



MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA

ACTAS DEL CONGRESO

Organiza el Grupo de
"Microbiología Aplicada y Biotecnología Fúngica"

“MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA: ACTAS DEL VII CMIBM 2018”

ISBN: 978-84-949056-3-6

Autores: Carlos Garrido, María Carbu, Victoria E. González-Rodríguez, Gustavo Cordero, Jesús M. Cantoral

Área de Microbiología. Dpto. de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Universidad de Cádiz

Edición, diseño y maquetado: C. Garrido

Contraportada: La Caleta (Cádiz), Atardecer en la Playa de la Barrosa, Llanos del Republicano, Flora de la Sierra gaditana (lirio, peonía, orquídea y gamón). Fotos: Jesús M. Cantoral

Cádiz, Junio de 2018

Encuadernaciones Martínez S.L. (Puerto Real, Cádiz)



6-8 de junio de 2018
Universidad de Cádiz
Facultad de Filosofía y Letras
Cádiz



BIENVENIDA AL CONGRESO

Quisiera en primer lugar, dar la bienvenida a todos los Congresistas, y de manera especial, a los que vienen desde América (Colombia y Costa Rica), así como los pertenecientes a la red Redil (*Hispania rete fermentorum*) y a los jóvenes que participan por primera vez en CMIBM.

En segundo lugar, quisiera dar las gracias a todas las Instituciones que han hecho posible este Congreso: SEM (Grupo de Microbiología Industrial), Universidad de Cádiz (UCA), Consejo Regulador del Jerez, Dpto. de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública; así como a las casas comerciales que han ayudado económicamente, y por supuesto, a todos los miembros del grupo de Investigación de “Microbiología Aplicada y Biotecnología Fúngica” de la UCA que con tanto entusiasmo hemos organizado este VII CMIBM.

Bienvenidos a la UCA y a esta ciudad trimilenaria de Cádiz, “Tacita de Plata”, que durante los días del Congreso será vuestra casa. Estoy seguro que su olor a mar, su brisa marinera y el encanto de su gente hará que vuestro paso por este bello rincón andaluz deje en todos vosotros un recuerdo inolvidable.

No me cabe la menor duda que este marco, el magnífico Cv de los Congresistas y el cariño con que os hemos preparado este Congreso, llevan todos los componentes necesarios para hacer del mismo, todo un éxito. Así como una magnífica experiencia para compartir estos días entre viejos amigos y nuevos jóvenes investigadores, que se incorporan al apasionante mundo de la Microbiología Industrial y la Biotecnología Microbiana.

Jesús Manuel Cantoral Fernández
Presidente del Comité Organizador

COMITÉ CIENTÍFICO (orden alfabético de apellidos):

- **Dr. Francisco Javier Pastor.** Presidente del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Universidad de Barcelona.
- **Dr. Tomás G. Villa.** Ex-Presidente del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Universidad de Santiago de Compostela.
- **Dra. María Enriqueta Arias.** Vice-Presidenta del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Universidad de Alcalá de Henares.
- **Dr. José Luis Barredo.** Vocal del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Crystal Pharma. León.
- **Dr. Jesús Manuel Cantoral.** Vocal del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Universidad de Cádiz.
- **Dra. Margarita Orejas.** Vocal del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. IATA. Valencia.
- **Dr. Antonio Sánchez Amat.** Vocal del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Universidad de Murcia.
- **Dra. Carmen Méndez.** Secretaria/Tesorera del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Universidad de Oviedo.

COMITÉ ORGANIZADOR:

GRUPO DE “MICROBIOLOGÍA APLICADA y BIOTECNOLOGÍA FÚNGICA” de la Universidad de Cádiz. Facultades de Ciencias. Universidad de Cádiz. Puerto Real.

Presidente: Dr. Jesús Manuel Cantoral Fernández

Secretario: Dr. Carlos Garrido Crespo

Tesorera: Dra. María Carbú Espinosa de los Monteros

Vocales:

- Dra. Victoria Eugenia González Rodríguez
- Dr. Gustavo Cordero Bueso
- Dr. Javier Moraga Galindo
- Dña. Ana Fernández Morales

Colaboradores:

- D. Alejandro Bódalo Ponce
- D. Jesús Alberto Cantoral Rebordinos
- D. David Hughes Herrera
- D. Maria José González Rodríguez
- D. Marina Ruiz Muñoz
- D. Mónica González Moreno

SECRETARÍA TÉCNICA:

Viajes El Corte Inglés

Email: xicongresomicologiacadiz@viajeseci.es

Teléfono: 00.34.956.29.09.39

Fax: 00.34.956.28.57.39

SEDE DEL CONGRESO:

Facultad de Filosofía y Letras. Universidad de Cádiz

Av. Dr Gomez Ulla, 1, 11003 barrio de la viña, Cádiz

Teléfono: 956 01 55 00

ORGANIZADORES:



ENTIDADES:

- Junta de Andalucía
- Sociedad Española de Microbiología
- Universidad de Cádiz
- Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública
- Consejo regulador de las Denominaciones de Origen "Jerez-Xérès-Sherry" y "Manzanilla - Salúcar de Barrameda"

EMPRESAS COLABORADORAS:

- Bionaturis
- Biopolis, S.L.
- Lustau, S.L.
- Crystal Pharma S.A.U.
- Archer Daniels Midland
- Martínez Encuadernaciones A.G., S.L.



Facultad
de Ciencias

Campus de Puerto Real
ciencias.uca.es



[bionaturisgroup](http://bionaturisgroup.com)



encumar.es



Programa

	Miércoles 06 de junio 2018	Pag.
15:00	Entrega de Documentación	
16:00	Inauguración del Congreso	
16:00	CONFERENCIA INAUGURAL: "El salto de la investigación en el laboratorio a la producción industrial: el caso Biópolis" Dr. Daniel Ramón. Multinacional ADM (Archer Daniels Midland - BIOPOLIS)	21
17:00	Mesa Redonda I: Microbiología Enológica. <u>Moderador:</u> Dr. Ramón González. Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino. Logroño. La Rioja	
	Una visión retrospectiva de la enología molecular. Dr. Ramón González. Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino. Logroño. La Rioja	24
	Aplicación de biocápsulas de levaduras para la producción de vinos. Dra. Teresa García Martínez. Universidad de Córdoba	25
18:15	Visita al Consejo Regulador de la D.O. Jerez-Xéres-Sherry y cata de los diferentes tipos de vinos de la D.O. más antigua de España. Conferencia: LA CRIANZA BIOLÓGICA DE LOS VINOS DE JEREZ – EL VELO DE FLOR. D. César Saldaña Sánchez. Director de la D.O. "Jerez-Xérès-Sherry y Manzanilla Sanlúcar de Barrameda"	26
20:00	Visita a la Bodegas Lustau. Jerez de la Frontera. Cocktail de Bienvenida	

	Jueves 07 de junio 2018	Pag.
9:00	Mesa Redonda II: Biotecnología Ambiental. <u>Moderador</u> Dr. Santiago Gutiérrez. Universidad de León	
	Sesquiterpenos en el ciclo de vida del hongo fitopatógeno <i>Botrytis cinerea</i>. Dr. Isidro González Collado. Universidad de Cádiz	34
	Importancia de los terpenos producidos por Trichoderma en la interacción con plantas y hongos fitopatógenos. Dr. Santiago Gutiérrez. Universidad de León	35
	Integración de procesos biológicos para la obtención de bioenergía y bioproductos a partir de subproductos y residuos. Dr. Luis Isidoro Romero. Universidad de Cádiz	36
	Biotecnología de microalgas para una depuración sostenible de aguas residuales urbanas. Dr. José Antonio Perales. Universidad de Cádiz y Zouhayr Arbib (FCC AQUALIA)	37
11:00	Conferencias cortas <i>Arthrocnemum macrostachyum</i> y su microbioma como herramienta biotecnológica para la	

	remediación de suelos degradados" Salvadora Navarro de la Torre. Universidad de Sevilla	38
	Producción microbiana de nanoestructuras de selenio: Biorremediación y recuperación del Se en el marco de la economía circular Josemaría Delgado Martín, Miguel A. Ruiz Fresneda, Jaime Gómez Bolívar, María V. Fernández Cantos, Germán Bosch Estévez, Mohamed L. Merroun. Departamento de Microbiología, Universidad de Granada	39
11:30	Café y Visita zona de Poster	
12:00	Mesa Redonda III: Biotecnología de levaduras. <u>Moderador:</u> Dr. Joaquín Ariño. Universidad Autónoma de Barcelona	
	Formulación de inóculos de fermentación innovadores para la obtención de panes más distintivos y saludables. Dra. Mercedes Tamame. IBFG, CSIC - Universidad de Salamanca	42
	Estrés oxidativo y disponibilidad de nutrientes, factores clave en la eficiencia tecnológica de las levaduras vínicas. Dra. Emilia Matallana. Universidad de Valencia	43
	Mecanismos de adaptación a estrés por pH alcalino en <i>Saccharomyces cerevisiae</i>. Dr. Joaquín Ariño. Universidad Autónoma de Barcelona	44
	Uso de la levadura de fisión para estudiar estrés oxidativo asociado a toxicidad y a señalización. Dra. Elena Hidalgo. Universidad Pompeu Fabra. Barcelona	45
	Conferencias cortas.	
	La ruta de señalización de la calcineurina como posible diana en la terapia antifúngica Dra. Pilar Pérez. Instituto de Biología Funcional y Genómica, Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca	46
14:00	Levaduras aisladas de la vid silvestre y diferentes sistemas de cultivo del viñedo como estrategia para el biocontrol de hongos fitopatógenos Dr. Gustavo Cordero-Bueso. Universidad de Cádiz	47
	Los drones como herramientas de investigación de sistemas naturales en el siglo XXI: presente, futuro y más futuro Dr. Luis Barbero. Universidad de Cádiz	48
14:45	Descanso y Comida en el Claustro de la Facultad	
16:00	Mesa Redonda IV: Microbiología Molecular y Farmacéutica <u>Moderador:</u> Dr. Antonio Sánchez Amat	
	Interacción de sistemas CRISPR-Cas de diferentes tipos en la defensa frente a fagos. Dr. Antonio Sánchez Amat. Universidad de Murcia	50
	Producción de esteroides mediante <i>Mycobacterium</i>: Análisis ómicos del proceso y su resistencia. Dr. Carlos Barreiro Méndez. INBIOTEC, Instituto de Biotecnología de León.	51
	Aplicación de la minería genómica en <i>Streptomyces</i> al descubrimiento de nuevos	52

	metabolitos secundarios Dra. Carmen Méndez Fernández. Universidad de Oviedo	
17:30	Café	
18:00	Análisis transcriptómico de la utilización de pectina en <i>Aspergillus nidulans</i> Dra. Marga Orejas. IATA. Valencia	53
	Producción biotecnológica de esteroides Dr. Jose Luis Barredo. Crystal Pharma SAU. León	54
	Conferencias cortas:	
19:00	Efecto de la sobreexpresión de los genes SCO4441 y SCO4442 sobre la producción de antibióticos en <i>Streptomyces</i> Ramón. I. Santamaría. Instituto de Biología Funcional y Genómica. CSIC/Universidad de Salamanca.	55
	Mejora de la eficiencia del sistema CRISPR/Cas9 en <i>Streptomyces tsukubaensis</i> mediante la expresión inducible de cas9 por teofilina María Teresa López-García. Instituto de Biotecnología de León INBIOTEC.	56
19:30	Visita a Cádiz (Santa Cueva, Oratorio de San Felipe Neri, etc.) Un pequeño recorrido por Cádiz Luisa Fernández-Trujillo Núñez	57
21:00	Cena del Congreso	

