas que minimicen el incremento de estos grados alcohólicos es el objetivo de muchas empresas especializadas en microbiología enológica.

Para obtener levaduras con menor rendimiento en etanol se utilizaron cepas autóctonas de la bodega Miguel Torres S.A., pertenecientes a *S. cerevisiae*, y 5 cepas de *S. kudriavzevii* aisladas en el IATA, que fueron capaces de realizar microvinificaciones en condiciones de laboratorio, mostrando un menor rendimiento en etanol e incrementando la concentración de glicerol con respecto a *S. cerevisiae*.

Ya que *S. kudriavzevii*, en condiciones industriales, no se impone en una fermentación, se utilizaron dos estrategias para abordar nuestro objetivo. La primera estrategia se basó en la coinoculación y en la inoculación secuencial de una cepa de cada especie. La segunda estrategia fue la obtención de híbridos entre *S. cerevisiae* y *S. kudriavzevii*.

Los resultados en bodega mostraron que la coinoculación de una cepa autóctona de Torres (5A) junto con *Saccharomyces kudriavzevii* CR90 F4, al igual que la utilización del híbrido 5A-CR91 H1 VEG3, serían buenas estrategias para reducir el grado alcohólico en fermentaciones en bodega, llegando a reducir el grado alcohólico entre 0,3-0,5%. Ambas, además, resultaron muy bien puntuadas en paneles de cata, superando al parental vínico y a la cepa testigo.

TOOLS FOR QUANTITATIVE MICROBIAL RISK ASSESSMENT ALONG THE FOOD CHAIN

Zambon, Alessandro[1,2]; Garre Perez, Alberto [1,3]; Fernández Escámez, Pablo Salvador[1]*

[1] University Polytechnic of Cartagena, Spain, [2] University of Padua, Italy, [3] University of Wageningen, The Netherland.

** alessandro.zambon@unipd.it*

The aim of this work is to present an example of implementing tools for Quantitative Microbial Risk Assessment (QMRA) of food products along the food chain. A common ready-to-eat (RTE) product from Spain was used as a case study to identify a possible microbiological hazard for the population. Following, the exposure assessment model was implemented using mathematical models and statistical software to describe the microbial behavior along the food chain. The study will present the possibility to identify the risk exposure in different scenarios (e.g. growth during different storage conditions, inactivation induced by decontamination techniques), showing the flexibility of the tools. The outcome of the QMRA is to estimate the probability of illness of the target population after the consumption of possible contaminated food.

Avaluación de aditivos con capacidad antifúngica para piensos ecológicos enriquecidos con probiótico

Yuste, Aida[1]; Nogué, Eulàlia [1]; Arosemena, Esteban Leonardo[1]; Calvo M. Àngels[1]*

[1]Grupo de Investigación en Microbiología Aplicada y Medioambiental de la Universidad Autónoma de Barcelona, España-

**aidayuste@gmail.com*

En estudios previos donde se realizaba un seguimiento de la calidad microbiológica de diferentes piensos dedicados a la alimentación de granjas de caracol, se observaba una presencia elevada y reiterada de hongos filamentosos. Estos piensos están elaborados con diferentes tipos de cereales y forraje, es decir, con materias primas naturales fácilmente contaminables. Por tanto, es necesaria una situación de ausencia o de baja presencia fúngica para evitar posibles patologías a los animales ya que la ganadería ecológica limita el uso de medicamentos. También hay que tener en cuenta que algunas especies fúngicas pueden ser productoras de micotoxinas que pueden suponer un problema para la salud de los animales y de los humanos que consumen estos animales. Se estudian diferentes aditivos que demuestren un efecto sobre el desarrollo de los hongos sin que puedan manifestar ningún fenómeno de resistencia, además tiene que ser compatible con la adición de una cepa probiótica en el pienso para tratar de reducir el uso de medicamentos. Los productos para evaluar son combinaciones de diferentes ácidos orgánicos. Una vez aislados los principales hongos que se encuentran en el pienso, se estudia la concentración mínima inhibitoria del producto frente a los diferentes hongos teniendo en cuenta la concentración máxima permitida de cada producto. Paralelamente, se realiza el mismo estudio con la cepa probiótica para evaluar si provoca una perdida de viabilidad de esta. Una vez escogido el producto y la concentración adecuada se pasa a escala industrial para mezclarlo con el pienso y hacer un seguimiento de este a lo largo del tiempo para analizar el nivel de hongos filamentosos.

Aproximación transcriptómica para estudiar la función biológica de la proteína antifúngica PdAfpB de *Penicillium digitatum*

Ropero Pérez, Carolina[1]; Manzanares, Paloma[1]; Marcos, Jose F.[1]

[1]Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimento, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA-CSIC), Departamento de Biotecnología de Alimentos, España

cropero@iata.csic.es

Las proteínas antifúngicas (AFPs) de hongos filamentosos son una alternativa para desarrollar nuevos antimicóticos, aunque todavía no se ha determinado su funci*ón biológica* en el hongo productor. La proteína PdAfpB de *Penicillium digitatum* es activa frente a múltiples hongos fitopatógenos, incluyendo el hongo del que procede.

Para estudiar la función de PdAfpB se han determinado los cambios en el transcriptoma entre la cepa silvestre *P. digitatum* (CECT 20769) y un mutante nulo del gen *afpB* (PDMG122). Los estudios previos con este mutante, extendidos ahora, indican que el gen *afpB* es dispensable para el crecimiento vegetativo y la patogénesis del hongo. El análisis por RNA-seq reveló un total de 211 genes diferencialmente expresados (DEGs) en el mutante, el 2,3% de los 9132 genes anotados en *P. digitatum*, de los cuales 34 están sobreexpresados y 177 reprimidos. El análisis de enriquecimiento de ontología génica (GO) de los genes reprimidos indicó la sobrerrepresentación de términos relacionados con el procesamiento de RNA (GO:0006364; GO:0034470) y la biogénesis de ribosomas y ribonucleproteínas (GO:0042254; GO:0022613), señalando una inesperada disminución de la formación de ribosomas a pesar de que el mutante no presenta fenotipo macroscópico. En los genes inducidos se detectó una sobrerrepresentación de la unión a fosfopanteteína (GO:0031177) y unión a aminoácidos modificados (GO:0072341), funciones anotadas en cuatro DEGs inducidos implicados en la biosíntesis no ribosómica de péptidos que incluyen toxinas. El conjunto de DEGs contiene además once genes implicados en transportadores, incluyendo ABCs, transportadores de aminoácidos y de poliaminas, y catorce genes de función desconocida.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE NUEVAS PELÍCULAS PLÁSTICAS PARA INHIBIR EL DESARROLLO DE BACTERIAS PATÓGENAS EN ALIMENTOS

Videira-Quintela, Diogo[1]; Santos, Xiomara[2]; del Estal, Laura[3]; Rodríguez, Juana[3]; Martín, Olga[2]; Montalvo, Gemma[1]; Guillén, Francisco[3]

[1] Departamento de Química Analítica, Química Física e Ingeniería Química, Universidad de Alcalá, Ctra. Madrid-Barcelona, Km 33.600, 28805 Alcalá de Henares, Madrid, España.

[2] Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química, Universidad Carlos III de Madrid, Avenida Universidad 30, 28911 Leganés, Madrid, España.

[3] Departamento de Biomedicina y Biotecnología, Universidad de Alcalá, Ctra. Madrid-Barcelona, Km 33.600, 28805 Alcalá de Henares, Madrid, España.

**Email del autor que presentará el trabajo: francisco.guillen@uah.es*

La seguridad alimentaria sigue siendo hoy en día un desafío constante. Un objetivo prioritario de industrias y gobiernos es el control de bacterias patógenas a lo largo de la cadena de producción/consumo de alimentos. Para evitar la contaminación y crecimiento de estas bacterias en alimentos se están desarrollando envases activos con propiedades antimicrobianas, basados en la incorporación de cargas orgánicas o inorgánicas con actividad bactericida a las matrices que los constituyen.

En este contexto, nuestros grupos de investigación han descrito un método de síntesis rápida y eficiente de nuevas nanopartículas de una sal de hidroxinitrato de cobre II (CuHS), con una actividad microbicida similar a la de nanopartículas metálicas de referencia (Ag y Cu). En la presente investigación, hemos elaborado películas activas de plástico mediante la dispersión de nanopartículas de CuHS en dos matrices poliméricas, polietileno de baja densidad (LDPE) y ácido poliláctico (PLA). La caracterización fisicoquímica de las películas resultantes ha mostrado que su inclusión en las matrices no altera significativamente sus propiedades térmicas y mecánicas. Por otro lado, la actividad microbicida de las películas se ha determinado in vitro frente a *S. enterica* y *L. monocytogenes*. Partiendo de una concentración inicial de 10^8 ufc/ml, las películas LDPE/CuHS han sido las más efectivas, alcanzando una eficacia de reducción bacteriana del 100% con ambas bacterias. Sin embargo, con PLA/CuHS solo se ha alcanzado dicha eficacia con *L. monocytogenes*. La validación de estos resultados con muestras de carne fresca se encuentra en curso y los resultados se mostrarán en el congreso.

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A ESTRÉS EN CEPAS DE DEBARYOMYCES HANSENII AISLADAS DE ALIMENTOS FERMENTADOS ARTESANALES DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

Moruno, María [1]; Roig, Patricia [1]; Tronchoni, Jordi [2]; Belloch, Carmela [3]; Gamero, Amparo [1]

[1] Universitat de València, España, [2] Universidad Internacional de Valencia (VIU), España [3] Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España

** amparo.gamero@uv.es*

Debaryomyces hansenii presenta un elevado potencial biotecnológico para su uso en la industria de alimentos. Además de participar en la elaboración de diversos productos fermentados (quesos, productos cárnicos curados), tiene la capacidad de sintetizar polialcoholes (edulcorantes), enzimas y aromas, e incluso se le atribuye capacidad antimicrobiana. Esta especie puede encontrarse en muy diversos hábitats, ya que presenta elevada tolerancia a diversos estreses, tal y como indican estudios previos del grupo en los que se evaluó su resistencia a la temperatura, al pH, a la actividad de agua y a elevadas cantidades de sal. Esta capacidad de resistencia al estrés sumada a su enorme potencial de aplicación, le confiere una elevada aptitud tanto para la producción de biomasa a nivel industrial como para su uso en procesos fermentativos. Sin embargo, se deben tener en cuenta otros estreses que pueden acontecer a nivel industrial, por lo que en este trabajo se evaluó la resistencia de una colección de 35 cepas de *D. hansenii* aisladas de alimentos fermentados artesanales de la Comunidad Valenciana a elevadas cantidades de glucosa y etanol, así como al estrés oxidativo. Los resultados mostraron marcadas diferencias entre las cepas en cuanto a la resistencia a los diferentes estreses, siendo algunas de ellas muy prometedoras para su uso a escala industrial. Este trabajo ha sido financiado con cargo al proyecto GV2021/065 (Subvenciones a Grupos de Investigación Emergentes, Generalitat Valenciana).

CMIBM

VALENCIA 2022

PÓSTERES BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL-AGRÍCOLA

Methylopila oligotropha (MCSUBH): a promising biopolymer producer strain

Esther Cecília Nunes da Silva [1,2,3], Letícia Oliveira Bispo Cardoso [2,3], Louise Hase Gracioso [2,3], Elen Aquino Perpetuo [2,3,4*]

[1] The Interunit Program in Biotechnology, University of São Paulo, 2415 Lineu Prestes Ave, São Paulo, SP, Brazil

[2] Research Centre for Gas Innovation (RCGI-POLI-USP), University of São Paulo, 2231 Mello Moraes Ave, São Paulo, SP, Brazil

[3] Environmental Research and Education Center (CEPEMA-POLI-USP), University of São Paulo, 271 km, Cônego Domênico Rangoni Rd, Cubatão, SP, Brazil

[4] Institute of Marine Sciences (Imar - UNIFESP), Federal University of São Paulo, 144 Dr Carvalho de Mendonça Ave, São Paulo, SP, Brazil

[*]Corresponding author: elen.aquino@unifesp.br

Abstract

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are natural polyesters accumulated as intracellular granules to store carbon and energy source, during limited growth conditions by bacteria and archaea. The interest in such alternative materials has increased due to the no-biodegradable nature of petrochemical-derived plastics, besides the natural polyesters exhibit thermoplastic and elastomeric properties. In this work, the strain MCSUBH, methylotrophic, aerobic, facultative, isolated from mangrove and identified as *Methylopila oligotropha*, was characterized as a new bacterium able to produce PHAs. The main goal of this study was verify its ability to produce a copolymer- poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) [P (3HB-co-3HV)]- from methanol and other auxiliary co-substrates (citric acid; propanol; propionic acid and valeric acid) in stress conditions. This strain was able to accumulate P(3HB-co-3HV) when valeric acid was supplied as a co-substrate in the presence of methanol, but with other auxiliary-carbon sources (citric acid; propanol and propionic acid), was also able to accumulate values of poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) between 1.31 and 1.53 g L^{-1}. In addition, different strategies for copolymer production were tested, such as cultivation time, methanol and nitrogen concentrations. The rates of P(3HB-co-3HV) accumulation ranged between 0.49 to 0.85 g L^{-1}, reaching 20.86% of molar fraction of 3-hydroxyvaleric acid (3HV). Our results also showed that longer cultivation time promoted an increase in the molar fraction of 3HV, changing the mechanical properties of the biopolymer and making the application of the final product promising.