	Viernes 08 de junio 2018	Pag.
09:30	Mesa Redonda V: Tecnología Enzimática <u>Moderadores:</u> Dr. Francisco Javier Pastor Dra. María Enriqueta Arias	
	Glicosidasas fúngicas: enzimas con gran potencial biotecnológico. Dra. María Jesús Martínez. CIB - CSIC. Madrid	62
	<i>Streptomyces</i> y sus enzimas como herramientas biotecnológicas para la valorización de residuos agroindustriales. Dra. Alba Blánquez. Universidad de Alcalá de Henares	63
	Bacterial cellulose: an amazing biomaterial with great application. Dra. Josefina Martínez. Universidad de Barcelona	64
	Conferencias cortas:	
	CHIT33: Fungal chitinase heterologously expressed in <i>Pichia pastoris</i> and its application in production of chitooligosaccharides Peter Elias Kidibule, Paloma Santos-Moriano, Elena Jiménez, Inmaculada Aranaz. Niuris Acosta, Harris Ángeles Heras, Julia Sanz-Aparicio, Francisco José Plou, María Fernández-Lobato.	65
	Utilización de carbohidratos derivados de la N-glicosilación de proteínas en <i>Lactobacillus casei</i>. Jimmy E. Becerra, Jesús Rodríguez-Díaz, Martina Palomino-Schätzlein, Manuel Zúñiga, <u>Vicente Monedero</u> y María J. Yebra. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos_CSIC	66

11:30	Café y Visita zona de Poster	
12:00	Conferencia de Clausura. Biología de sistemas en Microbiología Industrial. - Dr. José Luís García. CIB – CSIC. Madrid. Presentador: José Antonio Gil. Universidad de León	67
13:00	Conclusiones del Congreso. Acto de Clausura	
13:30	Descanso y Comida en el Claustro de la Facultad	
15:00	Excursión Optativa: - Visita a las instalaciones del Proyecto Europeo ALLGAS en la Estación Depuradora de El Torno (Chiclana), en el que están depurando aguas residuales con microalgas, y utilizando la biomasa para producir combustible (metano). Demostración de drones por este servicio de la UCA. - Visita a las ruinas romanas de Baelo Claudio y playa de Bolonia. Paseo a la duna gigante, baño, merienda-cena y regreso	69

INDICE DE POSTER:**Pag.**

POSTER 01:

Experiencias de biomanufactura en ambientes universitarios utilizando plataformas microbianas**73**

Rosa Buxeda y Lorenzo Saliceti

POSTER 02:

Análisis comparativo de proteínas de pared en dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en fase estacionaria de crecimiento**74**

Juan Antonio Porras-Agüera, M. Carmen González-Jiménez, Jaime Moreno-García, Juan Carlos Mauricio, Juan Moreno y Teresa García-Martínez

POSTER 03:

Desarrollo de magnetoliposomas biomiméticos para su uso como agentes de hipertermia**75**

Ylenia Jabalera, María Antonia Fernández-Vivas, Guillermo Iglesias, Ángel Delgado y Concepción Jiménez-López

POSTER 04:

ProWood: protection of wood by novel bio-based solutions**76**

Óscar Velasco-Rodríguez, David Becerro-Recio, Katarina Kosalkova, Laura García-Calvo, Alexia del Árbol-Alonso, Irina Rosca, Cristian-Dragos Varganici, Kjell Josefsen, Håvard Sletta, Alberto Sola-Landa, Teodora Rusu y Carlos Barreiro

POSTER 05:

Selenate reduction by the bacterial species *Stenotrophomonas bentonitica*: biotechnological applications**77**

María Victoria Fernández Cantos, Miguel Ángel Ruiz Fresneda, Josemaría Delgado Martín y Mohamed Larbi Merroun

POSTER 06:

Biodegradation of xenobiotic compounds by the optimized fungal culture of the thermotolerant fungus *Thielavia arenaria* HJ22 isolated in Tunisia**78**

Rim Mtibaà, Elisabet Aranda, Tahar Mechichi, Carlos Garrido y Jesús M. Cantoral.

POSTER 07:

Análisis poblacional de bacterias con resistencia a antibióticos en muestras de agua y sedimentos de origen marino y fluvial en la Bahía de Cádiz.**79**

María José González Rodríguez, Sokratis Papaspyrou, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez y Jesús M. Cantoral

POSTER 08:

Comparación de la digestión anaerobia termofílica de pulpa agotada de remolacha azucarera y su co-digestión con estiércol de ganado vacuno**80**

Xiomara Gómez-Quiroga, Kaoutar Aboudi, Carlos José Álvarez-Gallego y Luis Isidoro Romero-García

POSTER 09:

Activación y caracterización de la agrupación de genes de biosíntesis de una nueva familia de compuestos híbridos péptido-policetónicos en *Streptomyces argillaceus***81**

Adriana Becerril, Suhui Ye, Alfredo F. Braña, Ignacio Pérez-Victoria, Fernando Reyes, José A. Salas y Carmen Méndez

POSTER 10:

Activación y caracterización de un *cluster* para la biosíntesis de derivados de 3,4-ABHA en *Streptomyces argillaceus* identificado por minería genómica 82

Ignacio Montero, Suhui Ye, Brian Molloy, Alfredo F. Braña, José A. Salas y Carmen Méndez

POSTER 11:

Estrategias basadas en la secuenciación de genomas para la producción de nuevos compuestos bioactivos en *Streptomyces* sp. 83

Laura Prado Alonso, Rubén Álvarez Álvarez, Carmen Méndez, José A. Salas y Carlos Olano.

POSTER 12:

Optimización del método de determinación cualitativa y cuantitativa de sideróforos en *Botrytis cinerea*. 84

Ana Fernández-Morales, María Carbú, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez, Maria José González-Rodríguez, Alejandro Bodalo y Jesús M. Cantoral.

POSTER 13:

Estudio metabolómico de *Botrytis cinerea* B05.10 mediante técnicas OSMAC y modulación epigenética 85

Ana Isabel Massa, Inmaculada Izquierdo-Bueno, Isidro González Collado y Rosa Durán-Patrón

POSTER 14:

Efecto de la presión de CO₂ endógeno sobre la expresión de proteínas de estrés de *Saccharomyces cerevisiae* durante la segunda fermentación del cava 86

Juan Jesús Román Camacho, Juan Antonio Porras Agüera, Jaime Moreno-García, Juan Carlos Mauricio, Juan Moreno y Teresa García-Martínez

POSTER 15:

Biodiversidad de levaduras procedentes de fuentes naturales de una región central de España 87

Beatriz García-Béjar Bermejo, María Arévalo-Villena, Pilar Fernández-Pacheco y Ana Briones.

POSTER 16:

Identificación de lacasas implicadas en la polimerización del 1,8-dihidroxinaftaleno en el hongo fitopatológico *Botrytis cinerea*. 88

Alejandro Bódalo Ponce, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez, Ana Fernández-Morales, María Carbú, Maria José González-Rodríguez y Jesús M. Cantoral.

POSTER 17:

Bacterial cellulose-chitosan nanocomposites with antimicrobial activity 89

Lourdes Cabañas, Cristina Valls, M. Blanca Roncero, Julia Fernández, Pilar Díaz y Josefina Martínez

POSTER 18:

Regulación de los mecanismos de quorum sensing en *Ophiostoma piceae* y su interacción con bacterias para la valorización de residuos 90

Jorge Barriuso, Iñigo de la Fuente, Ismael Trujillano, Alicia Prieto y María Jesús Martínez

POSTER 19:

Laccase/TEMPO-mediated bacterial cellulose oxidation: elaboration of silver nanoparticles in paper-like composites with antimicrobial activity 91

Gala Morena, M. Blanca Roncero, Cristina Valls y Josefina Martínez

POSTER 20:

Producción y análisis proteómico de crudos ricos en celulasas inducidos por bagazo de cerveza: aplicación en sacarificación de bagazo.Neumara L. S. Hakalin, Laura I. de Eugenio, María Molina-Gutiérrez, Leonor Sánchez-Rodríguez, M^a Jesús Martínez y Alicia Prieto

92

POSTER 21:

Análisis bioinformático del potencial de producción de metabolitos secundarios de diferentes especies de *Streptomyces* aislados de hormigas *Acromyrmex octospinosus*

Ana Ceniceros, Mónica G. Malmierca, Carmen Méndez, José Antonio Salas y Carlos Olano

93

POSTER 22:

Attempts to recover ancient traits of *Bacillus* sp. JR3 esterase LipJ

Carolina Buruaga, Mónica Estupiñán, Josefina Martínez y Pilar Díaz

94

POSTER 23:

Reducción de la producción de sulfhídrico en levaduras industriales mediante CRISPR/Cas9

Marina Ruiz-Muñoz, Gustavo Cordero Bueso, Mónica González-Moreno, María del Carmen Bernal-Grande, Pedro Miguel Izquierdo-Cañas y Jesús Manuel Cantoral

95

POSTER 24:

Aislamiento y caracterización de una *Pseudomona aeruginosa*, endófito de maíz, con capacidad antagonista e inhibitoria del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*

Hernando José Bolívar-Anillo, Carlos Garrido y Isidro G. Collado

96

POSTER 25:

Método OSMAC (*One Strain Many Compounds*) para identificación de nuevos metabolitos secundarios producidos por *S. albus* J1074

Fernández-De la Hoz Jorge, González Aranzazu, Méndez Carmen, Olano Carlos y Salas José A.

97

POSTER 26:

Nuevos híbridos de levadura para la obtención de productos de panificación innovadores

Rosana Chiva, Marta Hoya, Nieves Olivares, José Antonio Uña, María Ángeles Santos y Mercedes Tamame.

98

POSTER 27:

Complejo proceso de glicosilación de sipanmicinas: cooperación entre glicosiltransferasas.Mónica G. Malmierca, Ignacio Pérez-Victoria, Jesús Martín, Fernando Reyes, Carmen Méndez^c, Carlos Olano y José A. Salas.

99

POSTER 28:

Cepas de la levadura *Wickerhamomyces anomalus* contra la proliferación del hongo fitopatógeno *Fusarium graminearum*Soledad Vega, José Antonio Uña, Lorena Celador, Rosa Ana Chiva, Paula Xiomara Méndez, M^a Encarnación Velázquez, Mercedes Tamame y María Ángeles Santos

100

POSTER 29:

Elaboración de una grasa lubricante biodegradable a partir de paja de cebada fermentada con *Streptomyces* sp. MDG 301

Alba Blánquez, Gabriela Domínguez, Carmen Fajardo, Antonio Borrero, Concepción Valencia, M. Enriqueta Arias, Manuel Hernández y Juana Rodríguez.

101

POSTER 30:

Nuevos productos naturales bioactivos a partir de hongos de origen marino de la Bahía de Cádiz **102**

María Estrella González-Rey, Ana Isabel Massa, Paula Rodríguez-Márquez, Rosario Sánchez-Maestre, Carlos Garrido, Sokratis Papaspyrou, Josefina Aleu y Rosa Durán-Patrón

POSTER 31:

Gestión eficiente y sostenible de efluentes en acuicultura marina mediante tecnología solar. **103**

José A. Perales, Manuel A. Manzano, M. Carmen Garrido, Rocío Robles, Julia Vélez, Milagrosa Ramírez, Manuel Domínguez y Rocio Litrán

POSTER 32:

Relevancia De La Deleción Del Gen *tri4* En *Trichoderma arundinacum*. Una Estrategia De Biocontrol Frente Al Fitopatógeno *Botrytis cinerea* **104**

Izquierdo-Bueno, J. Moraga, R. Linares, R. E. Cardoza, L. Lindo, S. Gutierrez y I. G. Collado.

POSTER 33:

Funcionalización de ligninas mediante la lacasa SilA de *S. ipomoeae* CECT 3341 para la obtención de polímeros de utilidad industrial **105**

Gabriela Domínguez, Alba Blánquez, Rodrigo Serrano, Antonio Borrero, Concepción Valencia, Francisco Guillén, M. Enriqueta Arias y Manuel Hernández.

POSTER 34:

A novel phytase from *Serratia odorifera*: Cloning, expression, characterization and production **106**

Ramon Marques, Ignasi Salaet, Tula Yance, Judit Macias, Maria Jesus Pujol, Oriol Bachs y Rosa Alique.

POSTER 35:

Exploring the Lytic Polysaccharide MonoOxygenase activity on different cellulosic substrates **107**

Daniel Sánchez, Xavier Andrés, Òscar Domènech, Josefina Martinez, Pilar Diaz, Francisco J. Pastor y Susana V. Valenzuela

POSTER 36:

Caracterización de las sesquiterpeno ciclasas 3 y 4 (STC 3 y STC4) presentes en el genoma del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* **108**

R. Suárez-Cáceres, C. Garrido, J. M. Cantoral y I. G. Collado

POSTER 37:

Structural features determine the antioxidant activity of xylooligosaccharides produced by different xylanase families **109**

Jesica M. Soder, Cristina Valls, F. Javier Pastor y Susana V. Valenzuela.

POSTER 38:

Cepas de levaduras no *Saccharomyces* aisladas de masas madre y sus cualidades para panificación **110**

José Antonio Uña, Lorena Celador, Rosa Ana Chiva, Paula Xiomara Méndez, Soledad Vega, M^a Encarnación Velázquez, Mercedes Tamame y María Ángeles Santos

POSTER 39:

Extracción y caracterización de biosurfactantes producidos por bacterias aisladas para su uso en la degradación de hidrocarburos derivados del petróleo **111**

Gilberto Pinto-Liñán, Gloria Andrea Silva-Castro, Alfonso Rodríguez-Calvo, Tatiana Robledo-Mahón, Alma Paz-González, Lenci K Vazquez-Jiménez, Gildardo Rivera-Sánchez y Concepción Calvo

POSTER 40:

BcBOT7, ¿un nuevo gen en la vía biosintética botridial? **112**

Javier Moraga, Inmaculada Izquierdo-Bueno, Victoria E. González-rodríguez, Rocío Linares, Carlos Garrido, Jesús M. Cantoral y Isidro G. Collado.

POSTER 41:

Estudio del papel de las micorredoxinas frente al estrés oxidativo en *Rhodococcus equi*. **113**

Álvaro Mourenza, Inés Pradal, José A. Gil, Michal Letek y Luis M. Mateos

POSTER 42:

TOPCAPI: ingeniería genética de *Streptomyces* para la producción avanzada de fármacos **114**

Antonio Rodríguez-García, María del Rosario Pérez-Redondo, Alberto Sola-Landa, Irene Santamarta, Carlos Barreiro, Isabel Clara Sánchez-Orejas, Consorcio TOPCAPI

POSTER 43:

Aislamiento y caracterización de bacterias productoras de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de fuentes agrícolas **115**

Andrés Felipe Villa Restrepo, Wilman Alcaraz Zapata, José Gregorio Cabrera Gomez, Alejandro Acosta Cárdenas y Jenifer Urán Álvarez

POSTER 44:

Identificación de microorganismos por técnicas ópticas y espectroscópicas **116**

Andrés Felipe Villa Restrepo, Alejandro Mira Agudelo, María Marcela Manrique Moreno, Javier Silva Agredo y Yuliana Arango Escudero

POSTER 45:

Bioprospección de actinomicetos en suelos de Canarias con potencial biotecnológico **117**

David Tomás Montesdeoca Flores, Eduardo Antonio Hernández Bolaños, Estefanía Abreu Yanes, Milagros León Barrios y Néstor Javier Abreu Acosta

POSTER 46:

Actividades enzimáticas de interés industrial en actinomicetos de suelos canarios **118**

Eduardo Antonio Hernández Bolaños, Estefanía Abreu Yanes, David Montesdeoca Flores, Milagros León Barrios y Néstor Abreu Acosta

POSTER 47:

Efecto de microorganismos autóctonos y selección de cultivo para elaboración de suero costeño **119**

Alejandra Vela Caicedo y Francia Elena Valencia García

POSTER 48:

Potencial de microalgas nativas para el tratamiento de lixiviados (Proyecto ReCO₂overy) **120**

Manuel Camilo Pardo Castillo, Liliana Griego, José Manuel González y José Manuel Rico

POSTER 49:

Determinación de la secuencia cromosómica de *Streptomyces tsukubaensis*, productor del inmunosupresor tacrolimus, mediante ultrasecuenciación PacBio 121

María del Rosario Pérez-Redondo, María Teresa López-García, Alberto Sola-Landa, José Manuel Murciego-Copete, Marta Crespo-Sánchez, Miriam Castro-Mariñas, Carlos Barreiro y Antonio Rodríguez-García

POSTER 50:

Aislamiento y caracterización de microorganismos de interés industrial de suelos de Tenerife. 122

Estefanía Abreu Yanes

POSTER 51:

Producción mejorada de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de un modelo predictivo de alimentación y empleando un aislado bacteriano e hidrolizado de harina de yuca como sustrato alternativo 123

Wilman Alcaraz Zapata

Miércoles, 6 de junio

CONFERENCIA INAUGURAL:

El salto de la investigación en el laboratorio a la producción industrial: el caso Biópolis

Daniel Ramón Vidal
Archer Daniels Midland Co.

El binomio alimentación-salud se he convertido en un referente de innovación para la industria agroalimentaria. Nacido como tal en la década de los 80 en Japón, se ha impuesto a un ritmo creciente en casi todos los rincones del planeta. Todas las grandes compañías del sector investigan activamente en estas temáticas con unas aproximaciones poco usuales hasta la fecha para la industria agroalimentaria. Análisis de microbiomas, nutrición personalizada o probióticos son términos que se han sumado al acervo cultural de innovación de estas compañías. Ni la Unión Europea en general ni nuestro país han permanecido ajenos a esta situación.

A lo largo de esta presentación se discutirá el estado actual de la aplicación de las nuevas tecnologías ómicas en la industria agroalimentaria. El desarrollo de nuevos modelos de evaluación basados en el empleo de organismos modelo como *Caenorhabditis elegans* o *Drosophila melanogaster*, la aplicación del análisis de microbiomas, metagenomas o metatranscriptomas para entender las bases moleculares de los problemas y buscar soluciones a la carta, o la definición de una dieta adecuada a patrones genómicos determinados serán motivo de evaluación. También se analizará el empleo de la secuenciación genómica masiva en problemas de seguridad alimentaria o control de fraudes. Finalmente se discutirá el marco legal y las discusiones éticas en torno a la aplicación de estas nuevas tecnologías.

**Mesa Redonda I:
Microbiología Enológica**

Moderador:

Dr. Ramón González
Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino. Logroño
La Rioja

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Una visión retrospectiva de la enología molecular

Ramón González

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja). Aptdo. 1042. 26080 Logroño

Email: rgonzalez@icvv.es

Frente a la incertidumbre de los procesos tradicionales de fermentación espontánea, la biotecnología de levaduras enológicas se desarrolló inicialmente como una manera de asegurar una cinética de fermentación adecuada. Pronto, la observación del impacto diferencial de cepas concretas de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la calidad de los vinos llevó a un creciente interés por la selección y caracterización de cultivos iniciadores. Sin embargo, la persecución de objetivos cada vez más específicos se veía restringida por la escasa diversidad natural de la especie. Esta situación, junto con la accesibilidad a un creciente número de herramientas genéticas, impulsó el desarrollo de las primeras cepas enológicas modificadas genéticamente (Perez-Gonzalez et al, 1993; Volschenk et al, 1997). También contribuyó al avance de la biotecnología enológica el desarrollo de métodos moleculares de detección e identificación de levaduras. Curiosamente, este desarrollo de la ingeniería genética de *S. cerevisiae* se avanzó a un verdadero desarrollo de métodos más convencionales de mejora genética de microorganismos industriales. Pero ni la industria ni el mercado estaban entonces maduros para aceptar este tipo de avances. De hecho, los avances más recientes en biotecnología enológica han recurrido a métodos convencionales de mejora genética (hibridación inter- e intraespecífica, mutagénesis al azar, evolución experimental) con varios casos de éxito (Gonzalez-Ramos et al, 2010); o a la introducción gradual de cultivos iniciadores de especies alternativas a las del género *Saccharomyces*. Los métodos de fenotipado high-throughput, o los modelos metabólicos a escala genómica están abriendo nuevos horizontes para desarrollar métodos de mejora genética que no requieren el uso de DNA recombinante. Finalmente, tanto la biología sintética, como las herramientas basadas en CRISPR/Cas9 parece que podrían contribuir al desarrollo de nuevas cepas enológicas de levaduras (Pretorius, 2017). La aplicabilidad de dichas cepas dependerá tanto de cambios normativos como de las ventajas reales que aporte su uso. También hay que tener en cuenta el desarrollo del conocimiento sobre la microbiota presente en las diferentes etapas de la vinificación, así como el estudio de las interacciones entre cepas, que ayudarán a diseñar nuevas estrategias y herramientas de utilidad en biotecnología enológica.

Gonzalez-Ramos et al. (2010). J Int Sci Vigne Vin 44:243-249

Perez-Gonzalez et al. (1993) Appl Environ Microbiol 59:2801-2806

Pretorius (2017) Crit Rev Biotech 37:112-136

Volschenk et al. (1997) Am J Enol Vitic 48:193-197

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Aplicación de biocápsulas de levaduras para la producción de vinos

Teresa García Martínez

Departamento de Microbiología, Campus Universitario Rabanales (Edificio C6), Carretera N IVa, Km 396. 14014 Córdoba. Universidad de Córdoba.

Email: mi2gamam@uco.es

Se entiende por inmovilización celular el confinamiento físico de las células intactas en un espacio definido con la conservación de la actividad biológica durante un largo periodo de tiempo. Se han propuesto diferentes sistemas de inmovilización en Enología. Entre los métodos más estudiados para la inmovilización de levaduras incluyen el uso de distintos tipos de soportes: naturales, orgánicos, inorgánicos y sistemas de membranas, además de usar compuestos multifuncionales. El uso de esta metodología en la fermentación alcohólica implica una serie de ventajas frente a la fermentación tradicional con células de levadura en forma libre. Algunas de las fortalezas de estos sistemas de inmovilización de levadura son: mejora en el rendimiento del producto, menor riesgo de contaminación microbiana, mejor control y reproducibilidad de los procesos, además de la reutilización de las propias levaduras inmovilizadas en fermentación continua. Nuestro grupo de investigación ha patentado un nuevo sistema de co-inmovilización sin usar soportes externos, de tal manera que las células de levadura se unen a las hifas de un hongo filamentoso GRAS espontáneamente, dando lugar a las denominadas “*biocápsulas de levaduras*”, bajo unas condiciones determinadas. Se han obtenido diferentes biocápsulas con distintas cepas de levaduras seleccionadas y se han realizado estudios microscópicos, proteómicos y metabolómicos en comparación con células de levadura libres. Las biocápsulas de levadura se han aplicado positivamente según las características fermentativas y organolépticas en vinos dulces parcialmente fermentados, elaboración de cava y producción de etanol, por lo que puede suponer una mejora tecnológica innovadora en procesos fermentativos frente a la utilización de levaduras en forma libre y puede abrir nuevas estrategias interesantes para la producción de bebidas alcohólicas como es el vino.

Visita al Consejo Regulador de la D.O. Jerez-Xéres-Sherry y cata de los diferentes tipos de vinos de la D.O. más antigua de España.

Conferencia:

La crianza biológica de los vinos de jerez: el velo de flor

D. César Saldaña Sánchez. Director de la D.O. “Jerez-Xéres-Sherry y Manzanilla Sanlúcar de Barrameda”

El fenómeno de la formación del velo de flor y la correspondiente crianza biológica constituyen muy probablemente la contribución más importante de Jerez como región vinícola –y como categoría de vinos– a la enología universal. No hace muchas décadas la formación de ese velo blanquecino y las asombrosas transformaciones que provoca en el vino eran algo que pertenecía aún al mundo de lo misterioso; a “la magia de la bodega”. Buena parte de la literatura clásica del Jerez hasta mediados del siglo XX habla simplemente de “microorganismos”, sin una idea clara de la identidad real de los protagonistas de este fenómeno ni de los mecanismos a través de los que se producían las profundas transformaciones que afectaban al vino sometido a su presencia.