Generación de un organismo modelo para la identificación de compuestos naturales que generan estrés oxidativo en actinobacterias fitopatógenas

Llano Verdeja, Jesús [1]; Mourenza, Álvaro[1]; Lorente Torres, Blanca[1]; Gil, José A. [1]; Mateos, Luis M.[1]; Letek, Michal [1]*

[1] Departamento de Biología Molecular, Área de Microbiología, Universidad de León, España.

**Email del autor que presentará el trabajo: jllanv00@estudiantes.unileon.es*

Como consecuencia del actual cambio climático, la eficiencia de los pesticidas disminuye y se prevé un cambio en la distribución de las enfermedades causadas por fitopatógenos. Entre los causantes de enfermedades en plantas se encuentran las actinobacterias, donde la patogenia es un fenotipo muy común, afectando a cultivos como la patata, la caña de azúcar o el pistacho.

Como estrategia alternativa al uso de pesticidas, se ha propuesto el uso de moléculas que basen su mecanismo de acción en la generación de estrés oxidativo. Para ello es necesario generar un organismo modelo que permita identificar compuestos de interés y cuyos resultados sean extrapolables a otros agentes patógenos. *Rhodococcus fascians* se postula como uno de los mejores candidatos dado que se trata de una actinobacteria estudiada en profundidad tanto fenotípicamente como genotípicamente, fácil de cultivar y manejar en el laboratorio.

Partiendo de la importancia de los genes que codifican para micorredoxinas identificados en *Rhodococcus equi* en la resistencia frente a estrés oxidativo, se han identificado genes homólogos en *R. fascians.* En este trabajo se han creado mutantes por deleción de estos genes con el objetivo de generar una cepa de *R. fascians* muy sensible a estrés oxidativo. Hemos caracterizado esta cepa en su respuesta a distintos agentes oxidantes, y en base a estos resultados hemos desarrollado una metodología que permite identificar compuestos naturales que basen su mecanismo de acción en la generación de estrés oxidativo para encontrar nuevas formas de control de fitopatógenos más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

LOS SUBPRODUCTOS VITIVINÍCOLAS COMO MATERIAS PRIMAS PARA LA SÍNTESIS DE BIOPRODUCTOS

Hijosa-Valsero, María [1,]; Paniagua-García, Ana I. [1]; Díez-Antolínez, Rebeca [1]*

[1]Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), Villarejo de Órbigo, León, España.

**Email del autor que presentará el trabajo: hijvalma@itacyl.es*

La industria vitivinícola española produjo 4.073 ML de vino y 796 ML de mosto en el año 2020, con una superficie dedicada al viñedo de 876.507 ha (MAPA, 2020). Solamente en Castilla y León, se estima que estas actividades generaron 165.699 t de sarmientos de poda, 67.846 t de orujo, 13.569 t de escobajos y 5.088 t de lías en la campaña de 2019-2020. El proyecto BIOVINO (Interreg POCTEP, 0688_BIOVINO_6_E) busca poner en valor estos subproductos vitivinícolas, frecuentemente infrautilizados, desarrollando nuevos modelos de biorrefinería multiproducto. De este modo, tras un pretratamiento físico-químico y enzimático, la fermentación de los sarmientos de poda produjo 8 g/L de butanol con *Clostridium beijerinckii*, 29 g/L de ácido láctico con *Bacillus coagulans* y 21 g/L de ácido succínico con *Actinobacillus succinogenes*. Por otra parte, los excedentes de mosto, que son directamente fermentables, permitieron obtener 96 g/L de eritritol con *Moniliella pollinis*, 80 g/L de manitol con *Lactobacillus intermedius* y 89 g/L de ácido succínico con *A. succinogenes*. Asimismo, las lías de vinificación han demostrado ser una fuente de nitrógeno muy eficaz para el crecimiento de *B. coagulans* y, en menor medida, de *L. intermedius*. Por lo tanto, estos resultados abren un camino prometedor para la futura implantación a medio plazo de biorrefinerías basadas en subproductos vitivinícolas, dentro de una visión de economía circular.

Efecto de la sobreexpresión del dominio catalítico de la HGM-CoA reductasa en el metabolismo secundario de *F. fujikuroi*.

Borrego Serrano, Ismael [1,2]; Padilla, Rita [2] Herrero, Noemí [2]; Limón, M. Carmen [1]

[1]Departamento de Genética, Universidad de Sevilla, España; [2]Grupo Agrotecnología S.L., Orihuela (Alicante), España.

Ismael.borrego@agrotecnologia.rovensa.com

El género *Fusarium* comprende un amplio grupo de hongos fitopatógenos conocidos por su amplio metabolismo secundario. La especie *Fusarium fujikuroi* tiene la capacidad de sintetizar terpenoides como esteroles, carotenoides y giberelinas. La síntesis de terpenoides en *Fusarium* sólo tiene lugar a través de la ruta del mevalonato, en la que la enzima HMG-CoA reductasa convierte el HMG-CoA en mevalonato. En el genoma de *F. fujikuroi* hay un gen, *hmgR,* para la HMG-CoA reductasa. La sobreexpresión del dominio catalítico de esta enzima en hongos como *Neurospora* o *Candida* ha alterado la carotenogénesis, aunque en *F. fujikuroi* el gen *carS*, principal regulador de la carotenogénesis, no regula la expresión del gen *hmgR.*

Con el fin de aumentar el flujo metabólico hacia la producción de terpenoides en *F. fujikuroi*, se expresó la región del gen *hmgR* que codifica al dominio catalítico bajo el promotor constitutivo P*gdpA* en la estirpe silvestre IMI58289 y en un mutante *carS*- superproductor de carotenoides. Los niveles de expresión del gen *hmgR* aumentaron 4 y 2.5 veces en las estirpes transformantes con respecto a la estirpe silvestre y un mutante *carS*-, respectivamente. La producción de giberelinas aumentó 1.5 y 6 veces, respectivamente. Sin embargo, la producción de carotenoides no se vio alterada, a excepción del transformante SG274 (*OE:hmgR/ carS-)*. Este presentó una menor acumulación de carotenoides, aunque fue con el que se obtuvo la mayor producción de giberelinas. Por otro lado, se está optimizando el cultivo de *F. fujikuroi* en biorreactores de 5L para la producción de estos metabolitos.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno de España (Proyecto RTI2018-101902-B-100 concedido por FEDER/Ministerio de Ciencia e Innovación – Agencia Estatal de Investigación) y la Junta de Andalucía (Proyecto PY20_01243 del Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación). El doctorando Ismael Borrego Serrano tiene una beca “Doctorado Industrial” concedida por el Ministerio de Ciencia e Innovación – Agencia Estatal de Investigación (DIN2018-010196).

TARGETED ISOLATION OF NEW ANTIFUNGAL ANTYMICINS FROM A LICHEN SOIL ASSOCIATED *Streptomyces* STRAIN BASED ON MOLECULAR NETWORKS.

Fernández, Ignacio[1]; González-Menéndez, Víctor[1]; ***González, Ignacio[1]****; Serrano, Rachel[1]; Mackenzie, Thomas A.[1]; Tormo, José R.[1]; Reyes, Fernando[1]; Genilloud, Olga[1]*

Apellido, Nombre[1]; Apellido, Nombre [2]; Apellido, Nombre [3]

[1]Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía. Parque Tecnológico Ciencias de la Salud, Avd. Conocimiento 34, 18016 Granada, Spain.

**Email del autor que presentará el trabajo: ignacio.gonzalez@medinaandalucia.es*

We have focused our attention on the microbial communities associated to the xerophytic lichens that survive in an arid environment such as the gypsum outcrops of Escúzar, Spain. The southeastern Iberian Peninsula is one of the most arid regions in Europe with a rich endemic ecosystem that can be explored for the search of novel metabolites. Additionally, bio-guided fractionation combined with LC/MS dereplication and feature based molecular networking constitute an excellent starting point for the discovery of new bioactive metabolites.

With this background, an antifungal crude extract of Streptomyces CA-296093 was analyzed by LC-MS/MS and a feature based molecular networking analysis identified a family of potentially new natural products. Bioassay-guided fractionation of this extract followed by examination of the anti-fungal properties against six important fungal phytopathogens: Botrytis cinerea, Colletotrichum acutatum, Fusarium oxysporum f. sp. cubense Tropical Race 4,, Magnaporthe grisea, Verticillium dahliae and Zymoseptoria tritici, as well as the cytotoxic effect against five human cell lines (A549, A2058, MCF7, HepG2 and MIA PaCa-2) confirmed the bioactivity of this family of compounds. Four compounds were isolated and their structures were elucidated by 1D, 2D nuclear magnetic resonance (1H, 13C, HSQC, HMBC, COSY and TOCSY) combined with high-resolution electrospray ionization mass spectrometry (HRESIMS). They were new members of the antimycin family, characterized by the presence in the by a 9-membered dilactone macrocyclic ring with different substituents the ring.

These results confirm that extreme environments harbor strains which produce novel compounds that can be used as biocontrol agents in crop protection.

FRONTSH1P European Project: *A FRONTrunner approach to Systemic circular, Holistic & Inclusive solutions for a new Paradigm of territorial circular economy*

Acedos, Miguel G.; Galán, Beatriz; Prieto, Alicia; Barriuso, Jorge; García, Jose Luis.*

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Spain

**miguel.garcia@cib.csic.es*

In the context of a circular bioeconomy there is a growing interest in the use of wastes to obtain products that replace those derived from fossil sources, through more ecological processes. FRONTSH1P aims to ensure the green and just transition of the Polish region of Łódzkie towards decarbonisation and territorial regeneration through demonstration at TRL7 of highly replicable regenerative circular systemic models. These solutions address the current challenges and needs of the region and transform them into opportunities for economic growth, social inclusion, decarbonisation of production and consumption systems, improvement of citizens' quality of life and reconnection between the urban and rural context. This objective is achieved through the development of four Circular Systemic Solutions (CSS), each targeting an economic sector: Wood Packaging, Food & Feed, Water & Nutrients, and Plastic & Rubber Waste. FRONTSH1P aims to ensure long-term impact by applying the Circular Governance Model involving public authorities to ensure that long-term deployments. Replicability will be tested in other European regions (Italy, Greece, Portugal and the Netherlands). CSIC is involved in this project through the valorisation of agricultural wastes into fatty acids for the production of insulating foams. Particularly, wheat straw from the region of Łódzkie is going to be pre-treated, subjected to a saccharification process using our own and commercial enzyme cocktails, and fermented using engineered strains of oleaginous microorganisms able to produce high amounts of lipids from C5 and C6 sugars.

FRONTSH1P. H2020-EU.3.5. Grant Agreement 101037031. 34 partners from 9 countries.

CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA Y MOLECULAR DE CONSORCIOS LIXIVIANTES DE SULFURO DE COBRE AISLADOS DE DOS REGIONES MINERAS DEL PERÚ

Rodriguez-Venturo, Sofia[1]; Herrera-Quinónez, Josemaría [1]; Ramírez-Roca, Pablo [1]*

[1] Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

**Email: sofia.rodriguez@unmsm.edu.pe*

La biolixiviación usando consorcios microbianos se considera una alternativa ecoeficiente y de bajo costo, para la recuperación de metales a partir de minerales de baja ley. En Perú, este proceso se ve limitado debido a las condiciones ambientales que están sometidas las operaciones mineras en las zonas de gran altitud, por lo cual, surge la necesidad de usar microorganismos adaptados a estas condiciones. En este estudio, se realizó la caracterización fisiológica y molecular de consorcios microbianos psicrotolerantes lixiviantes (CMPL), aislados de cuatro drenajes ácidos de la región Pasco y provincia de Huarochirí, ubicados sobre los 4200 m.s.n.m. Se aislaron seis consorcios adaptados a medio 9K con ion ferroso y medio basal 9K con CuS al 0.5% (p/v) a 15 °C. Se evidenció la liberación de cobre en todos los consorcios. El CMPL con mejor crecimiento, presentó a los 30 días, una liberación de 25.21 mg/L de cobre por cada 10^7 células/mL. Además, se cuantificaron los niveles de trehalosa a 28 y 15 °C; sin embargo, no se encontraron cantidades detectables por el método enzimático. Los análisis moleculares basados en la secuenciación mediante Illumina® del gen 16S rRNA de la comunidad bacteriana, mostraron que los CMPL están dominados por el género *Acidithiobacillus,* seguido de *Acidiphilium.* La diversidad molecular fue baja en todos los consorcios (≤2). Asimismo, no se observó diferencias significativas en la composición de la comunidad entre los consorcios y locaciones. En conclusión, se obtuvieron consorcios que pueden ser aplicados en biolixiviación de cobre en la minería altoandina.

Financiamiento: Proyecto Concytec/ProCiencia – Banco Mundial, CP 8682-PE[Contrato N° 041-2018-FONDECYT-BM-IADT-AV].

ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE *ARTHROBACTER* SP. HELIOS EN CONDICIONES DE BAJA ACTIVIDAD DE AGUA

Hernández-Fernández, Gabriel[1]; Castillo, María[1]; Galán, Beatriz[1]; García, José Luis[1]

[1]Centro de Investigaciones Biológicas "Margarita Salas" CIB-CSIC, España.