Es sabido que la fermentación alcohólica requiere de la participación de levaduras, esos organismos unicelulares que actúan como desencadenantes de la reacción química que transforma los azúcares en alcohol. De igual modo, la fermentación de la cerveza, la producción de pan o cualquier otro proceso que incluya una fermentación, requiere de la participación de estos seres, las levaduras, en cualquiera de sus múltiples formas o especies. En el caso concreto de la fermentación alcohólica, el protagonismo es para *Saccharomyces cerevisiae*, un organismo que se reproduce por gemación y del que conocemos en su integridad su secuencia genómica, lo cual no es de extrañar, pues ha acompañado a la humanidad desde tiempo inmemorial. En definitiva, un viejo conocido de la ciencia.

Ahora bien, en lo que respecta a la producción del vino, existe una cuestión que nos resulta difícil de entender: a lo largo de la fermentación, el mosto va progresivamente perdiendo su contenido en azúcar y aumentando su contenido alcohólico, hasta el punto en el que –a partir de unos determinados niveles– la concentración de alcohol empieza a constituir un hábitat absolutamente hostil para las propias levaduras. ¿Cómo es posible entonces que el velo de flor esté constituido por levaduras?

Tras la fermentación de los mostos de Palomino la graduación del vino alcanza niveles entre 11 y 12.5% vol., insoportables para las levaduras fermentativas normales. Pero es que las nuestras no son normales. Es a partir de la graduación mencionada anteriormente, cuando estas levaduras tan especiales empiezan a reclamar protagonismo, desarrollando un metabolismo muy distinto a la de sus predecesoras fermentativas. No se trata en este caso de transformar azúcar en alcohol, sino de captar moléculas de etanol y combinarlas con oxígeno, dando lugar así a un nuevo compuesto llamado acetaldehído. Esto es algo que pueden hacer en un medio sumergido durante algún tiempo, al menos mientras que exista suficiente

oxígeno disuelto en el mosto. Pasados unos días y agotado dicho oxígeno disuelto, sólo pueden seguir “respirando” en la superficie del vino; esa es la razón de que suban a la superficie del mosto y se instalen allí, para lo que gozan de otra característica fundamental: la flotabilidad. Una cualidad que les permite ascender y mantenerse en la superficie del líquido, con acceso a los nutrientes que se encuentran en el mismo y al oxígeno que consumen como parte de su proceso metabólico. Las levaduras de velo de flor, una vez instaladas en la superficie del vino y con las condiciones ambientales adecuadas –fundamentalmente de humedad, temperatura y disponibilidad de oxígeno–comienzan inmediatamente a reproducirse, terminando por colonizar totalmente la superficie disponible en los depósitos (sean estos botas o depósitos de cualquier material y siempre que se trate de recipientes abiertos y por tanto con acceso al oxígeno).

Sólo unas semanas después de concluida la fermentación tumultuosa, observaremos pequeños puntos sólidos flotando, que a los pocos días irán engrosándose hasta que, hacia el mes de octubre, toda la superficie del vino estará cubierta por el velo de flor. La formación del velo de flor tiene una consecuencia inmediata en el proceso; a partir de su total formación, el vino se encuentra aislado del contacto directo con el aire y por tanto protegido de la oxidación directa. Es más, el velo no sólo respira por arriba, generando un ambiente reductor dentro del depósito en el que se encuentre, sino que las levaduras siguen consumiendo cualquier cantidad de oxígeno disuelto que pueda haber en el líquido como consecuencia de los trasiegos que pudieran realizarse. Esta interrelación permanente con el vino alcanza además a otros muchos aspectos: ya hemos mencionado que las levaduras de velo de flor transforman etanol oxidándolo en acetaldehído. Pero también consumen otros elementos relevantes del vino: azúcares residuales, ácido acético, glicerol, proteínas, etc. En definitiva, el contacto continuado de estas levaduras con el vino va a transformar de forma importante su perfil analítico y, consecuentemente, también sus características organolépticas: aroma, sabor y textura. El único aspecto que va a permanecer relativamente inalterado es el color, por la protección que el velo supone de los procesos oxidativos que hacen evolucionar el color de los vinos blancos.

No es hasta los años setenta, cuando se desarrollan estudios serios y rigurosos con el fin de identificar y caracterizar las levaduras específicas responsables de la formación del velo de flor, utilizando métodos de microbiología clásica. Como resultado de estos primeros estudios, la especie *S. cerevisiae* se clasificó como cuatro cepas o “razas” distintas, denominadas *beticus*, *cheresiensis*, *montuliensis* y *rouxii*. Sin embargo, en la última década, desde que se secuenció el genoma completo de *S. cerevisiae* y la irrupción de nuevas técnicas de biología molecular, la taxonomía de estas “razas” cambió. Hoy en día, *Saccharomyces rouxii* se identifica como una no-*Saccharomyces* denominada *Schizosaccharomyces rouxii*, al igual que sucede con *S. montuliensis* que está clasificada como *Torulaspora delbrueckii*. El resto de “razas”, se clasifican hoy como *S. cerevisiae*. Cabe destacar, que trabajos recientes sobre la diversidad de microorganismos que forman el velo de flor afirman que éste está compuesto por multitud de seres microscópicos, no sólo de numerosas cepas diferentes de *S. cerevisiae* y de otras levaduras pertenecientes a género no-*Saccharomyces*, sino también por bacterias lácticas de los géneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus* o *Pediococcus* o por hongos filamentosos como *Botrytis cinerea*, que lo hace de forma oportunista. Todos estos microorganismos pueden formar parte del complejo velo de flor que encontramos en el interior de las botas en las bodegas del Marco de Jerez. Son las diferentes proporciones en las que los mencionados microorganismos se encuentran en el velo, siendo las distintas cepas

de *S. cerevisiae* las mayoritarias, la causa de las diferencias que se observan en la evolución de los vinos en la crianza biológica.

Pero desde luego, lo que marca la mayor o menor presencia de cada especie de microorganismo, son las condiciones climáticas de la ciudad del marco de Jerez donde se lleva a cabo la crianza biológica, y las condiciones micro-climáticas concretas de la bodega, así como la mejor o mayor adaptabilidad de cada especie a dichas condiciones y el trato recibido por parte de quienes elaboran esos vinos. Así, algunas cepas de *S. cerevisiae* presentan una mayor adaptabilidad a la falta de humedad, mientras que esas condiciones son letales para otras. Igualmente, las mayores o menores oscilaciones térmicas favorecen o inhiben el desarrollo de unas cepas frente a otras. Además, hay que tener en cuenta que, una vez creado un determinado *statu-quo* entre los microorganismos que componen el velo de flor, este tiende a perpetuarse en el interior de las botas, pues el sistema de criaderas y solera hace que la flor nunca parta de cero, pues nunca se vacían las botas del todo. Periódicamente se realizan sacas parciales de vino y los correspondientes rocíos, pero siempre manteniendo el velo sobre el vino inalterado.

¿Qué efectos tienen esas poblaciones diferentes en el vino? También la investigación de las poblaciones aisladas ha permitido demostrar que cada una de las especies que forman la flor influye en el vino de una forma diferente: así, la capacidad para producir acetaldéhdos, o el consumo de ácido acético difiere entre las distintas cepas de *Saccharomyces*; consecuentemente, diferentes poblaciones de levaduras aportan efectos ligeramente distintos al vino que “cría” bajo ellas. No solamente desde un punto de vista analítico y medible, sino sobre todo aportando matices sensoriales diferentes. Ahí es donde radica la extraordinaria diversidad de la crianza biológica; las diferencias entre Jerez, El Puerto y Sanlúcar; o entre ubicaciones de una misma población; o incluso entre botas de una misma bodega, situadas a escasos metros. Unas diferencias que, en el sistema de criaderas y solera, tiende a perpetuar en el tiempo. Es lo que algunos autores han definido como el “*terroir* de la bodega”, una suerte de contaminación benigna por parte de levaduras concretas que marca con un carácter específico y definido a los vinos que van pasando por esas botas, a lo largo del lento proceso de las criaderas y la solera.

Esta influencia de las levaduras en el vino no se limita exclusivamente al efecto del velo en contacto con la superficie. No olvidemos que se trata de una matriz compuesta por millones de individuos que van naciendo y muriendo a lo largo del tiempo. Las levaduras muertas caen al fondo de las botas, creando un sedimento de enorme importancia: las llamadas “cabezuelas”. Estas células muertas se van lentamente lisando y liberando elementos de muchísimo interés: vitaminas, aminoácidos, proteínas, enzimas, etc., que aportan al vino una riqueza de matices extraordinaria.

También la edad de las colonias de levaduras influye en el aspecto morfológico del velo de flor. En los mostos o vinos jóvenes la flor presenta un aspecto muy blanco, pujante y grueso. Es evidente que las levaduras tienen todos los nutrientes que necesitan y desarrollan su metabolismo con el ímpetu de la juventud. Pero a medida que los años van pasando, en los niveles más avanzados del sistema de soleras, observamos que la flor va adquiriendo unas tonalidades más oscuras y un menor grosor. El sistema de criaderas y solera, con el permanente aporte de nutrientes procedentes de los vinos más jóvenes que representan los rocíos, contribuye al mantenimiento perenne del velo en todas las escalas del proceso de envejecimiento. Ahora bien, si la edad media de los vinos se prolonga en exceso, bien por una ralentización de las sacas o por un número de escalas muy alto, llega

un momento en el que los nutrientes terminan agotándose. La flor, ya muy liviana e incluso sumergida levemente en algunos momentos del año, no es capaz de evitar totalmente la progresiva oxidación del vino. Es el fin de la flor: el final de la crianza biológica y el nacimiento de otro tipo de evolución totalmente distinta para el vino, el envejecimiento oxidativo, que dará lugar a los vinos amontillados.

Bibliografía:

- Cantoral J.M.; M.E. Rodríguez. El singular mundo de las Levaduras Enológicas. SEM-Actualidad 49: 33-38. 2010
- Gustavo Cordero-Bueso, Marina Ruiz-Muñoz, Mónica González-Moreno, Salvador Chirino, María del Carmen Bernal-Grande and Jesús Manuel Cantoral. The Microbial Diversity of Sherry Wines. Fermentation 2018, 4(1), 19; doi:10.3390/fermentation4010019
- Marina Ruíz-Muñoz, Maria del Carmen Bernal-Grande, Gustavo Cordero-Bueso, Mónica González, David Hughes-Herrera and Jesús Manuel Cantoral. A microtiter plate assay as a reliable method to assure the identification and classification of the veil-forming yeasts during Sherry wines ageing. Fermentation 2017, 3(4), 58; doi:10.3390/fermentation3040058

Visita a la Bodegas Lustau. Jerez de la Frontera.

Cocktail de Bienvenida

Jueves, 7 de junio

**Mesa Redonda II:
Biotecnología Ambiental**

Moderador:
Dr. Santiago Gutierrez
Universidad de León

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Sesquiterpenos en el ciclo de vida del hongo fitopatológico *Botrytis cinerea*

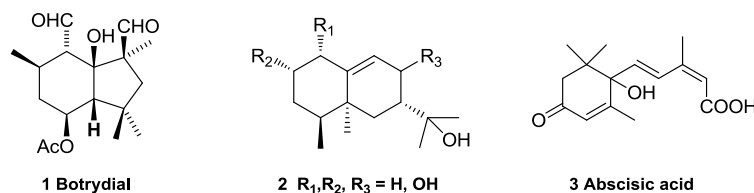
Isidro G. Collado

Universidad de Cádiz, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias,
11510 Puerto Real, Cádiz. España.

Email: isidro.gonzalez@uca.es

Botrytis cinerea es un hongo fitopatológico que afecta a más de 200 especies de plantas. Este hongo presenta diferentes estrategias para infectar a la planta huésped, por ejemplo, mediante la secreción de un amplio número de enzimas degradadoras de la pared celular, o la excreción de toxinas así como de otros metabolitos, incluyendo: péptidos no ribosomiales, policétidos y compuestos derivados de ácidos grasos, y terpenos.

Se ha descrito que *Botrytis* produce, al menos, tres familias de sesquiterpenos, botridial (**1**) y sus derivados, una nueva familia de eremofilenoles (**2**) y la fitohormona ácido abscísico (ABA) (**3**).



Botridial es una de las principales toxinas implicadas en el mecanismo de infección y su biosíntesis se ha completado recientemente. Además, se ha caracterizado una nueva familia de sesquiterpenos crípticos, con esqueleto de eremofilano, y se ha publicado el papel que juegan estos sesquiterpenos en el ciclo de vida de *B. cinerea*. En esta comunicación se discutirá algunos aspectos de la implicación de estos compuestos en la interacción planta-patógeno.

Por otro lado, durante los estudios de la biosíntesis de ABA se había identificado un cluster de cuatro genes responsable de la biosíntesis de esta fitohormona en *B. cinerea*. Sin embargo hasta ahora la sesquiterpeno ciclase (STC) implicada en la biosíntesis de ABA no había sido identificada y debería estar localizada en otra parte del genoma de *B. cinerea*. Un detallado estudio de la expresión de las STCs, (STC1-STC5) presentes en el genoma de *B. cinerea* y del metabolismo secundario de la cepa ATTCC G3, superproductora de ABA, así como de sus mutantes nulos y complementados nos ha permitido identificar la sesquiterpeno ciclase implicada en la biosíntesis de ABA y presentar una ruta biosintética avanzada del ácido abscísico.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Importancia de los terpenos producidos por *Trichoderma* en la interacción con plantas y hongos fitopatógenos

Santiago Gutiérrez.

Area de Microbiología, Universidad de León, Campus de Ponferrada.

Las especies de *Trichoderma* tienen potencial para producir gran variedad de metabolitos secundarios. Esta capacidad se sustenta en la existencia de numerosas agrupaciones “clusters” de genes implicados en la síntesis de este tipo de compuestos en los genomas de las especies pertenecientes a este género. Los compuestos de naturaleza u origen terpenoide se sintetizan a partir de diversos intermediarios de la ruta de biosíntesis del ergosterol (DMAPP, FPP, GGPP...), que a su vez es un compuesto (metabolito primario) esencial en la fisiología fúngica.

Las especies de *Trichoderma* pertenecientes al clade Brevicompactum son capaces de producir compuestos sesquiterpenoides conocidos como trichotecenos, y que en su mayoría se han considerado asociados a especies patógenas de plantas, entre ellas las que constituyen muchos de los cultivos más importantes desde el punto de vista agrícola, alimentario y por tanto económico, aunque también pueden provocar diversas patológicas en el ser humano y a todos los animales en los que se han ensayado, fundamentalmente cuando acceden a la cadena alimentaria, constituyendo por tanto un problema sanitario de primer orden. Entre los géneros productores de este tipo de compuestos se pueden destacar especialmente *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Trichothecium*, *Spicellum*, *Myrothecium* y *Microcyclospora*, todos ellos pertenecientes a la clase Sordariomycetes. Los trichotecenos descritos en *Trichoderma* son fundamentalmente el harzianum A (HA) y la trichodermina, producidos por ejemplo por *T. arundinaceum* y *T. brevicompactum*, respectivamente. Estos dos trichotecenos muestran unas actividades biológicas notablemente diferentes. Así, mientras la trichodermina muestra una elevada actividad fitotóxica, el HA carece de la misma cuando es ensayada *in vivo*. Aparte de ello, el HA es capaz de inducir la respuesta defensiva en plantas de tomate, sensibilizando a la planta para cuando entre en contacto con un hongo fitopatógeno (Ej. *Botrytis cinerea*), pero además es capaz de regular *in vitro* la expresión de genes de biosíntesis de botridial en el patógeno, mediante un cross-talk que se establece entre ambos hongos, y que permite la regulación cruzada de la síntesis de toxinas en ambos hongos. Por otro lado, también se ha observado que los niveles de ergosterol, así como de su precursor escualeno, en la membrana del hongo, afectan a su potencial de biocontrol, así como a su capacidad de favorecer el crecimiento e inducir las defensas de las plantas. Estos datos estarían de acuerdo con el papel de PAMP o MAMP (*pathogen- or microorganism-associated molecular pattern*) asignado al ergosterol en algunos hongos fitopatógenos. En la actualidad, se están llevando a cabo estudios para la identificación de los receptores específicos para estos MAMP en plantas de tomate y *Arabidopsis*.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Integración de procesos biológicos para la obtención de bioenergía y bioproductos a partir de subproductos y residuos.

Luis I. Romero¹; Kaoutar Aboudi¹; Jacinto Álvarez²; Carlos J. Álvarez¹; Ana Blandino¹; Gloria Bravo¹; Ildelfonso Caro¹; Ignacio de Ory¹; Ana B. Díaz¹; Luis A. Fdez-Güelfo³; Xiomara Gómez¹; Ana Malvis¹; Cristina Marzo¹; Diego Sales³

¹Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos. ²Instituto Universitario de Investigación Vitivinícola y Agroalimentaria (IVAGRO).

³Departamento de Tecnologías del Medio Ambiente.

Universidad de Cádiz. Email: luisisidoro.romero@uca.es

El tratamiento de residuos urbanos y de subproductos lignocelulósicos de industrias del sector agroalimentario puede acoplarse con la generación de energía, mediante la utilización de diferentes tratamientos biológicos, entre los que destaca la digestión anaerobia (DA). El proceso clásico de DA o digestión monoetapa, está mediado por una compleja microbiota, que se estructura en cuatro etapas secuenciales (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis) y que da lugar a la producción de un biogás rico en metano. No obstante, últimamente se ha prestado especial atención a la fermentación oscura o digestión anaerobia acidogénica (DAA), que es un proceso en el que se desarrollan únicamente las etapas hidrolítica y acidogénica de la digestión convencional, y son llevadas a cabo principalmente por bacterias de los géneros *Bacillus*, *Clostridium* y *Enterobacter*. Los productos que se obtienen, en este caso, son un biogás rico en hidrógeno, que está considerado el vector energético del futuro próximo, y un efluente rico en ácidos grasos volátiles (AGVs).

En el caso de los residuos complejos y/o sustratos lignocelulósicos, la DAA puede acoplarse con pretratamientos de índole biológica, mediados por hongos (con la posibilidad de obtención de enzimas hidrolíticas de interés industrial) o compost activo, que aceleran la degradación de los sustratos, ya que tienen una elevada capacidad hidrolítica.

Otro proceso que puede integrarse con la DAA es la producción de polihidroxialcanoatos (PHAs), que pueden ser utilizados en la generación de bioplásticos biobasados y biodegradables. Así, determinados microorganismos, como *Cupriavidus necator* o cultivos mixtos, tales como los lodos activos de EDAR, pueden metabolizar los AGVs generados en la DAA y, en condiciones de escasez de nutrientes (altas ratios C/N), acumular gránulos de PHAs como compuestos de almacenamiento.

La consecución de un proceso “residuo cero” puede alcanzarse mediante la integración del conjunto de bioprocesos anteriores con el proceso de compostaje, de forma que el digestato estabilizado de la DAA podría utilizarse como mejorador del suelo.

El proceso propuesto es sostenible, ayuda a disminuir la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) y, además, da lugar a la producción de los siguientes productos de interés: bioplásticos (PHAs), hidrógeno, enzimas hidrolíticas y compost.

Este trabajo ha sido financiado por la Agencia Estatal de Investigación (AEI) y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Proyecto CTM2016-79071-R. Los autores agradecen a la empresa Azucarera (AB Sugar) el suministro de muestras de subproductos.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Microalgae biotechnology for sustainable wastewater treatment.

José A. Perales¹ and Zouhayr Arbib²

¹ Department of Environmental Technologies, Instituto Universitario de Investigaciones Marinas (INMAR), Campus de Excelencia Internacional del Mar (CEIMAR), Universidad de Cádiz. Spain

Email: joseantonio.perales@uca.es

² Head of Sustainability. Area. AQUALIA. FCC Servicios Ciudadanos

There are a number of wastewater nutrient removal processes available. Some systems are designed to remove only nitrogen (i.e. Ludzack-Ettinger modified process) or phosphorous (i.e. precipitation with ferric salts), while others remove both (i.e. Bardenpho). Although these technologies have well a proven efficiency removing nutrients from wastewater, they consume significant amounts of energy and chemicals and therefore are costly.

More than 50 years ago, several authors (Oswald and Gotaas, 1957) suggested the use of microalgae for wastewater treatment; because of they are highly effective in reducing simultaneously nitrogen and phosphorous concentration in wastewater as well as raising the oxygen concentration in wastewater. Nevertheless the use of microalgae biotechnology in wastewater treatment is still not a technological alternative to conventional processes, Why?. In this work, advantages and disadvantages of microalgae biotechnology compared with conventional chemical and biological nutrient removal processes are analysed. Finally, some of the main gaps to be solved for the viability of microalgae biotechnology in wastewater treatment are outlined.

Biotechnología de microalgas para una depuración sostenible de aguas residuales urbanas.

Son diversos los procesos biológicos y químicos existentes para la eliminación de nutrientes (N y P) en aguas residuales, algunos diseñados para eliminar solo nitrógeno (por ejemplo el proceso Ludzack-Ettinger modificado) o fósforo (por ejemplo la precipitación con sales de hierro), mientras que mediante otros procesos, más complejos, es posible eliminar ambos nutrientes (por ejemplo el proceso Bardenpho). Aunque estas tecnologías tienen una eficacia probada en la eliminación de nutrientes de las aguas residuales, consumen cantidades significativas de energía y productos químicos y, por lo tanto, son muy costosas.

Hace más de 50 años, varios autores (Oswald y Gotaas, 1957) sugirieron el uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales; debido a que son altamente efectivas para reducir simultáneamente la concentración de nitrógeno y fósforo, así como para aumentar la concentración de oxígeno en las aguas residuales. Sin embargo, el uso de la biotecnología de microalgas en el tratamiento de aguas residuales aún no es una alternativa tecnológica a los procesos convencionales, ¿por qué? En este trabajo, se analizan las ventajas y desventajas de la biotecnología de microalgas en comparación con los procesos de eliminación de nutrientes químicos y biológicos convencionales. Finalmente, se plantean algunos de los principales retos a resolver para conseguir que la biotecnología de microalgas en el tratamiento de aguas residuales sea una realidad viable.

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

***Arthrocnemum macrostachyum* y su microbioma como herramienta biotecnológica para la remediación de suelos degradados**

Salvadora Navarro-Torre

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, C/Profesor García González, 2 41012, Sevilla, España

Email: snavarro1@us.es

A. macrostachyum es una planta halófila hiperacumuladora e hipertolerante al cadmio y podría ser usada como herramienta en fitorremediación. Esta planta crece de manera natural en las marismas del Odiel, un ecosistema contaminado con altos niveles de metales pesados. La degradación de estos ecosistemas tiene consecuencias ecológicas, agrícolas y para la salud humana. Durante este trabajo se aislaron un total de 48 bacterias (18 de la rizosfera de *A. macrostachyum* y 30 endofitos de esta misma planta) y todas ellas pudieron crecer en presencia de metales pesados y sal. Al menos una de las principales propiedades promotoras del crecimiento de la planta (PGP) estuvo presente en todas las bacterias aisladas y se observaron altos valores de estas propiedades. La presencia de metales pesados en el medio afectó a la producción de las propiedades PGP por las bacterias. Este efecto puede ser negativo o positivo, dependiendo del metal, la cepa y la propiedad PGP. Por otro lado, un alto número de estas bacterias aisladas podrían ser nuevas especies no descritas, por lo que estas cepas también fueron estudiadas.