**gabriel.hernandez@cib.csic.es*

Arthrobacter sp. Helios es una actinobacteria aislada de los paneles solares de la Universidad de Valencia (España). Esta bacteria destaca por su gran resistencia a la desecación (xerotolerancia), aparte de por soportar otras condiciones extremas como una alta concentración de sales o grandes dosis de radiación UV. Las bacterias presentan distintos mecanismos para sobrevivir a condiciones de sequía, entre los que encontramos la acumulación de iones potasio o de solutos compatibles, como pueden ser la trehalosa o la glicina betaína, la eliminación de especies reactivas de oxígeno o la producción de exopolisacáridos. En este trabajo, para conocer cuáles son los mecanismos de tolerancia a la desecación presentes en *Arthrobacter* sp. Helios, se realizó un estudio transcriptómico en presencia de concentraciones crecientes de polietilenglicol 6000. Este compuesto es capaz de retener una gran cantidad de agua haciéndola menos biodisponible y, por tanto, disminuyendo la actividad de agua y aumentando el estrés mátrico. En estas condiciones experimentales se han observado diferentes genes diferencialmente expresados que están involucrados en distintas funciones esenciales, como el transporte de iones y pequeñas moléculas orgánicas, la protección del ADN o la biosíntesis del flagelo. El estudio de esta cepa resulta de gran interés por sus posibles aplicaciones biotecnológicas como chasis xerotolerante y como posible fertilizante natural.

Producción de la bacteria depredadora *B. bacteriovorus* HD100 en biorreactor: del laboratorio a la industria

Salgado Briegas, Sergio[1,2] *y Prieto Jiménez, M. Auxiliadora*[1,2]

[1] Grupo Biotecnología de Polímeros, Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Madrid, España.

[2] Interdisciplinary Platform for Sustainable Plastics Towards a Circular Economy, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (SusPlast-CSIC), Madrid, España.

Email de contacto: sergio.salgado@cib.csic.es

La bacteria depredadora *Bdellovibrio bacteriovorus* ha despertado gran interés en los últimos años debido a su potencial uso como *antibiótico vivo*, ya que puede lisar otras bacterias Gram negativas incluyendo patógenos humanos. Su ciclo de vida está compuesto por una fase libre móvil o de ataque, en la que nada a gran velocidad hasta localizar a la presa, y una fase intraperiplásmica o de crecimiento, en la que consume los componentes celulares de la presa como paso previo a la lisis de ésta y liberación de la progenie. Además, en nuestro laboratorio se ha puesto de manifiesto la aplicación de *B. bacteriovorus* en el campo industrial para la purificación de productos intracelulares como los bioplásticos. Para llevar a cabo el procesado de bioproductos a escala industrial es necesario disponer de biomasa suficiente del depredador. En este trabajo, presentamos la optimización de la producción de *B. bacteriovorus* en biorreactores con un volumen de cultivo de 1 litro, empleando diferentes modos de operación y concentración de bacteria presa. La tasa de crecimiento y la biomasa final de *B. bacteriovorus* fueron los parámetros de optimización del escalado. Debido a la complejidad que dicha bacteria presenta para el seguimiento de su crecimiento, en este proceso se ha empleado una cepa modificada del depredador que es fluorescente y que permite la monitorización del número de células viables mediante citometría de flujo. Por último, con el fin de facilitar su conservación, transporte y comercialización, se ha puesto a punto un proceso de liofilización en diferentes condiciones.

Caracterización y análisis genómico de *Microbacterium* sp. B6-1A, actinobacteria procedente de un consorcio microbiano aislado de un panel solar

Sara Baldanta, Loreine Agulló, Beatriz Galán, José Luis García.*

Centro de Investigaciones Biológicas -Margarita Salas (CIB-MS), CSIC; Madrid, España

**Email del autor que presentará el trabajo: sara.baldanta@cib.csic.es*

Las cianobacterias y las microalgas están atrayendo cada vez más atención por sus aplicaciones biotecnológicas en múltiples sectores industriales. En muchos casos, estos microorganismos se utilizan en monocultivo, pero algunas estrategias más recientes se enfocan a su uso formando parte de consorcios microbianos sintéticos. En la naturaleza, las cianobacterias y microalgas se encuentran en consorcios con otros microorganismos, por lo que estos, una vez aislados, pueden servir para crear consorcios sintéticos. Con el objetivo de desarrollar consorcios a la carta, hemos aislado y caracterizado la bacteria *Microbacterium* sp. B6-1A, una actinobacteria procedente de un consorcio natural con la cianobacteria *Oculatella* sp. B6 de un panel solar de la Universidad de Valencia. De entre las diferentes bacterias aisladas de este consorcio se seleccionó B6-1A para su estudio en mayor profundidad debido a que produce un polisacárido muy abundante y de posible interés industrial. El análisis del genoma de B6-1A mostró la presencia de genes relacionados con la promoción del crecimiento de microalgas y plantas, como la asimilación de amonio, la solubilización de fosfato inorgánico y la síntesis de auxinas. Además, se identificaron genes de resistencia a distintos metales y producción de *biofilms*. Se ha comprobado que B6-1A es capaz de establecer consorcios con otras cianobacterias y microalgas. También se ha conseguido la transformación genética de este microorganismo mediante electroporación. Estos resultados permiten proponer *Microbacterium* sp. B6-1A como candidato para la formación de consorcios sintéticos con microalgas para posibles aplicaciones industriales.

Bioprospecting for polyurethane degrading microorganisms

Iglesias, Alba[1,*]; Martínez, Lorena[1]; Pascual, Javier[2]; Vilanova, Cristina[2]; Porcar, Manuel[1,2*]

[1]Institute for Integrative Systems Biology I2SysBio (University of Valencia – CSIC). Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch 9, 46980 Paterna, Spain
[2] Darwin Bioprospecting Excellence S.L. Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch 9, 46980 Paterna, Spain.

* Corresponding author: alba.iglesias@uv.es

The consumption of plastic materials in all kinds of daily use products results in the release of macro and micro plastic waste into the environment. Polyurethanes (PU) are polymers made of isocyanates and hydroxyl groups. Combining these two different families of compounds allows for the production of a wide range of products with different characteristics, including rigid and flexible foams, adhesives, coatings and sealants. The high usage and persistence of PU in the environment results in an increasing need for bioremediation techniques to treat this waste and, therefore, for suitable microorganisms and enzymes able to perform this activity efficiently. This work presents our current bioprospecting efforts towards the selection, isolation and characterisation of microorganisms from a wide variety of PU-based residues through a combined approach that merges conventional culturing techniques and multi-omics.

TRANSCRIPTOMA DE *Tuber borchii* BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE CULTIVO *IN VITRO*

Chuina Tomazeli, Emilia[1, 2]; Alfaro, Manuel[1]; Ramírez, Lucía[1]; Salman, Hesham[2], Pisabarro, Antonio G.[1]

[1] Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, España. [2] Bionanoplus, Orikain, Navarra, España

**Email del autor que presentará el trabajo: chuina.110066@e.unavarra.es*

Las trufas (*Tuber* spp.) son hongos ascomicetos que crecen asociados a las raíces de *Pinus*, *Quercus* (encinas, robles y coscojas) y *Corylus* (avellano). Son conocidas por sus peculiares aromas y sabores siendo especialmente apreciados en la gastronomía. Su cultivo es lento y la obtención de cuerpos fructíferos puede tardar años. Por este motivo hay un gran interés en optimizar el cultivo del micelio *in vitro* para aplicaciones biotecnológicas. Las especies de trufa más apreciadas son *T. melanosporum*, *T. magnatum*, *T. aestivum* y *T. borchii*.

Con objeto de estudiar los factores genéticos responsables de las características del crecimiento de *Tuber*, se aisló hasta cultivo axénico una cepa caracterizada morfológicamente como *T. borchii* a partir de un cuerpo fructífero recolectado en la comunidad de Castilla y León y se mantuvo en cultivo usando PDA- *Potato Dextrose Agar* a 22±1ºC en oscuridad. La clasificación taxonómica del aislado se realizó estudiando las regiones ITS (*internal transcribed spacer*) usando cebadores específicos para ascomicetos y hongos. La especie aislada se pudo clasificar como *T. borchii* cepa Spain.

A continuación se estudió el transcriptoma del micelio de esta cepa cultivada en fermentación sumergida en diferentes condiciones usando como referencias los genomas de *T. melanosporum* y *T.borchii* disponibles en la base de datos Mycocosm. 91**%** de los genes presentes en el genoma de referencia, se expresan en los diferentes medios**.** El análisis de las SNPs (*single-nucleotide polymorphisms*) verificó la novedad de esta cepa de *T. borchii.* Este estudio transcriptómico comparado nos permite visualizar los perfiles trasncriptómicos de las principales rutas metabólicas y de regulación de la expresión génica en esta especie como paso previo para el estudio de los factores involucrados en la asociación simbiótica y en la producción de metabolitos secundarios de interés.

Producción de nanopartículas semiconductoras en bacterias

Serrano-Pelejero, Cristina; Alonso-Fernandes, Elena; Díaz, Eduardo; Carmona, Manuel

Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas-CSIC, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid, España,

e-mail: cristina.serrano@cib.csic.es

Debido a la interacción constante con metales y metaloides, los microorganismos han desarrollado mecanismos de resistencia que les permiten crecer a concentraciones elevadas de estos compuestos tóxicos. Algunos de estos mecanismos producen nanopartículas semiconductoras (NS), formadas por elementos como el cadmio y el azufre (CdS)[1]. Estas nanopartículas tienen la capacidad de absorber luz y emitir fluorescencia en el espectro de luz visible que depende de su tamaño. Por otro lado, las NS son capaces de transferir electrones, siendo interesantes en la fabricación de placas solares o como fluoróforos inorgánicos [2,3].Recientemente, se ha planteado el uso de NS como agentes energizantes de biocatalizadores celulares, y se han desarrollado algunos sistemas híbridos microorganismo-nanopartícula en los que las SN convierten la energía solar en energía química (poder reductor) utilizada en la bioproducción de compuestos como el ácido siquímico o los bioplásticos [4,5,6]. No obstante, existe la necesidad de mejorar las condiciones de producción para aumentar la eficiencia del proceso. En este trabajo se ha estudiado y demostrado por primera vez la producción acoplada al crecimiento bacteriano de NS de CdS en dos bacterias de interés industrial y ambiental, *Cupriavidus necator* H16 (crecimiento aeróbico) y *Aromatoleum* sp. CIB (crecimiento anaeróbico), monitorizando a lo largo del crecimiento la aparición de fluorescencia y evaluando la influencia de factores como la concentración de cisteína (fuente de azufre) y la fuente de carbono en su producción.

Referencias:

1. Gallardo-Benavente et al. (2019) Front. Microbiol. 10:1866.
2. Órdenes-Aenishanslins et al. (2019) Front. Microbiol. 10:1587.
3. Choi and Lee (2020) Nat. Rev. Chem. 4, 638–656
4. Ma et al. (2021) Environ. Microbiol. 23(2):934-948
5. Sakimoto et al. (2016) Science. 1;351(6268):74-7.
6. Tong et al. (2021) Biotechnol. Adv. 53:107841

CO2SMOS European Project: anaerobic fermentation of greenhouse gases to obtain value-added products

Cano Sánchez, Irene[1]; Sanz Mata, David[1]; García López, José Luis[1]; Barriuso Maicas, Jorge[1]*

[1]Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Spain
**irene.cano@cib.csic.es*

The overall increase in the world population and countries industrialization has increased the greenhouse gases emissions, especially anthropogenic CO_2, which account for more than half of total emissions related to climate change and cause harsh environmental problems. European green industries generate significant amounts of CO_2 (506.7 Mt/y) from sources such as biogas or bioethanol fermentation processes. In order to promote the transition from today fossil-based economy to a future European bio-based industry (BBIs), CO_2 recycling conversion it is important and may be useful as feedstock. Thus, CO2SMOS project will develop an up-scale a platform of sustainable solutions (biological, electrocatalytic and thermocatalytic) that permit the use the CO_2 as feedstock and its conversion into different value-added bio-based products such as biodegradable plastics, engineered polymers, bio-polyesters and bio-polycarbonates.
CSIC contribution will include the systems metabolic engineering of acetogenic bacteria, which are anaerobic microorganisms that can convert carbon gases (such as CO and CO_2) into chemicals such as acetate, ethanol, lactate, 2,3-butanediol, etc. by the Wood Ljundahl pathway. One of the main objectives of the project is the fermentation of CO_2/H_2 and $CO_2/CO/H_2$ (syngas) mixtures into acetate and 2,3-butanediol using acetogens such as *Acetobacterium woodii* or *Clostridium* sp. The acetate produced will be used as a carbon source to replace sugar in the subsequent fermentative processes proposed to obtain the aimed value-added bio-based chemical and the bio-based intermediate 2,3-butanediol for the chemical industry.

CO2SMOS. Advanced chemicals production from biogenic CO2 emissions for circular bio-based industries. H2020-EU. Grant Agreement 101000790

ANÁLISIS LOS MECANISMOS DE XEROTOLERANCIA DE *EXIGUOBACTERIUM* SP. HELIOS MEDIANTE TRANSCRIPTÓMICA

Castillo López, María[1]; Galán Sicilia, Beatriz[2]; Navarro-Llorens, Juana María[3]; García López, José Luis[3]

[1]Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC), Madrid (España); [2] Facultad de Ciencias Químicas (UCM), Madrid (España).