Los resultados obtenidos sugieren que estas bacterias podrían promover el crecimiento de las plantas incluso en presencia de metales pesados y que el conjunto de planta y bacterias podría ser una interesante herramienta en fitorremediación. Por ello, se seleccionaron dos consorcios bacterianos formados por las mejores bacterias rizosféricas (CR) y los mejores endofitos (CE) base a su resistencia a metales pesados y a sus propiedades PGP. La cinética de germinación de semillas de *A. macrostachyum* se observó en presencia y ausencia de metales pesados usando estos dos consorcios. Por otro lado, a partir de semillas se diseñó un experimento en invernadero para investigar el papel de los consorcios en la capacidad de *A. macrostachyum* de captar y tolerar metales pesados cuando crece en sedimentos contaminados con metales. A las plantas se les realizaron tres tratamientos (inoculadas con el consorcio CR, inoculadas con el consorcio CE y sin inocular). Para empezar, la inoculación bacteriana aceleró la germinación de las semillas tanto en presencia como en ausencia de metales pesados. Ambos consorcios mejoraron la capacidad de *A. macrostachyum* para acumular iones en sus raíces y, además, también se amortiguaron los niveles de toxicidad. Las bacterias tuvieron un efecto beneficioso sobre el aparato fotosintético de las plantas, así como en la modulación de la maquinaria de estrés oxidativo. Estos resultados sugieren que la inoculación de *A. macrostachyum* con las bacterias seleccionadas podría favorecer el establecimiento y el crecimiento de esta planta en marismas contaminadas y mejorar la eficiencia de la remediación.

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

Producción microbiana de nanoestructuras de selenio: Biorremediación y recuperación del Se en el marco de la economía circular

Josemaría Delgado Martín, Miguel A. Ruiz Fresneda, Jaime Gómez Bolívar, María V. Fernández Cantos, Germán Bosch Estévez, Mohamed L. Merroun.

Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, Avenida del Hospicio s/n, ES-18071, Granada, España. Email: josemariadm93@gmail.com, mafres@ugr.es

El amplio uso antropogénico de compuestos de selenio representa la principal fuente de contaminación por este metaloide en todo el mundo, y causa problemas ambientales y de salud. Las estrategias basadas en el uso de microorganismos para la eliminación / recuperación de metales han recibido un interés creciente gracias a la asociación de la capacidad microbiana para desintoxicar ambientes tóxicos contaminados con metales con la producción de nanomateriales. Este subproducto de la remediación de contaminantes, en forma de nanomateriales de selenio, tienen amplias aplicaciones en industria, medicina, nutrición, biotecnología. Todo esto se encuadra dentro de un tema muy actual como es la “economía circular” lo que da valor tanto social/ecológico como económico de este proceso de bio remediación/recuperación de metales.

La cepa bacteriana *Stenonotrophomonas bentonitica*, aislada de bentonitas de Cabo de gata (Almería, España), ha demostrado previamente una gran capacidad para reducir diferentes especies de selenio como el selenito (SeIV), formando nanoestructuras con diferentes morfologías y propiedades cristalográficas.

En el presente trabajo se ha llevado a cabo la caracterización atómica y localización celular de estas nanoestructuras de selenio mediante técnicas microscópicas como STEM/HAADF (Microscopio electrónico de transmisión por barrido/ campo oscuro anular de alto ángulo), y Difracción de Rayos X (DRX) con el objetivo de determinar su potencial biotecnológico y sus consecuencias medioambientales. Además, la influencia de la materia orgánica bacteriana en la formación de dichas nanoestructuras fue analizada mediante ESEM (Microscopio electrónico de barrido ambiental). Se observó la síntesis de nanoesferas amorfas de entre 30-300nm tras 24h de incubación con la cepa bacteriana. Posteriormente, las nanoesferas se agregaron formando aglomerados tras 48h. A partir de 144h de incubación se apreció, además, la aparición de nanoestructuras monocristalinas y policristalinas de entre 30-400nm de diámetro. Se observó un aumento progresivo con respecto al del tiempo en la cantidad de nanoestructuras cristalinas con una morfología heterogénea (nanotubos, hexagonal, poligonal). En relación a estos resultados se sugiere la formación inicial de nanoesferas que progresivamente se transforman a estructuras cristalinas más estables a través de un proceso de aglomeración y reordenamiento atómico. Finalmente, la materia orgánica aportada por la bacteria podría provocar la aglomeración de las nanoesferas favoreciendo así la nucleación y crecimiento de estos cristales.

En conclusión, la formación de nanoestructuras tanto amorfas como cristalinas mediante la reducción de selenio, hace a *S. bentonitica* una potencial candidata para la síntesis verde de nanoestructuras de selenio con aplicaciones biotecnológicas, así como para la biorremediación de ambientes contaminados con selenio.

**Mesa Redonda III:
Biotecnología de levaduras**

Moderador:

Dr. Joaquín Ariño
Universidad Autónoma de Barcelona

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Formulación de fermentos innovadores para la obtención de panes más distintivos y saludables

Rosana Chiva¹, Marta Hoya¹, Nieves Olivares¹, José Antonio Uña², María Ángeles Santos² y Mercedes Tamame¹. Email: tamame@usal.es

¹Instituto de Biología Funcional y Genómica, IBFG, CSIC-Universidad de Salamanca.

²Departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca

Las propiedades del pan dependen de los microorganismos que fermentan las harinas y le confieren gran parte de sus características organolépticas y sensoriales. Desde inicios del siglo XX se ha impuesto el uso de levaduras comerciales, que facilitan fermentaciones rápidas y fabricar panes a gran escala reproducibles, aunque su calidad alimentaria está cuestionada.

Las masas madre de cultivo (MMC) derivan de fermentaciones espontáneas de harina y agua, tras incubarlas y mantenerlas en ciertas condiciones. En ellas se establecen comunidades simbióticas ricas y dinámicas de microorganismos beneficiosos: cepas de levaduras fermentativas del género *Saccharomyces* (LEV) con un origen filogenético distinto al de las levaduras comerciales, otras especies de levadura de uso no-convencional en panificación (ncLEV) y numerosas bacterias lácticas (BAL). Algunas cepas de esas especies aportan capacidad fermentativa, ciertos metabolitos y enzimas que dotan a los panes de MMC con características nutricionales, organolépticas y sensoriales muy apreciadas, en procesos más lentos que los que usan levadura comercial.

El interés por las MMC ha adquirido un renovado interés por las ventajas que confieren a productos elaborados con harinas sin gluten. Sin embargo, el uso de MMC viva a escala media o industrial tiene una serie de inconvenientes: mantenerlas sin perder las propiedades microbiológicas de la masa inicial madura, disponer de recursos para producirlas y conservarlas, libres de contaminaciones indeseables que pueden causar pérdidas económicas.

Una alternativa al uso de MMC en la industria panadera es formular nuevos *fermentos ó starter* que doten al pan de características deseables y similares a las que aporta una MMC dada de interés. Así, fermentos mixtos que combinen cepas específicas, aisladas de MMC seleccionadas, del tipo LEV, ncLEV y BAL, con propiedades bioquímicas y fisiológicas deseables, podrían facilitar el desarrollo de nuevos productos industriales de panificación de alta calidad nutricional, organoléptica y sensorial. Algunos de esos fermentos podrían personalizarse “a la carta”, para cada tipo de harina o proceso tecnológico, variando su fórmula y/o cepas. Nuestros proyectos persiguen (I) incrementar el repertorio y biodiversidad de las levaduras de panificación y (II) formular nuevos *Starters Vivos Mixtos (SVM)* combinando cepas seleccionadas de LEV, ncLEV y BAL, o bien nuevas cepas híbridas del género *Saccharomyces* obtenidas en el laboratorio, para desarrollar productos de panificación industrial singulares, más distintivos y saludables.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Estrés oxidativo y disponibilidad de nutrientes, factores clave en la eficiencia tecnológica de las levaduras vínicas

Emilia Matallana, Agustín Aranda, Nubia Grijalva, Cecilia Picazo, Max Torrellas, Beatriz Vallejo
Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, I2SysBio, Universitat de València-CSIC. Avda Agustín Escardino, 9. 46980 Paterna, Valencia
Email: emilia.matallana@uv.es

La investigación en nuestro laboratorio se centra en la caracterización de factores genéticos, metabólicos y ambientales que determinan la eficiencia de las levaduras vínicas a lo largo de sus diferentes usos biotecnológicos, tanto en la fermentación alcohólica del mosto como en la producción de biomasa seca activa como inóculo para la elaboración del vino. Dicha caracterización permite la selección de cepas adecuadas y el diseño de estrategias de mejora de su eficiencia tecnológica en los distintos procesos industriales [1].

De muchos de nuestros datos puede concluirse que el estrés oxidativo es la fuente más general de daños celulares a lo largo de todos los usos industriales de las levaduras vínicas, causando la oxidación de lípidos, ácido nucleicos y proteínas. Se ha descrito que la carbonilación y otras modificaciones oxidativas de proteínas producen pérdidas de actividad de varias enzimas fermentativas [2]. Más recientemente, hemos iniciado el estudio de los determinantes ambientales, fisiológicos, bioquímicos y genéticos del envejecimiento en la levadura de vino [3, 4] con el fin de desarrollar nuevas herramientas para la selección y mejora de las cepas de levaduras vínicas.

La disponibilidad de nutrientes es crítica para el rendimiento de la levadura, y particularmente la escasez de nitrógeno, que es la principal causa de paradas de fermentación, debido al contenido de nitrógeno variable y generalmente bajo en los mostos de uva. El estudio de la longevidad cronológica (CL) de diferentes cepas de levaduras vínicas mutantes en componentes clave de las vías de señalización de disponibilidad de nitrógeno en diferentes medios y condiciones ha permitido la identificación de nuevas conexiones genéticas y funcionales con componentes moleculares de la respuesta al estrés oxidativo.

Referencias

- [1] Gamero-Sandemetrio E, Gómez-Pastor , Matallana E. (2014) Predicting fermentative performance of dry active wine yeast from antioxidant defense parameters. *Biotech J*, 9:1055-1064.
- [2]. Gómez-Pastor R, Pérez-Torrado, Cabisco E, Ros J, Matallana E. (2012) Engineered Trx2p industrial yeast strain protects glycolysis and fermentation proteins from oxidative carbonylation during biomass propagation. *Microbial Cell Factories* 11:4.
- [3]. Orozco H, Matallana E y Aranda A. (2012) Oxidative stress tolerance, adenylate cyclase and autophagy are key players in yeast chronological life span during winemaking. *Appl Environ Microbiol* 78:2748-2757.
- [4]. Orozco H, Matallana E y Aranda A. (2012) Wine yeast sirtuins and Gcn5p control aging and metabolism in a natural growth medium. *Mech Ageing Dev* 133:348-358.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Adaptive mechanisms to high pH stress in *Saccharomyces cerevisiae*

Joaquín Ariño

Instituto de Biotecnología i Biomedicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Barcelona

Email: Joaquin.Arino@uab.es

Alkalinization of the medium represents a stress condition for the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In particular, uptake of many nutrients is perturbed by alkalinization of the environment and an impact on phosphate, iron/copper and glucose homeostatic mechanisms, affecting cell fitness can be observed. To cope with such stressful condition budding yeast responds with extensive remodeling of gene expression. This is the result of the modulation of a substantial number of signaling pathways whose participation in the alkaline response has been elucidated within the last years. Regulatory inputs involve not only the conserved Rim101/PacC pathway, but also the calcium-activated phosphatase calcineurin, the Wsc1-Pkc1-Slt2 MAP kinase, the Snf1 and PKA kinases and oxidative stress-responsive pathways [1, 2]. Analysis of available data highlights cases in which diverse signaling pathways are integrated in the gene promoter to shape the appropriate response pattern. Thus, the expression of different genes sharing the same signaling network can be coordinated, allowing functional coupling of their gene products. In my presentation I shall highlight a few examples of coordinated response that allows yeast cells to survive under such unfavorable conditions.

References

1. Serra-Cardona A, Canadell D, Arino J. (2015) Coordinate responses to alkaline pH stress in budding yeast. *Microb. Cell.* 2: 182-196.
2. Canadell D, García-Martínez J, Alepuz P, Pérez-Ortín JE, Ariño J. (2015) Impact of high pH stress on yeast gene expression: A comprehensive analysis of mRNA turnover during stress responses. *Biochim. Biophys. Acta - Gene Regul. Mech.* 1849:653-64.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Using fission yeast to study oxidative stress in toxicity and signalling

Elena Hidalgo

Universitat Pompeu Fabra, Barcelona

Email: Elena.hidalgo@upf.edu

Hydrogen peroxide (H_2O_2) can be toxic but it also participates in signalling processes. Regarding toxicity, H_2O_2 can interact with most biomolecules, and cysteine (Cys) residues in proteins are among the targets. The aminoacid Cys is not very abundant, but it is over-represented in active sites of enzymes. Oxidation of Cys residues in proteins by H_2O_2 can lead to their inactivation. H_2O_2 reacts poorly with Cys residues, but when the oxidant concentration is high/toxic then this inactivation can occur. Regarding signalling, some antioxidant cascades sense moderate fluctuations of peroxides by means of H_2O_2 -dependent protein sensors, containing reactive Cys residues called thiol switches, which oxidation leads to a gain-of-function of the protein. In both cases, Cys oxidation linked to toxicity or to signalling, the cellular redoxin systems recycle oxidized thiols to their reduced form. The transcription factors OxyR from bacteria and Pap1 from fission yeast sense H_2O_2 fluctuations directly or through the scavenger Tpx1, respectively. The biological significance of these two different signalling modes, based on one or two-components, is not fully understood, and the concentrations and peroxides driving those types of redox cascades have not been determined, nor the intracellular H_2O_2 levels linked to toxicity. We will talk about these essential issues in redox biology and in aerobic metabolism.

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

La ruta de señalización de la calcineurina como posible diana en la terapia antifúngica

Victor Arribas, Rebeca Martín-García, Pedro M. Coll, Juan C. Ribas y Pilar Pérez
Instituto de Biología Funcional y Genómica, Consejo Superior de Investigaciones Científicas and Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca. Salamanca, Spain.
Email: piper@usal.es

La pared de las células fúngicas es una estructura esencial para estos organismos que está ausente en las células de mamíferos, por lo que representa un objetivo útil en el descubrimiento de fármacos selectivos para el tratamiento de infecciones fúngicas sin causar toxicidad al huésped. Aunque los hongos presentan una considerable diversidad en la estructura de su pared celular, el β (1,3)-glucano, es un componente estructural presente en la pared celular en todos ellos. Tres inhibidores de la síntesis de β -glucano, de la familia de las equinocandinas están disponibles comercialmente: caspofungina, micafungina y anidulafungina, y nuevas clases de inhibidores de la síntesis de la pared celular se están investigando. La calcineurina ha sido identificada como uno de los reguladores importantes de la homeostasis del calcio intracelular en varios hongos y es un factor de virulencia en hongos patógenos. Además, la resistencia a determinados antifúngicos se ha relacionado con las rutas de señalización de la calcineurina. Así, los inhibidores de la calcineurina potencian el efecto de antifúngicos que inhiben la biosíntesis pared y pueden incluso suprimir la resistencia a dichos antifúngicos. En consecuencia, la inhibición de la señalización de calcineurina es una nueva estrategia antifúngica que atenúa la virulencia y aumenta la eficacia de los antifúngicos existentes.

Utilizando como modelo *Schizosaccharomyces pombe* que es un hongo unicelular de forma cilíndrica que se divide por fisión, hemos estudiado el papel de la calcineurina en la citocinesis. En las células fúngicas este proceso requiere la formación de un septo a la vez que se produce la constricción del anillo de actomiosina y la ingresión de la membrana. El septo de división de *S. pombe* incluye un septo primario formado por β (1,3) glucano lineal, que es sintetizado por la enzima Bgs1 y un septo secundario que contiene β (1,3) glucano ramificado y α -glucano sintetizados por Bgs4 y Ags1, respectivamente. Nuestros hallazgos establecen que la proteína adaptadora paxilina es un componente crucial de la vía de señalización de la calcineurina y que esta fosfatasa regula la citocinesis en colaboración con la glucan sintasa Bgs1 que forma el septo primario. La paxilina es requerida para la localización de la calcineurina en el anillo de actomiosina y este papel podría estar conservado en otros hongos.

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

Levaduras aisladas de la vid silvestre y diferentes sistemas de cultivo del viñedo como estrategia para el biocontrol de hongos fitopatógenos

Gustavo Cordero-Bueso¹, Nicola Mangieri², Roberto Foschino², David Maghradze³, Marina Ruiz-Muñoz¹, Jesús Manuel Cantoral¹, Ileana Vigentini².

¹Universidad de Cádiz, ²Universidad de Milán, ³Universidad Agraria de Georgia.

Email: gustavo.cordero@uca.es; Ileana.vigentini@unimi.it

El incremento en los niveles de residuos tóxicos en el medio ambiente y en la cadena alimentaria, ha llevado potencial antagónico de levaduras aisladas a partir de uvas de vid silvestre (*Vitis vinifera* ssp. *Sylvestris* Gmelin, Hegi) contra tres de los hongos fitopatógenos que más daño causan en la agricultura y productos cosechados y almacenados; *Botrytis cinerea*, *Aspergillus carbonarius* y *Penicillium expansum*.

El aislamiento de las levaduras se llevó a cabo en relictos de vid silvestre de España, Italia, Georgia, Azerbayán y Rumanía, además de en viñedos del Norte de Italia con tres sistemas de producción (ecológicos, biodinámicos y convencionales). La selección de las cepas de levaduras con alto potencial antifúngico se realizó mediante experimentos *in vitro* e *in vivo*. Aquéllas más efectivas se analizaron posteriormente para determinar su capacidad de colonizar nuevos ambientes, especialmente los racimos de uva. También se investigaron los posibles modos de acción antifúngica de las levaduras, como la competencia por los nutrientes y por el espacio, competencia por el hierro como fuente de energía, secreción de enzimas degradadoras de la pared celular de los hongos filamentosos, sustancias antimicrobianas difusibles y volátiles o la formación de biopelículas.

Se aislaron doscientas treinta y una cepas de levadura pertenecientes a 26 especies diferentes; 20 de ellas, atribuidas a ocho géneros diferentes, mostraron una acción antagónica contra todos los hongos fitopatógenos estudiados. Las levaduras aisladas de *V. vinifera* ssp. *sylvestris* fueron más efectivas (hasta 50%) contra *B. cinerea* que las aisladas de *V. vinifera* ssp. *vinifera*. Seis cepas, todas ellas aisladas de vides silvestres, pertenecientes a cuatro especies (*Meyerozyma guilliermondii*, *Hanseniaspora uvarum*, *Hanseniaspora clermontiae* y *Pichia kluyveri*) revelaron una o más características fenotípicas asociadas a los modos de acción analizados. Actualmente estamos incrementando la colección de levaduras aisladas de ambientes naturales y llevando a cabo más estudios para definir los diferentes modos de acción en profundidad y aplicarlos en experimentos de campo.

Este trabajo ha sido financiado por el programa Andalucía Talent-Hub (Cofund FP7 MSCA) GA 291780 y el proyecto FP7-People-2013-IRSES (YesVitE 612441).

[1] Cordero-Bueso y col. (2017). *Frontiers in Microbiology* 8, 2025. doi: 10.3389/fmicb.2017.02025

Los drones como herramientas de investigación de sistemas naturales en el siglo XXI: presente, futuro y más futuro

Luis Barbero, Juan Antonio López-Ramírez, Lara Talavera y Pedro Zarandona
Servicio de Drones, Universidad de Cádiz, CASEM, 11510 Puerto Real (Cádiz),
España
Email: servicio.drones@uca.es

El uso de los drones se ha popularizado de una forma creciente en los últimos 5 años, como es fácilmente constatable leyendo la prensa o escuchando y viendo los informativos de radio y televisión. Siendo una tecnología que tiene ya muchos años, el abaratamiento por un lado y la miniaturización por otro de los componentes de un dron ha provocado que los precios de adquisición de estos equipos estén al alcance de casi cualquier persona. No obstante, esta popularización de los drones ha llevado a generar en el gran público, unas expectativas de empleo o de mercado que quizá no se han visto totalmente satisfechas por varios motivos entre los que podríamos citar: (1) la alta especialización del sector; (2) la elevada regularización sobre su uso profesional; (3) la rápida evolución de los equipos y (4) la gran competencia existente.

Sin embargo, el caso de la investigación es algo diferente pues no se ve afectado por todos los motivos anteriores, sino fundamentalmente solo por los aspectos regulatorios. Para un investigador, los drones (RPAS en la nomenclatura oficial más extendida, *Remotely Piloted Aerial System*), son solo plataformas aéreas en las que se pueden instalar sensores de todo tipo, fundamentalmente sensores que trabajan en el espectro visible, cámaras multispectrales, hiperespectrales y térmicas, que permiten observar los sistemas naturales desde una perspectiva, que, si no es totalmente nueva, si que se ha hecho tremendamente accesible. Desde hace ya bastantes años, los investigadores de todos los campos han usado imágenes de satélites e imágenes obtenidas usando medios aéreos tradicionales (aviones o helicópteros). Los elevados costes del alquiler de estos medios así como de los sensores embarcados, la baja resolución temporal de los datos obtenidos (por motivos fundamentalmente económicos pero también operacionales (no es fácil disponer para su uso de un avión o un helicóptero en cualquier momento) y, en muchas ocasiones, una resolución espacial no lo suficientemente detallada, han creado un nicho muy importante a los RPAS, hablándose ya claramente de una nueva disciplina denominada, de forma algo contradictoria, *low altitude remote sensing* o teledetección a baja altitud.

Las aplicaciones son enormes y casi sería más rápido preguntarse, qué no se puede hacer en el campo de la investigación en ciencias de la naturaleza con un dron. Existen importantes aplicaciones en el mundo de la agricultura de precisión; en el campo de la ecología y la biología las aplicaciones son innumerables (censos de animales, cartografía de especies vegetales invasoras, localización de zonas de cría, por citar algunas); en el campo de la geología existen aplicaciones variadas tales como estudios geomorfológicos (deslizamientos de laderas por ejemplo), cartografía semiautomática, dinámica de sistemas costeros, geotermalismo, glaciología, y un largo etcétera. En oceanografía se pueden realizar estudios de turbulencia, descargas de contaminantes o aguas subterráneas al medio costero, etc.

I

**Mesa Redonda IV:
Microbiología molecular y farmacéutica**

Moderador:

Dr. Joaquín Ariño
Universidad Autónoma de Barcelona

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Interacción de sistemas CRISPR-Cas de diferentes tipos en la defensa frente a fagos

Patricia Lucas-Elio¹, Sukrit Silas², Andrew Z. Fire² & Antonio Sánchez-Amat¹

¹ Departamento de Genética y Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia.² Department of Pathology, Stanford University (USA) E.mail: antonio@um.es.

Los sistemas CRISPR-Cas son sistemas adaptativos que permiten a los procariotas defenderse de elementos invasivos extraños como bacteriofagos y plásmidos. En una primera exposición, un fragmento del material genético del elemento extraño es insertado como un nuevo espaciador en el locus CRISPR que está constituido por secuencias repetidas cortas separadas por espaciadores. La transcripción y procesamiento del locus CRISPR generará pequeños fragmentos de RNA (crRNA) que, ante una nueva invasión del elemento extraño, dirigirán a proteínas Cas para su degradación. La adaptación de estos sistemas para la manipulación genética de organismos superiores ha constituido una de las mayores revoluciones en el campo de las ciencias biológicas.