**Email del autor que presentará el trabajo: maria.castillo@cib.csic.es*

Los mecanismos por los cuales los organismos se adaptan a ambientes extremos nos ofrecen pistas de cómo alcanzar la estabilidad macromolecular en condiciones de estrés. Especialmente, el conocimiento de los mecanismos de xerotolerancia (resistencia a la desecación) puede contribuir a preservar por largo tiempo cepas de interés industrial mediante procedimientos diferentes a la liofilización o a desarrollar bacterias capaces de actuar en procesos en condiciones de desecación extremas. Nuestro interés se centra en el estudio como modelo de *Exiguobacterium* sp. Helios, una bacteria xerotolerante no esporulada aislada de un panel solar en la Universidad de Valencia. Se ha comprobado que esta bacteria presenta una resistencia a la desecación superior a la de otras cepas de su mismo género, observándose cambios morfológicos significativos a lo largo de su curva de crecimiento que podrían explicar su xerotolerancia, En este trabajo, hemos realizado un análisis transcriptómico de esta cepa, comparando la expresión génica de las células en fase exponencial y estacionaria de crecimiento, y tras un proceso de desecación, para intentar relacionar los mecanismos responsables de su capacidad xerotolerante que pudiesen estar ligados a sus distintas fases de crecimiento. Algunos genes diferencialmente expresados en estas fases de crecimiento se han clonado *Escherichia coli* y se han realizado experimentos de resistencia a la desecación para confirmar su implicación en la xerotolerancia. Este análisis permitirá establecer *Exiguobacterium* sp. Helios como un chasis xerotolerante para realizar procesos de biorremediación o aplicaciones agrícolas en condiciones extremas de sequía.

BioSFerA European Project: BIOfuels production from Syngas FERmentation for Aviation and maritime use

*Sanz Mata, David**[1]; *Cano* Sánchez, *Irene*[1]; *Prieto, Alicia*[1]; *Martínez, Mª Jesús*[1]; *Barriuso Maicas, Jorge*[1]; *García* López, *José Luis*[1]

[1]*Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Spain*

**dsanz@cib.csic.es*

The main objective of BioSFerA project is to develop a cost-effective interdisciplinary technology to produce sustainable aviation and maritime fuels. Thus, biogenic residues and wastes will be gasified to produce syngas (composed of CO, CO_2 and H_2), that will be fermented to produce bio-based triacylglycerides (TAGs). The overall process, combining thermochemical, biological and thermocatalytic parts is based on the gasification of biomass and other biogenic waste in a Dual Fluidized Bed gasifier and the 2-stage fermentation of the produced syngas. Through this process the syngas is converted to acetate (1st stage) and then the acetate is converted to TAGs (2nd stage).

The tasks developed by CIB-CSIC in the BioSFera project are:

1. Metabolic engineering of acetogenic bacteria (*Clostridium* or *Moorella* species) for efficient syngas fermentation and production of acetate through the Wood–Ljungdahl pathway. The best acetogenic bacterial strains are identified based on its tolerance to syngas contaminants, the consumption of CO and CO_2, and the production of acetate under anaerobic conditions.
2. Metabolic engineering of the oleaginous yeast, *Yarrowia lipolytica*, for efficient acetate fermentation and overproduction TAGs (including medium and long chain TAGs, such as C14 and C16-18 TAGs) up to 80% of its own dry weight.

Finally, the produced TAGs are hydrotreated and isomerized after the necessary separation and purification steps. The end-products are next-generation jet- and bunker-like biofuels that will contribute to an environmentally-friendly circular economy.

BioSFerA. H2020-EU. Grant Agreement 884208

Estudio del transcriptoma del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* en la infección en baya de uva blanca madura durante la etapa postcosecha.

Fernández-Morales, Ana[1]; Alfaro, Manuel[1]; Carbú, María[2]; Ibáñez-Vea, María[1]; Ramirez, Lucía[1]; Pisabarro, Antonio G[1]; Cantoral, Jesús M.[2].

[1] Universidad Pública de Navarra, España, [2] Universidad de Cádiz, España.

**Email del autor que presentará el trabajo: ana.fernandez@unavarra.es*

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), durante la etapa postcosecha se desecha en el mundo, el 14% de los alimentos antes de llegar al consumidor. Esta pérdida se debe entre otros factores a infecciones por hongos y bacterias.

Botrytis cinerea es uno de los hongos fitopatógenos causante de infecciones durante la etapa postcosecha. En el huésped, desarrolla la enfermedad conocida como podredumbre gris y es uno de los patógenos más devastadores del sector agronómico, infectando a 1400 especies con relevancia ornamental y agrícola.

Para profundizar en el proceso de infección, se llevó a cabo el estudio del transcriptoma de *B. cinerea* durante su infección en uva blanca madura en la etapa postcosecha, mediante la técnica Illumina NovaSeq 6000. Los resultados mostraron que, a los siete días de infección, el 31% de los genes codificados en el genoma de *B. cinerea* B05.10 se encontraban diferencialmente expresados, entre los que se encontraban genes que codifican para las CAZymes, relacionados con la respuesta a la luz, implicados detoxificación y desarrollo del hongo, regulación de expresión de genes, metabolismo secundario, virulencia y patogenicidad. La comparativa de este estudio con otros llevados a cabo en distintos huéspedes y estados de maduración, ha permitido identificar genes que posiblemente sean necesarios en la interacción planta patógeno.

Este estudio permite profundizar tanto en la biología y etiología de la enfermedad como en la interacción molecular planta-patógeno, con la finalidad de encontrar nuevas estrategias de control respetuosas con el medio ambiente.

AISLAMIENTO DE CEPAS BACTERIANAS PROCEDENTES DE MICROCOSMOS DE BENTONITA SATURADA Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE SELENIO EN EL MARCO DEL BIORREMEDIO DE AMBIENTES CONTAMINADOS CON METALES PESADOS

Lazúen-López, Guillermo[1]; Martínez-Moreno, Marcos F.[1]; Povedano-Priego, Cristina[1]; Torres-Cánovas, Alfredo[1]; Morales-Hidalgo, Mar[1]; Jroundi, Fadwa[1]; Merroun, Mohamed L.[1]*

Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, España.

**glazuen@ugr.es*

Debido a actividades antropogénicas procedentes de la industria existen ambientes contaminados con selenio (Se) cómo las aguas residuales y la contaminación en suelos y sedimentos. Este elemento posee varios estados de oxidación entre los que encontramos: selenato [Se(VI)], selenito [Se(IV)], selenio elemental [Se(0)] y seleniuro [Se(-II)]. El Se(VI) y el Se(IV) son más solubles y móviles, lo que los convierte en más biodisponibles y por lo tanto más tóxicos, en cambio el Se(0) es menos móvil y menos soluble lo que reduce su toxicidad con respecto al selenato y el selenito. La presencia de estos oxoaniones en el medio ambiente supone un gran problema medioambiental.

Los microorganismos pueden influir en la especiación química del Se mediante procesos de oxidación y reducción, siendo la reducción enzimática hasta Se(0) uno de los mecanismos de gran importancia en la biorremediación de ambientes contaminados.

El objetivo de este trabajo fue aislar cepas bacterianas de microcosmos de bentonita saturada, tratados con Se(IV) e inoculados con un consorcio bacteriano. Además, se adicionaron donadores de electrones (acetato y lactato) más sulfato para la estimulación del crecimiento bacteriano.

Se aislaron diferentes cepas bacterianas de muestras tratadas con Se(IV), entre las que destacaron *Agrobacterium albertimagni* y dos especies del género *Pseudomonas*, lo que indicaría su potencial para reducir el Se(IV) a Se(0). La caracterización microscópica y espectroscópica determinó la presencia de nanopartículas intracelulares amorfas de Se(0) y nanoestructuras extracelulares de Se monoclínico y trigonal.

Los resultados de este trabajo permitieron identificar cepas bacterianas resistentes al Se(IV) como futuras candidatas para su aplicación en biorremediación.

Selección de una comunidad bacteriana biodegradadora de herbicidas basado en el MCPA que protegen a plántulas de col (*Brassica oleracea*) de dicho plaguicida.

*Delgado-Pallares, Noelia; Camacho, María; Barcia-Piedras, José-María**

IFAPA (Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Agroalimentaria y de la Producción Ecológica), España

**josemariabarciapiedras@gmail.com*

La producción de alimentos de origen agrícolas se está viendo comprometida, en muchos casos, debido a la mala praxis llevada a cabo en el uso de plaguicidas. En concreto, el exceso de herbicidas se considera un factor que compromete tanto la sanidad vegetal como el medioambiente. La plasticidad metabólica bacteriana permite la eliminación de los herbicidas, permitiendo una excelente opción para reducir los problemas medioambientales asociados a estos productos. En este trabajo se aislaron de un Phytobac® (sistema de degradación de efluentes agrícolas basado en el lecho biológico) bacterias capaces de degradar un herbicida cuya base era el MCPA. Mediante el cultivo del lecho en un medio mineral solo con MCPA (fuente de carbono) se seleccionó una población bacteriana específica que degrada dicho fitosanitario. Estas bacterias se aislaron e identificaron mediante la secuenciación del gen del ARNr 16S. Se obtuvieron ocho aislados bacterianos, que tras quitar redundancias por medio de una ERIC-PCR, fueron identificados como *Sphingobacterium pakistanense*, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* y *Pseudomonas guariconensis*. Finalmente, para comprobar la eficacia de la biodegradación, se realizó un ensayo aplicando el sobrenadante del cultivo del herbicida más las bacterias, el herbicida incubado sin bacterias, y el herbicida recién preparado, sobre plántulas de *Brassica oleracea*. Los resultados obtenidos mostraron que el crecimiento de las plantas fue mayor tras aplicar el herbicida biodegradado, que en ambos controles. En conclusión, se ha conseguido seleccionar un consorcio bacteriano capaz de metabolizar el MCPA.

PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS POR CIANOBACTERIAS ENDOLÍTICAS DEL DESIERTO DE ATACAMA

Casero, María Cristina[1a]; Pereira, Adrián [1a]; Cirés, Samuel [1]*

[1] Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid, España

[a] misma contribución

**Email del autor que presentará el trabajo: maria.casero@uam.es*

Las cianobacterias son conocidas por su capacidad de producir diversos compuestos de interés biotecnológico, aunque aquellas que habitan ambientes extremos no han sido exploradas en profundidad debido a las dificultades que presenta su aislamiento y cultivo. En el desierto de Atacama las cianobacterias constituyen el principal productor primario en las comunidades microbianas endolíticas, en el interior de las rocas. Como protección frente a la práctica ausencia de agua, una de las múltiples condiciones extremas que se dan en este desierto, estos organismos pueden producir exopolisacáridos (EPSs), cuyo potencial biotecnológico se asocia a propiedades anti-inflamatorias y criopreservantes, entre otras. Este trabajo tiene como objetivo seleccionar una cepa de cianobacteria endolítica aislada del desierto de Atacama con capacidad de producir EPSs e investigar la influencia de la salinidad la producción de estos compuestos a nivel cuantitativo y cualitativo mediante el uso de FTIR y microscopía de fluorescencia. Se seleccionó una cepa de *Chroococcidiopsis* sp. de entre 3 cepas de los géneros *Chroococcidiopsis* y *Gloeocapsopsis* en base a su crecimiento bajo distintas concentraciones de NaCl y la presencia del gen *exoD*, implicado en la biosíntesis de EPSs. La cepa mostró tolerancia a concentraciones moderadas de NaCl (10-20 g L^{-1}) y una concentración de EPSs en estas condiciones hasta 2 y 3 veces superior a la obtenida en cultivos sin NaCl. Los resultados apuntan a un efecto de la salinidad en la cantidad y composición de los EPSs producidos por cianobacterias de Atacama cuyas características inexploradas podrían ofrecer nuevas aplicaciones biotecnológicas.

AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS AMILOLÍTICAS DE LAS SALINAS DE CACHIYACU DE LUPUNA EN PERÚ

Chávez-Hidalgo Elizabeth L.
Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Laboratorio de Biología Molecular. Lima, Perú
**Email del autor que presentará el trabajo: echavezh@unmsm.edu.pe*

Las amilasas representan aproximadamente el 25% del mercado mundial de enzimas. La importancia de sus aplicaciones en las industrias alimentaria, papelera, textil y farmacéutica han generado la necesidad de buscar bacterias nativas productoras de amilasas con características especiales (1, 2). Con la finalidad de estudiar la diversidad de bacterias amilolíticas primero se recolectó las muestras de sal en las salinas de Cachiyacu de Lupuna ubicada en el departamento de San Martín, luego se realizó el aislamiento de las bacterias utilizando agar agua de sales al 7.5% y extracto de levadura al 0.5%. Para evaluar la producción de amilasas se utilizó medios de cultivo suplementados con almidón al 1% (3, 4). A los aislados que hidrolizaron el almidón se les realizó las pruebas fisiológicas, bioquímicas y nutricionales. Además, se evaluó la producción de lipasas, proteasas y celulasas. Se obtuvieron 49 bacterias de las cuales 16 hidrolizaron el almidón al 1%. De estos 16 aislados el 75% (12/16) son Gram positivos, el 62.5% (10/16) crecen en un rango de NaCl entre 0.5 y 20%, el 50% (8/16) crecen a temperaturas entre 4 y 45°C y el 25% (4/16) crecen en un rango de pH entre 6 y 9. En cuanto a la producción de otras hidrolasas el 37.5% (6/16) de los aislados hidrolizaron tributirina, el 25% (4/16) skim milk y el 12.5% (2/16) carboximetilcelulosa. Existe un predominio de bacterias aeróbicas, halotolerantes, con crecimiento en amplio rango de pH y temperatura, bacilos Gram positivos y también productoras de lipasas, proteasas y celulasas.

Agradecimientos
Este estudio fue financiado parcialmente por el proyecto CON – CON N°150403011. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Referencias

1. De Souza PM, de Oliveira Magalhães P. Application of microbial α-amylase in industry - A review. Braz J Microbiol. 2010; 41(4): 850-61.
2. Elyasi Far B, Ahmadi Y, Yari Khosroshahi A, Dilmaghani A. Microbial Alpha-Amylase Production: Progress, Challenges and Perspectives. Adv Pharm Bull. 2020; 10(3): 350-358.
3. Amoozegar MA, Malekzadeh F, Malik KA. Production of amylase by newly isolated moderate halophile, Halobacillus sp.strain MA-2. Journal of Microbiological Methods. 2003; 52(3): 353-359.
4. Babavalian H, Amoozegar MA, Zahraei S, Rohban R, Shakeri F, Moghaddam MM. Comparison of bacterial biodiversity and enzyme production in three hypersaline lakes; urmia, howz-soltan and aran-bidgol. Indian J Microbiol. 2014; 54(4): 444-9.

BIOPROSPECCIÓN DE COMPUESTOS DE PROTECCIÓN FRENTE A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN CIANOBACTERIAS DEL DESIERTO HIPERÁRIDO DEL ATACAMA

Herrero, María Ángeles [1]; De la Roche, Juan Pablo [2];

Quesada, Antonio[1]; Cirés, Samuel [1,]*

[1] Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

[2] Microalgae Solutions S.L., Madrid, España

**Email del autor que presentará el trabajo: samuel.cires@uam.es*

Las cianobacterias son conocidas por su capacidad de producir diversos metabolitos secundarios, algunos de ellos con interés biotecnológico. En el desierto de Atacama, uno de los lugares con mayor radiación solar registrada en nuestro planeta, existen comunidades microbianas que habitan el interior de las rocas (endolíticas) sostenidas por cianobacterias capaces de producir escitonemina, un pigmento capaz de absorber la radiación ultravioleta como mecanismo de defensa frente a la elevada radiación solar. Este trabajo tiene como objetivo seleccionar una cepa de cianobacteria aislada del desierto de Atacama con capacidad de producir escitonemina e investigar la influencia de la salinidad en el crecimiento y la producción de este compuesto. La selección se realizó entre 10 cepas de cianobacterias endolíticas de los géneros *Chroococcidiopsis*, *Gloeocapsa* y *Gloeocapsopsis* en base a la presencia del gen *scyC*, implicado en la ruta biosintética de la escitonemina, y al estudio del crecimiento. Posteriormente, la cepa seleccionada (*Chroococcidiopsis* sp.) fue expuesta a distintas concentraciones de NaCl. Esta cepa, a pesar de no proceder de un medio salino en su ambiente natural, mostró una notable tolerancia a concentraciones elevadas de NaCl (10-20 g L^{-1}). Además, la concentración de escitonemina a 20 g·L^{-1} de NaCl fue más de 50 veces superior a la obtenida en cultivos sin salinidad. En conjunto, los resultados sugieren que las cianobacterias del desierto de Atacama podrían ser candidatas apropiadas para su potencial cultivo a gran escala con fines biotecnológicos, en concreto, la obtención de escitonemina, para su uso en biomedicina e industria cosmética.

LEVADURAS COMO BIOFERTILIZANTES Y BIOPESTICIDAS PARA UNA AGRICULTURA SOSTENIBLE

Hernández-Fernández, María; Cordero-Bueso, Gustavo; Izquierdo-Bueno, Inmaculada; Ruiz-Muñoz, Marina; Cantoral-Fernández, Jesús Manuel*

Universidad de Cádiz, Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Laboratorio Microbiología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Instituto Universitario de Investigación Vitivinícola y Agroalimentaria (IVAGRO), 11510, Puerto Real, Cádiz, Spain.

**Email: maria.hernandez@uca.es*

La agricultura convencional requiere, a menudo, el uso de los fertilizantes químicos. Si bien estos han ayudado a impulsar la producción alimentaria, también han dado lugar a amenazas ambientales. El impacto negativo generado ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas ecológicas. Los métodos sostenibles como la aplicación de biofertilizantes y/o biofungicidas se presentan como estrategias prometedoras. Se sabe que algunos microorganismos pueden tanto mejorar el desarrollo de las plantas como ejercer biocontrol contra hongos fitopatógenos. Sin embargo, en este campo las levaduras han sido escasamente investigadas. El objetivo de este estudio fue la caracterización de una colección de 44 cepas de levaduras aisladas de la vid silvestre. Se analizaron propiedades fitobeneficiosas como la solubilización de nutrientes o la síntesis de biomoléculas activas. Como sistema de biocontrol, se estudió la producción de enzimas que degradan la pared celular y la producción de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) antifúngicos. La identificación de VOCs contra *Botrytis cinerea* se llevó a cabo mediante microextracción en fase sólida (SPME) seguida de un método de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS). Se identificaron cepas que revelaron múltiples características promotoras del crecimiento y capacidad antifúngica. Entre ellas, destaca una cepa de *Pichia kudriavzevii.* La aplicación de levaduras mediante sus distintos mecanismos de acción directos e indirectos podría ser una vía para alcanzar algunos de los Objetivos de Desarrollo del Milenio de las Naciones Unidas.

Este trabajo ha sido financiado por los Proyectos RETOS RTI2018-097356-B-C22 y FEDER-UCA 18-106947.

UNVEILING NOVEL BACTERIAL c-di-GMP ACTIVATED BIOPOLYMERS

Pérez-Mendoza, Daniel[1]; Döring, Manuel[2]; Rühmann, Broder [2]; Sieber, Volker [2]; Sanjuán, Juan [1] and Schmid, Jochen [2, 3]

[1]Estación Experimental del Zaidín, EEZ-CSIC, Spain.

[2]Chair of Chemistry of Biogenic Resources, Technical University of Munich, Germany.

[3]Present address: Institute of Molecular Microbiology and Biotechnology, University of Münster, Germany

**Daniel Pérez Mendoza: dpmendoza@eez.csic.es*

Bacterial exopolysaccharides (EPS) are secreted biopolymers with a critical role in different bacterial functions (e.g. biofilm formation). In addition to their biological role, there is increasing interest for EPS in a wide variety of industrial sectors. This renders microbial exopolysaccharides desirable candidates in the urgent required replacement of oil-based commodity substances. EPS are synthesized and exported by highly specific biosynthetic machineries, usually repressed or exhibiting inactive conformations, which are turned on in particular and often unknown environmental or physiological conditions. The production of many EPS are known to be activated by the universal bacterial second messenger c-di-GMP (1). We believe that the natural diversity of bacterial biopolymers remains largely unexplored. Artificially elevating c-di-GMP contents represents an attractive approach to unveil natural EPS by deregulating its biosynthesis and promoting its massive production under laboratory conditions, allowing the discovery of novel EPS (2). Thus, we designed an automated high throughput screening (HTS) approach, for the discovery of new c-di-GMP activated EPS from large bacterial strain collections. This HTS is based on the combination of a genetic approach for artificially rising intracellular c-di-GMP with a reliable and efficient carbohydrate fingerprinting that allow the detection of new EPS chemical structures and composition (3). Using this research pipeline, a total of 315 environmental bacterial strains from different phylogenetic taxa have been evaluated. A quantitative (amount) and qualitative (sugar composition) analysis of c-di-GMP activated EPS was obtained. Nearly 10% of them have been selected for further characterization as promising candidates to produce novel EPS.

(1) Pérez-Mendoza, D. & J. Sanjuán (2016) Curr. Opin. Microbiol. 30, 36-43.

(2) Pérez-Mendoza, D., M.A. Rodríguez-Carvajal, L. Romero-Jiménez, G.A. Farias, J. Lloret, M.T. Gallegos & J. Sanjuán (2015). *Proc Natl Acad Sci USA*: 112: E757-765.

(3) Schmid, J., B. Rühmann, V. Sieber, L. Romero-Jiménez, J. Sanjuán & D. Pérez-Mendoza (2018). Methods in Molecular Biology. 1734, 263-275.

Evaluación de la expresión de genes implicados en la degradación de colorantes azo bajo condiciones óptimas de NaCl en *Shewanella algae* 2NE11

Taira, Mario[1]; Reyes-Moreno, César[1]; Mormontoy, Carlo[1]; Lizárraga, Wendy[1]; Calla, Hedersson [1]; Ramirez, Pablo [1]*

[1]Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú

**mario.taira@unmsm.edu.pe*

Shewanella algae 2NE11 es una especie halotolerante que tiene la capacidad de degradar colorantes azoicos en un amplio rango de concentración de cloruro de sodio y, por tanto, es una bacteria promisoria para ser utilizada en procesos de biorremediación de efluentes textiles. Hasta la fecha no se ha reportado cuál es el efecto que ejerce el cloruro de sodio sobre la expresión de los genes involucrados en la degradación de los colorantes a una concentración óptima para la decoloración. Por medio de una cinética de decoloración de Amaranto con *S. algae* 2NE11, se encontró que 0.2 M de cloruro de sodio fue la concentración óptima, tanto para la decoloración como para el crecimiento, y bajo esa condición se llevó a cabo la evaluación de la expresión genética por medio de la metodología RT-qPCR. Los genes de las azoreductasas *azoR*, *azoR1* y del citocromo *cymA* permanecieron constantes, mientras que los genes de los citocromos de la membrana externa *omcA*, *mtrB* y *mtrC* se sobreexpresaron con valores de *fold change* de 2.375, 2.257 y 2.033 respectivamente. Esto se reflejaría en el incremento de potenciales donadores de electrones aprovechables en la membrana externa de *Shewanella algae* 2NE11 como puntos de reducción del Amaranto permitiendo así un mayor porcentaje de decoloración en un menor tiempo.

Financiado por Prociencia con Convenio N° 156-2017-FONDECYT.

CMIBM

VALENCIA 2022

PÓSTERES BIOTECNOLOGÍA ENZIMÁTICA

DESARROLLO DE UN ENSAYO ACOPLADO CETORREDUCTASA-DIAFORASA PARA LA DETECCIÓN DE LA HIDRÓLISIS DE TEREFTALATO DE POLIETILENO

Gimeno Pérez, María[1]; Ortega Plaza, Carmen[1]; Maté Mate, Diana[1], Hidalgo Huertas, Aurelio[1]

[1]Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, España.

**Email del autor que presentará el trabajo: mgimeno@cbm.csic.es*

La gran cantidad de plástico producido para cubrir las necesidades de la población actual hace que se acumulen grandes cantidades en todos los ecosistemas del planeta, habiéndose convertido en uno de los grandes problemas medioambientales del siglo XXI[1]. El plástico de tipo poliéster más utilizado es el tereftalato de polietileno (PET), obtenido a partir de productos derivados del petróleo. En las últimas dos décadas, hemos sido testigos del descubrimiento de varias enzimas degradadoras de PET de organismos ya conocidos o estudios metagenómicos[2]. Sin embargo, pocos son los protocolos de cribado de alta o media capacidad para la detección de actividad hidrolítica sobre PET. Por ello, en este trabajo hemos desarrollado un método de cribado en placa multipocillo basado en la actividad acoplada de una cetorreductasa (KRED) y diaforasa que liberan el producto fluorescente resorufina en presencia de productos de degradación de PET. Para ello, se realizó el cribado de un panel comercial de 384 KREDs, de las cuales 6 fueron capaces de reconocer etilenglicol, uno de los monómeros del PET, como sustrato. La KRED más eficiente, KRED61, fue usada en combinación con la diaforasa de *Clostridium kluyveri* para monitorizar la reacción de degradación de PET mediada por una variante termoestable de la poliesterasa tipo cutinasa de *Saccharomonospora viridis* AHK190[3]. Los productos de degradación de PET fueron medidos por el ensayo aquí descrito y validados mediante cromatografía líquida de alta resolución, mostrando una excelente correlación.

Referencias:

[1]Chae Y, An Y-J (2018) *Environ Pollut 240*: 387-395. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.05.008

[2]Taniguchi I *et al*. (2019) *ACS Catal 9:* 4089-4105. DOI: 10.1021/acscatal.8b05171

[3]Kawai F *et al*. (2014) *Appl Microbiol Biotechnol 98:* 10053-10064. DOI: 10.1007/s00253-014-5860-y

Agradecimientos:
Trabajo financiado en el marco del convenio entre la Comunidad de Madrid y la Universidad Autónoma de Madrid para Proyectos de I+D para jóvenes Doctores de la Universidad Autónoma de Madrid (Ref. SI1/PJI/2019-00394).

METAGENÓMICA FUNCIONAL EN MICROGOTAS: BÚSQUEDA DE CETORREDUCTASAS EN LA DIVERSIDAD NATURAL MEDIANTE MÉTODOS DE CRIBADO DE ALTA CAPACIDAD

Blas Muñoz, Laura[1]; Bravo, Jorge [2]; Hidalgo, Aurelio [3]*
[1]Centro de Biología Molecular Severo Ochoa
**laura.blas@uam.es*

Las cetorreductasas (KREDs) son enzimas dependientes de cofactores de nicotinamida que convierten las cetonas a alcoholes secundarios quirales y a la inversa. La reducción asimétrica de cetonas proquirales mediante reacciones enzimáticas es útil para sintetizar productos enantioméricamente puros en la fabricación de fármacos y otros productos de química fina. En este estudio hemos cribado una metagenoteca de suelo utilizando *E. coli* como hospedador recombinante para buscar enzimas con actividad cetorreductasa utilizando microfluídica "en gota".

Los ensayos en dispositivos microfluídicos o "chips" reproducen todas o la mayoría de las operaciones de un procedimiento tradicional de cribado funcional en una plataforma integrada, automatizada y pequeña. En este caso, generamos una genoteca de 1.5 millones de individuos en un vector pBluescript SK con un tamaño medio de 3 kbp. A continuación, se encapsularon clones individuales de la metagenoteca junto con un sustrato fluorogénico en microgotas de "agua en aceite" (w/o) de 20 micras de diámetro que actúan como "tubos de ensayo". Tras incubar 5 *días a* 30 ℃, se reencapsuló la emulsión w/o para formar una emulsi*ón* de microgotas de "agua en aceite en agua" (w/o/w) y se cribó mediante FACS, seleccionando el 1% más fluorescente de la población. Los individuos seleccionados fueron sometidos a una segunda ronda de selección, secuenciados y analizados, clonando los ORF candidatos para su expresión y caracterización.

Agradecimientos: Este proyecto está financiado por 'RAPID DISCOVERY AND DEVELOPMENT OF ENZYMES FOR NOVEL AND GREENER CONSUMER PRODUCTS - RADICAL Z' ref. 'GA 101000560', dirigido por el investigador HIDALGO HUERTAS, AURELIO.

PRIMERA LIGNINA PEROXIDASA IDENTIFICADA EN AGARICALES: DESDE LA IDENTIFICACIÓN DEL GEN EN EL GENOMA DE *Agrocybe pediades* HASTA LA DEMOSTRACIÓN DE SU CAPACIDAD PARA OXIDAR Y TRANSFORMAR LA LIGNINA

Sánchez-Ruiz, María Isabel[1]; Ayuso-Fernández, Iván[1]; Rencoret, Jorge[2]; González-Ramírez, Andrés Manuel[1]; Linde, Dolores[1]; Davó-Siguero, Irene[1]; Romero, Antonio[1]; Gutiérrez, Ana[2]; Martínez, Angel T.[1]; Ruiz-Dueñas, Francisco Javier[1]*

[1]Centro de Investigaciones Biológicas "Margarita Salas", CSIC, Ramiro de Maeztu 9, E-28040, Madrid, España; [2]Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, E-41012 Sevilla, España

**fjruiz@cib.csic.es*

Las enzimas que degradan la lignina son de interés biotecnológico para las biorrefinerías de la lignocelulosa [1]. En concreto, las lignina peroxidasas (LiPs) han recibido una atención especial por su capacidad para oxidar directamente este polímero aromático [2]. Hasta ahora, estas enzimas solo se habían identificado en basidiomicetos del orden Polyporales, donde se incluyen la mayoría de las especies degradadoras de madera. Tras la secuenciación del genoma de *Agrocybe pediades*, caracterizado por crecer sobre hojarasca, identificamos la primera enzima ligninolítica de esta familia (ApeLiP) en un hongo del orden Agaricales [3]. La secuencia de ApeLiP se clonó, expresó en cuerpos de inclusión en *Eschericchia coli* y replegó *in vitro*, obteniéndose así la enzima activa. Una vez purificada demostramos su capacidad para oxidar compuestos modelo de lignina fenólicos y no fenólicos. Esta actividad se asoció a un triptófano catalítico (Trp166) expuesto al solvente (identificado en la estructura de ApeLiP obtenida mediante difracción de rayos-X) tras verificar la pérdida de la capacidad oxidativa en la variante Trp166Ala. Diferentes estudios, incluyendo la determinación de su potencial redox y estabilidad a pH, determinaron que las propiedades de ApeLiP son compatibles con su capacidad para oxidar y modificar estructuralmente la lignina, tal como se demostró utilizando lignina real mediante espectroscopía de flujo detenido y 2D-NMR. Este trabajo demuestra que no solo los Polyporales degradadores de madera, sino también los hongos Agaricales formadores de setas, tienen enzimas de enorme relevancia tanto para el reciclado del carbono en la naturaleza como para la modificación biotecnológica de la lignina.

1. Martínez AT, Camarero S, Ruiz-Dueñas FJ, Martínez MJ. In: Beckham GT, editor. Lignin valorization: Emerging approaches. Cambridge: RSC; 2018. pp. 199-225.
2. Sáez-Jiménez V, Baratto MC, Pogni R, Rencoret J, Gutiérrez A, Santos JI, et al. J Biol Chem. 2015;290: 23201-23213.
3. Ruiz-Dueñas FJ, Barrasa JM, Sánchez-García M, Camarero S, Miyauchi S, Serrano A, et al. Mol Biol Evol. 2021;38: 1428-1446.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto GENOBIOREF (BIO2017-86559-R) del Ministerio de Ciencia e Innovación (cofinanciado con fondos FEDER), por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (PIE -202120E019), y por la plataforma SusPlast.

Utilización y síntesis de oligosacáridos fucosilados por α-L-fucosidasas aisladas del metagenoma de la microbiota fecal de lactantes

Moya-Gonzálvez, Eva María[1]; Coll-Marqués, José María[1]; Rubio-del-Campo, Antonio[1]; Palomino-Schätzlein, Martina[2]; Monedero, Vicente[1]; Rodríguez-Díaz, Jesús[3] y Yebra, María Jesús[1]

[1]Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos, Departamento de Biotecnología de Alimentos, IATA-CSIC, Valencia, España, [2]Servicio de RMN, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, España, [3]Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España.

eva.moya@iata.csic.es

La L-fucosa es un monosacárido que se encuentra comúnmente en el extremo no reductor de los oligosacáridos de la leche humana (HMOs), antígenos sanguíneos y grupos glicosídicos de los glicoconjugados en las superficies celulares. Los fucosil-oligosacáridos están implicados en procesos biológicos relevantes tales como colonización de la microbiota gastrointestinal, adhesión de patógenos intestinales e inmunomodulación.

Se han identificado y caracterizado α-L-fucosidasas a través de la secuenciación del metagenoma de muestras fecales de lactantes. Se seleccionaron 10 α-L-fucosidasas GH29 y se expresaron en *Escherichia coli*. Las enzimas correspondientes se purificaron y se determinó su especificidad de substrato. Las a-L-fucosidasas Fuc30 y Fuc5372 hidrolizan residuos de L-fucosa unidos por enlaces α-1,6 y α-1,2, respectivamente. Fuc18, Fuc19A, Fuc35B, Fuc39 y Fuc1584 muestran especificidad por las L-fucosas con enlaces α-1,3/4 y Fuc35A y Fuc193 por enlaces α-1,3/4/6. Fuc2358 presenta una amplia especificidad, liberando residuos de L-fucosa de todos los glicanos ensayados. En base a su capacidad de hidrolizar HMOs y antígenos sanguíneos tipo-1, las α-L-fucosidasas Fuc19A, Fuc35A, Fuc35B, Fuc1584, Fuc2358 y Fuc5372 se utilizaron en reacciones de transfucosilación con el *p*-nitrofenil-α-L-fucopiranosido como substrato donador y lactosa o lacto-*N*-biosa como substratos aceptores. Utilizando lactosa como aceptor se obtuvieron fucosil-trisacáridos en las reacciones de transfucosilación con Fuc19A, Fuc35A, Fuc35B y Fuc5372, y un trisacárido y un tetrasacárido con Fuc2358. El tiempo de retención por HPLC del trisacárido con este último enzima se corresponde con 2'-fucosillactosa. Utilizando lacto-*N*-biosa como aceptor se obtuvo un trisacárido con Fuc2358. Se mostrarán las estructuras confirmadas por RMN de algunos de los fucosil-oligosacáridos sintetizados.

Optimización de la hidrólisis enzimática de ácido poliláctico mediante RSM

Murguiondo, Carlos; Muñoz, Irene; Martínez, María Jesús; y Prieto, Alicia*

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC), España.

**carlos.murguiondo@cib.csic.es*

El ácido poliláctico (PLA) es un poliéster alifático derivado del ácido láctico (LA) con potencial para reemplazar ciertos plásticos de origen petroquímico. Su biocompatibilidad y termoplasticidad lo hacen apropiado para un gran número de aplicaciones en la industria textil, la del embalaje, la medicina, la impresión 3D y la fabricación de acolchados agrícolas. Su síntesis puede catalizarse mediante la policondensación directa del LA o la polimerización por apertura del anillo de la lactida, el dímero cíclico del LA. Estos compuestos se pueden obtener partiendo de fuentes renovables mediante la fermentación de monosacáridos, con lo cual, su uso tiene como resultado un PLA biobasado. Sin embargo, dependiendo del grado de polimerización y la isoforma (D; L o D,L) del PLA, su cristalinidad y biodegradabilidad varían mucho. En general, los microorganismos degradadores del PLA están poco extendidos y la degradación en suelos es lenta, por lo que es imprescindible desarrollar procesos sostenibles de despolimerización que permitan el reciclado y la regeneración del poliéster y limiten el impacto medioambiental que puede causar su deposición.

En nuestro laboratorio ensayamos la hidrólisis del PLA catalizada por lipasas comerciales y hemos descubierto varias, entre ellas Eversa y CRL, con actividad frente al polímero. Sin embargo, sigue siendo necesario mejorar los rendimientos y velocidad de las reacciones, así como ser capaces de degradar PLAs de mayor masa molecular, con el fin de desarrollar procesos aplicables a escala industrial. En este trabajo presentaremos la optimización de las condiciones de reacción mediante metodologías de superficie de respuesta (RSM).

APROXIMACIONES PARA LA MEJORA DE LA EXPRESIÓN HETERÓLOGA DE LACASAS FÚNGICAS EN LEVADURAS

Molpeceres, Gonzalo[1]; Aza, Pablo [2]; Camarero, Susana [3]*

[1]Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas - CSIC, España

** gonzalo.molpeceres@cib.csic.es*

Las lacasas secretadas por hongos saprófitos basidiomicetos son catalizadores muy versátiles capaces de oxidar una amplia gama de compuestos aromáticos. Desde un punto de vista medioambiental son enzimas interesantes a nivel industrial, ya que utilizan oxígeno como único requerimiento en la reacción y sólo generan agua como subproducto final. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* ha sido el organismo utilizado de forma preferente para evolucionar y adaptar estas enzimas a condiciones industriales. Sin embargo, la expresión heteróloga de las lacasas no es una tarea sencilla y normalmente los niveles de expresión obtenidos son bajos. Tradicionalmente, este hándicap se ha tratado de superar reemplazando el péptido señal nativo de la enzima por otros procedentes de levadura, destacando el pre-prolíder de la feromona factor-α de *S. cerevisae* ("pre-prolíder α"). Después de años de experiencia en la expresión de enzimas fúngicas, nuestro grupo ha desarrollado distintas estrategias para mejorar su secreción. Hemos demostrado a lo largo de distintas campañas de evolución dirigida que mutaciones en el pre-prolíder α mejora la secreción de lacasas y otras enzimas fúngicas de forma general. Además, el uso de mutagénesis saturada en regiones específicas del pre-prolíder α fusionado a una enzima concreta mejora significativamente su secreción. Otra aproximación es la introducción en la secuencia de la enzima de amino ácidos conservados a través de un diseño por consenso. Por último, nuestros resultados muestran la importancia de la N-glicosilación en la secreción de estas enzimas.

EXPRESIÓN HETERÓLOGA, INGENIERÍA Y CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA LACASA DE PLEUROTUS ERYNGII QUE FORMA UN HETERODÍMERO

Aza, Pablo[1]; Vind, Jesper [2]; Camarero, Susana[1]*

[1]Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, España, [2]Novozymes A/S, Kongens Lyngby, Dinamarca

**pabloaza@cib.csic.es*

Las lacasas pertenecen a la familia de las Oxidasas Multicobre (MCOs), enzimas versátiles que oxidan una amplia gama de compuestos aromáticos empleando como único requisito el oxígeno. El reciente análisis filogenético de 52 genomas fúngicos, pertenecientes a la clase Agaricomycetes, nos ha permitido establecer una nueva clasificación de MCOs, que se agrupan en diferentes *clusters* y que comparten ciertos motivos conservados en su secuencia y estructura teórica. Concretamente, hemos determinado nuevas enzimas de tipo lacasa, aparte de las lacasas sensu stricto, unas de las cuales son las denominadas NLAC [1].

En este trabajo, el gen de una NLAC del hongo *Pleurotus eryngii* ha sido sintetizado de novo y expresado en *Saccharomyces cerevisiae* mediante diseño por consenso de la enzima y fusión con un péptido señal optimizado previamente [2]. Del mismo modo, junto a la NLAC se ha sintetizado y co-expresado el gen que codifica una subunidad pequeña, con la que se ha descrito que la NLAC podría formar un heterodímero. La presencia de esta subunidad parece estar relacionada con un aumento en la termoestabilidad de la enzima, tal como se ha demostrado en este trabajo en ensayos de co-expresión en *S. cerevisiae* y también en *Aspergillus oryzae*.

[1] Ruiz-Dueñas et al. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38 (4): 1428□1446,20.

[2] Aza et al. Cell. Mol. Life Sci., 2021, 78(7): 3691-3707.

COMPARACIÓN BIOQUÍMICA DE LAS LACASAS 1 Y 2 DE *COMPANILACTOBACILLUS BOBALIUS*

Monroy, Isaac[1]; Olmeda, Isidoro[1]; López-Pérez, Inés[1]; Pardo, Isabel[1]; Ferrer, Sergi[1]*

[1]ENOLAB, Universitat de València, España

**isaac.monroy@uv.es*

Las lacasas de bacterias ácido-lácticas (BAL) son multicobre oxidasas de gran interés debido a su potencial uso para degradar compuestos tóxicos, principalmente aminas biógenas (AB) (Callejón et al., 2016).

El objetivo de este trabajo fue el clonaje y la caracterización filogenética y bioquímica de dos lacasas de la cepa *Companilactobacillus bobalius*_(syn. *Lactobacillus bobalius*) 4382 (CECT 7310^T): las lacasas CB4382-1 y CB4382-2.

Los genes codificantes de las lacasas Cb4382-1 y Cb4382-2 se clonaron en *E. coli* DH5α con el plásmido pET28a y se expresaron en la cepa *E. coli* BL21 (Olmeda et al. 2021). Además, en la cepa BL21 se introdujo el plásmido pGro7 (5467 pb), que codifica para dos chaperonas que ayudan al correcto plegamiento de la proteína.

Las lacasas Cb4382-1 y Cb4382-2 presentaron una masa molecular parecida, de 56.54 kDa y 57 kDa, respectivamente. Los pH óptimos de actuación sobre el sustrato 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico]-sal de diamonio (ABTS) fueron de pH=2.5 y pH=3, mientras que sus temperaturas óptimas fueron de 45°C y 28°C, respectivamente. Ambas lacasas mostraron una cinética sigmoidal respecto al ABTS y sus constantes cinéticas fueron, para la lacasa Cb4382-1 una K_{half}=0.144 mM y una actividad específica de 0.61 U/mg y para la lacasa Cb4382-2 una K_{half}=0.283 mM y una actividad específica de 2.55 U/mg. Respecto a su análisis filogénetico, las dos lacasas se hallan en grupos muy alejados, evidenciando que la misma cepa de *C. bobalius* produce dos lacasas muy diferentes que pueden tener potencialidades distintas para degradar AB.

Referencias:

Olmeda et al. 2021. Microbial Biotechnology, 14: 1026-1043.

Callejón et al. 2016. Applied Microbiology and Biotechnology, 100: 3113-3124.

Agradecimientos: AGL2015-71227-R, RTI2018-095658-B-C31 y MSCA GA 101022293

COMPARACIÓN FILOGENÉTICA Y BIOQUÍMICA DE LAS LACASAS CB4382-1 Y CB4382-2 DE *COMPANILACTOBACILLUS BOBALIUS*

Monroy, Isaac[1]; Olmeda, Isidoro[1]; López-Pérez, Inés[1]; Pardo, Isabel[1]; Ferrer, Sergi[1]*

[1]ENOLAB, Universitat de València, España

**isaac.monroy@uv.es*

Las lacasas de bacterias ácido-lácticas (BAL) son multicobre oxidasas de gran interés debido a su potencial uso para degradar compuestos tóxicos, principalmente aminas biógenas (AB) (Callejón et al., 2016).

El objetivo de este trabajo fue el clonaje y la caracterización filogenética y bioquímica de dos lacasas de la cepa *Companilactobacillus bobalius*_(syn. *Lactobacillus bobalius*) 4382 (CECT 7310^T): las lacasas CB4382-1 y CB4382-2.

Los genes codificantes de las lacasas Cb4382-1 y Cb4382-2 se clonaron en *E. coli* DH5α con el plásmido pET28a y se expresaron en la cepa *E. coli* BL21 (Olmeda et al. 2021). Además, en la cepa BL21 se introdujo el plásmido pGro7 (5467 pb), que codifica para dos chaperonas que ayudan al correcto plegamiento de la proteína.

Las lacasas Cb4382-1 y Cb4382-2 presentaron una masa molecular parecida, de 56.54 kDa y 57 kDa, respectivamente. Los pH óptimos de actuación sobre el sustrato 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico]-sal de diamonio (ABTS) fueron de pH=2.5 y pH=3, mientras que sus temperaturas óptimas fueron de 45°C y 28°C, respectivamente. Ambas lacasas mostraron una cinética sigmoidal respecto al ABTS y sus constantes cinéticas fueron, para la lacasa Cb4382-1 una K_{half}=0.144 mM y una actividad específica de 0.61 U/mg y para la lacasa Cb4382-2 una K_{half}=0.283 mM y una actividad específica de 2.55 U/mg. Respecto a su análisis filogénetico, las dos lacasas se hallan en grupos muy alejados, evidenciando que la misma cepa de *C. bobalius* produce dos lacasas muy diferentes que pueden tener potencialidades distintas para degradar AB.

Referencias:

Olmeda et al. 2021. Microbial Biotechnology, 14: 1026-1043.

Callejón et al. 2016. Applied Microbiology and Biotechnology, 100: 3113-3124.

Agradecimientos: AGL2015-71227-R, RTI2018-095658-B-C31 y MSCA GA 101022293

FORMULACIÓN DE HIDROGELES A PARTIR DE LIGNINAS RESIDUALES FUNCIONALIZADAS CON LA LACASA SilA DE *Streptomyces ipomoeae* Y QUITOSANO. EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD BIO-ADSORBENTE Y ANTIMICROBIANA

Domínguez, Gabriela[1]; Arias, María Enriqueta[1].; Molina-Guijarro, José M.; Eugenio, María Eugenia [2]; Ibarra, David[2]; Hernández, Manuel[1]

[1]1Departamento de Biomedicina y Biotecnología. Universidad de Alcalá, Ctra. Madrid-Barcelona, Km 33.600, 28805 Alcalá de Henares, Madrid, Spain.

[2]Centro de Investigación Forestal (INIA, CSIC), Ctra. de la Coruña Km 7.5, 28040 Madrid, Spain.

**Email del autor que presentará el trabajo: manuel.hernandez@uah.es*

El aprovechamiento de la biomasa residual por medios biológicos implica convertir residuos potencialmente problemáticos en productos de alto valor añadido. Entre estos productos se destacan los hidrogeles, redes tridimensionales flexibles y porosas que se hinchan en agua debido a la presencia de grupos hidrófilos. Actualmente, resultan útiles para fabricar bioplásticos, bioadsorbentes y/o para la liberación controlada de fertilizantes.

El objetivo de nuestro trabajo es la transformación de ligninas residuales (Kraft y álcali-lignina de paja de trigo) por la lacasa SilA de *Steptomyces ipomoeae*, para formular hidrogeles, con el concurso de un desecho de la industria pesquera (quitina/quitosan). La funcionalización de las ligninas con el consiguiente incremento de la reactividad por la acción de la lacasa, mejora la compatibilidad de ambos polímeros. La disminución de grupos hidroxilo de las ligninas por SilA y su efecto polimerizante se puso de manifiesto mediante FTIR. Para la formulación de los hidrogeles se mezclaron distintas proporciones de las ligninas (funcionalizadas o no) y quitosano, seleccionándose como óptima la correspondiente a una relación 70:30 quitosano:lignina, debido a su baja solubilidad y a su alta capacidad de retención de agua.

Por último, se demostró la viabilidad de estos nuevos materiales como bio-adsorbentes de contaminantes ambientales, utilizando colorantes de tipo azo, siendo la capacidad de adsorción conseguida entre el 70 y el 90 %. Asimismo, se evaluó la capacidad antimicrobiana de dichos hidrogeles sobre suspensiones estandarizadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, obteniéndose un descenso de entre 4 y 9 órdenes de magnitud decimal.

OPTIMIZACIÓN MEDIANTE EL MÉTODO OPLS-DA (ORTHOGONAL PROJECTIONS TO LATENT STRUCTURES-DISCRIMINANT ANALYSIS) DEL PROCESO DEGRADATIVO DE RESIDUOS AGRÍCOLAS POR CEPAS SELECCIONADAS DE *Streptomyces* EN FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

Molina-Guijarro, José M[1]; Domínguez, Gabriela[1]; Hernández, Manuel[1]; Rodríguez, Juana[1]; Guillén, Francisco[1]; Ortega-Ojeda, Fernando[2] y Arias, María Enriqueta[1].

[1]Departamento de Biomedicina y Biotecnología. Universidad de Alcalá, Ctra. Madrid-Barcelona, Km 33.600, 28805 Alcalá de Henares, Madrid, Spain.

[2]Departamento de Física y Matemáticas. Universidad de Alcalá, 28817 Alcalá de Henares, Madrid, Spain.

**Email del autor que presentará el trabajo: josemanuel.molina@uah.es*

En una economía sostenible, la biotransformación de residuos lignocelulósicos es una estrategia biotecnológica para obtener productos de alto valor añadido. La fermentación en estado sólido (SSF) presenta ventajas importantes en cuanto a reducción del volumen de agua y de efluentes contaminantes, aireación y la no necesidad de agitación. Sin embargo, presenta inconvenientes para el mantenimiento y control de variables y su interacción en el proceso. La aplicación de modelos matemáticos para la predicción eficaz y optimización de datos puede suponer una herramienta valiosa. El método estadístico multivariante OPLS-DA es un arma poderosa para el análisis de estructuras de datos cualitativos y una más fácil interpretación de los modelos. En este trabajo aplicamos por primera vez el método OPLS-DA para optimizar procesos SSF de paja de trigo y paja de cebada por cepas seleccionadas de *Streptomyces*. Se utilizaron como variables para evaluar la eficacia del proceso: tipo de sustrato, temperatura y tiempo de incubación, producción de enzimas hidrolíticas y cantidad de lignina extraída con agua y con NaOH de los sustratos fermentados.

El modelo obtenido permitió establecer una separación clara entre las cepas y los sustratos en función de tres variables predictivas, producto de la interacción entre todas las variables evaluadas, tanto dependientes como independientes. La cepa *Streptomyces* sp. MDG301 resultó la más eficaz en la modificación de los sustratos tras 7 días de incubación a 45 °C y en alcanzar una alta producción de xilanasas en periodos de fermentación más cortos, lo que implica una importante ventaja para aplicaciones industriales.

EXPRESIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS LIPOOXIGENASAS

del Castillo López, Tania[1,2]; Ramírez, Lucía[1]; Calvo Martínez, María Isabel[2]; Pisabarro, Antonio G[1].

[1] Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, España

[2] Universidad de Navarra (UNAV), Pamplona, Navarra, España

**Email del autor que presentará el trabajo: tdelcastillo@unav.es*

Las lipoxigenasas (LOX, E.C.1.13.11.-) pertenecen a la familia de las dioxigenasas que catalizan la adición de oxígeno molecular a ácidos grasos poliinsaturados tales como el ácido linoleico, linolénico y araquidónico. Los productos de reacción de las LOX son hidroperóxidos altamente reactivos denominados oxilipinas y tienen diferentes funciones en diversos organismos. Aunque estas enzimas han sido bien estudiadas en plantas y animales, las LOX de origen fúngico o protista, presentan funciones que son poco conocidas.

De esta manera, los objetivos de este trabajo son la identificación de posibles lipoxigenasas, su síntesis en sistemas heterólogos, su producción y escalado de la producción.

La búsqueda se realizó de forma bioinformática en bases de datos de genomas y metagenomas disponibles en la base de datos Mycocosm del *Joint Genome Institute.* A partir de las proteínas candidatas identificadas, se sintetizaron los genes correspondientes con una secuencia optimizada para el organismo de expresión *Pichia pastoris*. Posteriormente, las proteínas producidas se caracterizaron bioquímicamente y se estudió su actividad funcional para su utilización en aplicaciones industriales.

Con este proyecto se espera avanzar en el estudio del papel de las lipooxigenasas, aumentar la disponibilidad de lipooxigenasas con diferente especificidad, aumentar su actividad y estudiar la posibilidad de producción en sistemas heterólogos.

Expresión de PET hidrolasas en chasis no convencionales

Molpeceres, Francisco Javier; De Salas, Felipe; Galindo, Sara; Sanz, David; Barriuso, Jorge

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Spain

** fsalas@cib.csic.es*

La contaminación por plásticos supone un gran problema medioambiental. Actualmente, el tratamiento y reciclado de estos residuos depende de técnicas físico químicas no sostenibles y poco eficientes. Ante esto, las técnicas biológicas, basadas en el empleo de microorganismos y enzimas, surgen como una alternativa. Uno de los plásticos más comercializados es el tereftalato de polietileno (PET), un polímero compuesto de ácido tereftálico y etilenglicol. El PET puede ser degradado por diferentes enzimas, entre las cuales destacan las cutinasas del tipo PETasa y MHETasa. El empleo de estas cutinasas abre una nueva vía para la revalorización de este plástico en el contexto de la economía circular.

En nuestro grupo trabajamos en la caracterización de distintas PETasas para posteriormente introducirlas en microorganismos capaces de emplear los productos de degradación del PET como sustrato. Además buscamos microorganismos no convencionales que sean capaces de producir a través de su metabolismo compuestos de valor añadido como biopolímeros y bioplásticos, por ejemplo *Pseudomonas putida*, *Comamonas testosteroni* o *Delftia* sp. que son capaces de producir polihidroxialcanoato (PHA) y polihidroxibutirato (PHB).

Para desarrollar estas nuevas cepas de microorganismos y que puedan expresar heterólogamente las enzimas, se selecciona el vector más apropiado en función de la bacteria hospedadora y se clonan los genes sintéticos a los cuales se les optimiza el uso codones. Una vez clonada la construcción se ajustan las condiciones de cultivo de las cepas para optimizar la secreción de las PETasas.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos PID2020-114210RB-I00 (MICINN) y IBISBA1.0 (H2020 730976).

Producción de astaxantina por *X. dendrorhous* R4-X18 creciendo en xilosa

Montiel Cruz, Josué; Ponce Noyola, Teresa; Ramos Valdivia, Ana; Poggi Varaldo, Héctor

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV, México.

josue_montielcruz@cinvestav.mx

La biomasa lignocelulósica es la más abundante en el mundo y está constituida por tres polímeros estructurales: lignina, celulosa y hemicelulosa. Los dos últimos son ricos en pentosas y hexosas que pueden ser fácilmente aprovechados por los microorganismos para la obtención de bioproductos de alto valor agregado, como los polioles y los carotenoides. *Xanthophyllomyces dendrorhous* es una levadura productora de astaxantina y puede asimilar una gran variedad de disacáridos y monosacáridos entre ellos la xilosa. *X. dendrorhous* R4-X18 es una cepa mutante que sobreproduce astaxantina y con mejor co-asimilación de xilosa que su cepa parental. Acumula 12.7 veces más astaxantina con una productividad de 2.2 veces mayor bajo las mismas condiciones de cultivo que su cepa materna en xilosa al 1% y consume cerca del 86% de la fuente de carbono en el medio. Se ha observado que al incrementar la concentración de xilosa hasta 3% se ve favorecida la productividad de astaxantina hasta 5 veces más. Lo anterior sugiere que *X. dendrorhous* R4-X18 ha sufrido cambios a nivel transcripcional y metabólico permitiéndole un mejor aprovechamiento de la xilosa presente en sustratos complejos como los son los sacarificados de bagazo de caña. El bagazo de caña es uno de los materiales lignocelulósicos con mayor generación a nivel mundial.

PARTICIPANTES

Sonia Albillos Arenal	sonia.albillos@iata.csic.es
Miguel Alcalde Galeote	malcalde@icp.csic.es
Sergio Alonso-Fernández	alonsosergio@uniovi.es
Elen Aquino Perpetuo	elen.aquino@unifesp.br
Alba Arévalo Lalanne	alba.arevalo@uv.es
María Enriqueta Arias Fernández	enriqueta.arias@uah.es
Pablo Aza Toca	pabloaza@cib.csic.es
Rosa Aznar Novella	raznar@cect.org
Sara Baldanta Callejo	sara.baldanta@cib.csic.es
Jorge Barriuso Maicas	jbarriuso@cib.csic.es
Van Den Hazel Bart	bvdh@cobra-ip.eu
Katherine Bedoya Alvira	khaterine.bedoya@urv.cat
Ricardo Bisquert Alcaraz	r.bisquert@iata.csic.es
Paqui Blánquez	paqui.blanquez@uab.cat
Laura Blas Muñoz	laura.blas@uam.es
Ismael Borrego Serrano	ismael.borrego@agrotecnologia.rovensa.com
Debora Jaqueline Buss	contato@diag-labor.com.br
María Camacho Martínez Vara De Rey	mariag.camachomartinez@juntadeandalucia.es
Camila Andreia Camargo Drummond	contato@diag-labor.com.br
Luiza Andrea Canci	contato@diag-labor.com.br
Carolina Cano Prieto	cano.prieto.carolina@gmail.com
Irene Cano Sánchez	irene.cano@cib.csic.es
Jesús Manuel Cantoral Fernández	jesusmanuel.cantoral@uca.es
Neila Rita Carbonera	contato@diag-labor.com.br
Nicolás Carlotto	nicolas.carlotto@uv.es
María Cristina Casero Chamorro	maria.casero@uam.es
María Castillo López	maria.castillo@cib.csic.es
Elizabeth Liz Chávez Hidalgo	echavezh@unmsm.edu.pe
Emilia Chuina Tomazeli	emilia_tomazeli@hotmail.com
Samuel Cirés Gómez	samuel.cires@uam.es
Alba Contreras Ruiz	acontreras@iata.csic.es
Paola Corbín Agustí	paola.corbin@uv.es
Lorena Cuervo Del Pozo	cuervolorena@uniovi.es
Fernando De La Calle	fdelacalle@pharmamar.com
Felipe De Salas De La Cuadra	fsalas@cib.csic.es
Tania Del Castillo	tdelcastillo@unav.es
Elba Del Val Oriza	elbadval@ucm.es
Anna Karen Doyenart	anna.doyenart@gmail.com
Tatiane Dreher	contato@diag-labor.com.br
Patricia Elizaquível	patricia.elizaquivel@uv.es
Gemma Fernandez Garcia	gemmafg06@hotmail.com
Marina Flores	marinaaaa@gmail.com
María Gallego García	maria.gallego@ciemat.es
Amparo Gamero Lluna	amparo.gamero@uv.es
Miguel Garcia Acedos	miguel.garcia@cib.csic.es
Coral García Gutiérrez	coral93@hotmail.es

PARTICIPANTES

José Luis García López	jlgarcia@cib.csic.es
Javier García Martín	gmjavier9@usal.es
Sergio García Martín	ana@macrogen.com
Eduardo Garghetti	contato@diag-labor.com.br
Olga Genilloud	olga.genilloud@medinaandalucia.es
María Gimeno Pérez	mgimeno@cbm.csic.es
Moisés Giner Llorca	mginer@iata.csic.es
Audecir Giombelli	contato@diag-labor.com.br
Luis Gonzalez Candelas	lgonzalez@iata.csic.es
Adrián González García	adgongar@iata.csic.es
Ramón González García	rgonzalez@icvv.es
Ignacio González Martínez	ignacio.gonzalez@medinaandalucia.es
María Soledad González Moreno	msol95gm@gmail.com
María Isabel González Siso	isabel.gsiso@udc.es
María José Grande Burgos	mjgrande@ujaen.es
José Manuel Guillamón Navarro	guillamon@iata.csic.es
Francisco Guillén Carretero	francisco.guillen@uah.es
Alba Guillén González	alba.guillen@iata.csic.es
Romina Gutiérrez Rocha	romina.gutierrez@estudiantes.utec.edu.uy
Manuel Hernández	manuel.hernandez@uah.es
María Hernández Fernández	maria.hernandez@uca.es
Gabriel Hernández Fernández	gabriel.hernandez@cib.csic.es
César Ignacio Hernández Vásquez	cesarihv7@gmail.com
Agustina Herrera Echeverz	agustina.herrera@estudiantes.utec.edu.uy
Diego Fernando Herrera Pineda	biomol.investigacion@udes.edu.co
María Hijosa Valsero	hijvalma@itacyl.es
Marius Ibañez Herrero	mario.ibanez@promega.com
Alba Iglesias Vilches	ivilal@uv.es
Mónica Jiménez Carretero	monicajc@correo.ugr.es
Idoia Jimenez Miguel	idoia.jimenez@unavarra.es
Andrea Jurado Muñoz	andrea98jurado@yahoo.es
Guillermo Lazúen López	glazuen@ugr.es
Jesús Llano Verdeja	jesusllano05@gmail.com
Blanca Lorente Torres	bloret00@estudiantes.unileon.es
Teresa Lucena Reyes	teresa.lucena@uv.es
Andrew Maccabe	andrew@iata.csic.es
Angel Manteca Fernandez	mantecaangel@uniovi.es
Paloma Manzanares Mir	pmanz@iata.csic.es
Jose F. Marcos	jmarcos@iata.csic.es
Abelardo Margolles Barros	amargolles@ipla.csic.es
Mariza Marques Farias	contato@diag-labor.com.br
Andrea Martin Guindal	martinguindal@gmail.com
Maria Jesus Martinez	mjmartinez@cib.csic.es
Andrea Martínez Cazorla	a.martinezcazorla@um.es
Pedro Vicente Martínez Culebras	pedro.martinez@uv.es
M Teresa Martinez Pastor	maria.teresa.martinez@uv.es

PARTICIPANTES

Ana Mayero Martinez	ana@macrogen.com
Laura Mena Ordoñez	lmena@ujaen.es
José Manuel Molina Guijarro	josemanuel.molina@uah.es
Gonzalo Molpeceres García	gonzalo.molpeceres@cib.csic.es
Francisco Javier Molpeceres García	javier.molpeceres@cib.csic.es
Vicente Monedero García	btcmon@iata.csic.es
Isaac Monroy Chora	isaac.monroy@uv.es
Josue Montiel Cruz	josue_montielcruz@cinvestav.mx
Pilar Morales Calvo	pilar.morales@icvv.es
Juan Moreno-Cid	juan.morenocid@bionet.com
Francisco Moris Varas	fmv@entrechem.com
Eva María Moya Gonzálvez	eva.moya@iata.csic.es
Sara Muñiz Calvo	sara.muniz@iata.csic.es
Carlos Murguiondo Delgado	carlos.murguiondo@cib.csic.es
Eulalia Nogue Calvo	eulalia.nogue@uab.cat
Margarita Orejas	morejas@iata.csic.es
Sara Orellana Munoz	saraom@ous-research.no
Jéssica Paes Liston	contato@diag-labor.com.br
Victor Parro	parrogv@cab.inta-csic.es
Daniel Pérez Mendoza	dpmendoza@eez.csic.es
Laura Pérez Través	laupetra@iata.csic.es
David Peris Navarro	david.perisnavarro@gmail.com
Marcia Pessini	contato@diag-labor.com.br
Maria Consuelo Pina Pérez	maria.c.pina@uv.es
Antonio Gerardo Pisabarro De Lucas	gpisabarro@unavarra.es
Andrés Planells Carcel	anplacar@iata.csic.es
Manuel Porcar Miralles	manuel.porcar@uv.es
Ana Pozo Rodríguez	ana.pozo@cib.csic.es
Laura Prado Alonso	pradoalaura@uniovi.es
Alicia Prieto	aliprieto@cib.csic.es
M. Auxiliadora Prieto Jiménez	auxi@cib.csic.es
Daniel Ramón Vidal	daniel.ramonvidal@adm.com
Ainhoa Revilla Guarinos	revilla_ain@gva.es
Carolina Riascos Cuero	carolinariascos@usal.es
Douglas Wilian Rizzotto	contato@diag-labor.com.br
Lidia Rodrigo Torres	lidia.rodrigo@uv.es
Víctor Rodriguez Garcia	victor.rodriguez@promega.com
Miriam Rodriguez Garcia	rodriguezmiriam@uniovi.es
Pilar Rodríguez Viso	b42rovip@iata.csic.es
David Roldán López	david.roldan@iata.csic.es
Carolina Ropero Pérez	cropero@iata.csic.es
Gabriel Roscales García	gabriel.roscales@unavarra.es
Francisco Javier Ruiz Dueñas	fjruiz@cib.csic.es
Maria Desamparados Ruvira Garrigues	aruvira@cect.org
Sergio Salgado Briegas	sergio.sb_89@hotmail.es
Gloria Sánchez	glorisanchez@iata.csic.es

PARTICIPANTES

Antonio Sanchez Amat	antonio@um.es
Marina Sánchez Hidalgo	marina.sanchez@medinaandalucia.es
Ramón I. Santamaría Sánchez	santa@usal.es
José Antonio Santos	jagils@unileon.es
David Sanz Mata	dsanz@cib.csic.es
Cristina Serrano Pelejero	cristina.serrano@cib.csic.es
Lara Soler García	larasolergarcia@gmail.com
Raquel Sorribes Dauden	raquel.sorribes@uv.es
Flavia Sutilli	contato@diag-labor.com.br
Mario Anthony Taira Custodio	mario.taira@unmsm.edu.pe
Jordi Tronchoni León	jtronchoni@universidadviu.com
Elena De Los Desamparados Valera García	e.valera@iata.csic.es
Àngela Vidal Verdú	angela.vidal@uv.es
Maripaz Villanueva Llanes	mariapaz.villanueva@uca.es
María Jesús Yebra Yebra	yebra@iata.csic.es
Aida Yuste Parareda	aidayuste@gmail.com
Alessandro Zambon	zambon.alessandro@gmail.com

CMIBM

VALENCIA 2022