El análisis de genomas bacterianos ha revelado una amplia diversidad de tipos de sistemas CRISPR-Cas que difieren fundamentalmente en el tipo de proteínas Cas que llevan a cabo las diferentes etapas de la inmunización. Actualmente se reconocen 6 tipos que se subdividen en numerosos subtipos. En algunos microorganismos se ha descrito la coexistencia de diferentes tipos, sin que en la mayor parte de los casos se conozca qué tipo de ventaja aporta este hecho. La bacteria marina *Marinomonas mediterranea* MMB-1 posee dos tipos de sistemas CRISPR-Cas. Uno de ellos, de tipo III-B, es el primer sistema descrito que permite adquirir espaciadores a partir de RNA (1). El otro sistema es de tipo I-F. El aislamiento de fagos de la familia *Podoviridae* capaces de infectar a *M. mediterranea*, ha revelado que ambos sistemas cooperan en la eliminación de estos fagos (2). El sistema I-F posee dos espaciadores que reconocen a los podovirus aislados. Aunque el procesamiento de los crRNA es independiente en los dos sistemas, el sistema III-B es capaz de utilizar no solo crRNAs propios, sino también crRNAs generados por el sistema I-F. Esta capacidad permite que virus que sufren mutaciones puntuales, con las que escapan del sistema I-F, sean degradados por el sistema III-B, que tiene un sistema de reconocimiento de elementos extraños con ciertas diferencias. Este estudio constituye un ejemplo novedoso de la denominada “carrera armamentística” (*arms race*) que tiene lugar en la interacción entre procariotas y virus que los infectan, con el desarrollo de sistemas de evasión de unos frente al ataque de otros.

(1)Silas, S., Mohr, G., Sidote, D.J., Markham, L.M., Sanchez-Amat, A., Bhaya, D., Lambowitz, A.M., and Fire, A.Z. (2016) Direct CRISPR spacer acquisition from RNA by a natural reverse transcriptase-Cas1 fusion protein. *Science* 351:aad4234.

2) Silas, S., Lucas-Elio, P., Jackson, S.A., Aroca-Crevillen, A., Hansen, L.L., Fineran, P.C., Fire, A.Z., and Sanchez-Amat, A. (2017) Type III CRISPR-Cas systems can provide redundancy to counteract viral escape from type I systems. *eLife* 6:e27601 DOI: 10.7554/eLife.27601

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

**Producción de esteroides mediante *Mycobacterium*:
Análisis ómicos del proceso y su resistencia**

Carlos Barreiro^{1,2}, Esmeralda Cebrián-Sastre¹, Inés Vázquez-Iglesias¹, Antonio Rodríguez-García^{1,2}, Alberto Sola-Landa¹.

1) INBOTEC (Instituto de Biotecnología de León). Parque Científico de León. Avda. Real, 1. 24006 León (Spain). 2) Área de Microbiología. Dpto. Biología Molecular. Universidad de León.

Email: carlos.barreiro@inbiotec.com / c.barreiro@unileon.es

La bioconversión de fitosteroles, compuestos similares al colesterol humano y al ergosterol de hongos, en precursores esteroideos es un proceso biotecnológico que permite la producción de esteroides de uso clínico (testosterona, drospirenona, hidrocortisona). Los fitosteroles son una fuente relativamente barata del esqueleto carbonado necesario para la producción de esteroides y a su vez unas estructuras difícilmente degradables por microorganismos. Dentro de las especies degradadoras encontramos micobacterias de crecimiento rápido como '*Mycobacterium neoaurum*' NRRL B-3805. Esta es una cepa mutante obtenida mediante radiación UV a partir de un aislado natural del suelo capaz de degradar la cadena lateral de los fitosteroles y producir el precursor esteroideo androsta-4-en-3,17-diona (AD). El genoma completo de esta especie ha sido publicado recientemente por nuestro grupo (PMID: 26988397), lo que ha permitido avanzar mediante técnicas ómicas (RNAseq y proteómica) en los mecanismos implicados en la producción de esteroides y la resistencia a producto final.

En el caso del análisis de rutas de producción, *M. neoaurum* NRRL B-3805 se cultivó en medio definido con la adición de glicerol o glicerol más esteroides (fitosteroides o colesterol) como fuentes de carbono. Para el análisis de los mecanismos de resistencia a producto final se utilizaron los esteroides AD o ADD (androsta-1,4-dien-3,17-diona). Los análisis proteómicos se realizaron mediante 2D-DIGE con los proteomas intra- y extra-celulares. Así, se observó que la categoría metabólica con una mayor inducción fue la relacionada con el metabolismo y el transporte de lípidos; mientras que entre las reprimidas destacaron las proteínas implicadas en la producción y conversión de energía. Por su parte, el análisis mediante RNAseq sirvió para identificar las regiones transcritas del genoma, los inicios de transcripción de los diferentes operones y para diseñar *microarrays* específicos de *M. neoaurum* NRRL B-3805. Como resultado se han detectado perfiles de expresión dependientes de la adición de esteroides, así como algunos específicos del esteroide añadido.

Todo ello forma parte de los desarrollos del proyecto Syntheroids (*Synthetic biology for industrial production of steroids*; @Syntheroids) de la convocatoria ERA CoBioTech financiada a través de MINECO (Ministerio de Economía, Industria y Competitividad) y CDTI (Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial).

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Aplicación de la minería genómica en *Streptomyces* al descubrimiento de nuevos metabolitos secundariosCarmen Méndez ^{a,b,c}^aDepartamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo (Asturias), Spain.^bInstituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (I.U.O.P.A), Universidad de Oviedo, Oviedo (Asturias), Spain.^cInstituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (IISPA), Oviedo, Spain

Email: cmendezf@uniovi.es

La gran mayoría de los compuestos bioactivos utilizados en medicina, veterinaria o agricultura, son compuestos naturales o análogos de los mismos. Esto se debe fundamentalmente a que éstos poseen una gran diversidad estructural que les confieren propiedades químicas imposibles de conseguir mediante la química sintética. Aunque el número de fármacos existentes en el mercado es elevado, sigue habiendo necesidad de nuevos compuestos bioactivos y/o que puedan servir de base para la generación de análogos más interesantes. Los estreptomicetos son un grupo de actinobacterias filamentosas conocidos por su importancia como productores de compuestos bioactivos (metabolitos secundarios): tradicionalmente, cualquier cepa de *Streptomyces* era conocida por producir uno o unos pocos metabolitos secundarios. Sin embargo, desde que se secuenciaron los primeros genomas de *Streptomyces* se ha puesto de manifiesto que sus genomas contienen un número muy elevado de agrupaciones de genes de biosíntesis (BGC) sin explorar, lo que incrementa enormemente su potencial capacidad como productor de metabolitos secundarios. La búsqueda de nuevos BGCs (*genome mining*) se ha convertido en una nueva y rápida estrategia para descubrir metabolitos secundarios. Curiosamente, estos BGCs no se expresan o lo hacen muy poco en condiciones de cultivo estándar de laboratorio, por lo que se han desarrollado diversas estrategias para activarlos y/o mejorar su expresión.

Streptomyces argillaceus es conocido por ser productor del antitumoral mitramicina. Recientemente, tras haber secuenciado su genoma, se han podido identificar 31 BGCs para metabolitos secundarios, ninguno de los cuales se había detectado previamente en cultivos de laboratorio. Algunos de estos BGCs mostraban alta similitud con BGCs de otros estreptomicetos, mientras que otros sólo contenían algunos genes homólogos presentes en otros microorganismos. Esta ponencia tratará sobre las distintas estrategias que se han utilizado para activar dichos BGCs e identificar los compuestos codificados por las mismas, que incluyen el uso de aproximaciones tanto nutricionales como genéticas (sobreexpresión/inactivación de genes reguladores específicos/globales; expresión heteróloga del BGC), como una combinación de ambas.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Análisis transcriptómico de la utilización de pectina en *Aspergillus nidulans*

Margarita Orejas y Andrew MacCabe

Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), c/ Catedrático Agustín Escardino Benlloch 7, Paterna (Valencia)

Email: morejas@iata.csic.es; andrew@iata.csic.es

La pared celular de las plantas no sólo desempeña un importante papel estructural y fisiológico sino que además proporciona un mecanismo de defensa frente a patógenos y es fuente de nutrientes para los microorganismos, incluidos los hongos. La pectina es un polisacárido complejo, presente en las paredes celulares de las plantas, compuesto a su vez por varios polisacáridos: homogalacturonano (HG), xilogalacturonano (XG) y los ramnogalacturonanos (RG) I y II. Los azúcares pécticos, incluidos los de la cadena principal L-ramnosa y ácido D-galacturónico, pueden ser utilizados por muchos hongos como fuentes de carbono y energía. Además, estos monosacáridos actúan como moléculas señalizadoras necesarias para coordinar la respuesta transcripcional que permite la utilización de este heteropolisacárido. Debido su complejidad, una hidrólisis total de la pectina requiere de la acción secuencial de numerosas enzimas que actúan tanto en la cadena principal ('pectinasas') como en las ramas laterales ('enzimas accesorias'). Usando *Aspergillus nidulans* como modelo genético, estamos estudiando cómo los hongos filamentosos responden y utilizan pectina y monosacáridos pécticos. Para este fin, se están realizando estudios de expresión global en diferentes condiciones de crecimiento y distintos fondos genéticos. Los análisis de RNA-Seq revelan que: (i) la regulación de la maquinaria pectinolítica es un proceso altamente coordinado, (ii) la L-ramnosa induce la síntesis de enzimas apropiadas para la degradación del RGI, y (iii) los reguladores transcripcionales RhaR y PecR tienen funciones clave en la degradación/utilización de los polisacáridos pécticos RGI y RGII, respectivamente. Estos análisis transcriptómicos también están permitiendo conocer nuevos elementos potencialmente relevantes tanto en el transporte de azúcares pécticos como de su catabolismo. La caracterización de estos genes estructurales, así como la de los reguladores *rhaR* y *pecR*, va a permitir modular de manera racional la producción de enzimas que actúan sobre pectina.

Estudio financiado por el proyecto AGL2015-66131-C2-2R (MINECO/FEDER)

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Producción biotecnológica de esteroides

José-Luis Barredo.

Department of Biotechnology. Crystal Pharma. A Division of Albany Molecular Research Inc. (AMRI). Parque Tecnológico de León. C/ Nicostrato Vela s/n, 24009 León, Spain

Email: joseluis.barredo@amriglobal.com

Crystal Pharma SAU. León

Steroids are used to treat and prevent diseases in such relevant clinical fields as endocrinology, oncology, rheumatology, or gynecology. Some years ago, the main process of steroid production consisted on the use of diosgenin as a starting material for chemical synthesis reactions. The difficulty of sourcing of this raw material and its increasing price led to the development of biotechnological processes of steroid production. The phytosterol molecules are structurally related to steroids, which facilitates the design of bioconversion processes of phytosterols using microorganisms. These bioconversion processes, coupled to downstream processes, are commercially competitive for the production of steroid intermediates, including androstenedione (AD), androstadienedione (ADD) and 9-hydroxy-androstenedione (9-OH-AD), intermediates used for the chemical synthesis of testosterone, estrone and hydrocortisone, respectively.

Since Synthetic Biology approaches have hardly been applied for the construction of strains useful for these industrial bioconversion processes, we are involved as a partner in the ERA-COBIOTECH European Project entitled “Synthetic biology for industrial production of steroids” (acronym SYNTHEROIDS), supported by CDTI and MINECO, which started in May 2018.

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

Efecto de la sobreexpresión de los genes SCO4441 y SCO4442 sobre la producción de antibióticos en *Streptomyces*

Ramón. I. Santamaría¹, Laura Sevillano¹, Ignacio González², Jesús Martín², Olga Genilloud², Margarita Díaz¹.

¹Instituto de Biología Funcional y Genómica. CSIC/Universidad de Salamanca. C/Zacarías González nº 2. 37007 Salamanca. ²Fundación MEDINA, Parque Tecnológico Ciencias de la Salud, Avda Conocimiento 34, 18016 Granada.

Email: santa@usal.es

Todas las bacterias secuenciadas del género *Streptomyces* poseen en su genoma información genética para producir más de 20 compuestos con actividad antibiótica de los que únicamente una pequeña parte es producida en las condiciones de cultivo empleadas en los laboratorios. El activar estas rutas silenciadas ha atraído a gran número de investigadores y son variadas las estrategias abordadas para intentar su activación sin que hasta la fecha se haya encontrado una estrategia general para activarlas.

Nuestro grupo está estudiando la regulación que ejercen varios sistemas de dos componentes (SDC) así como proteínas de unión a DNA sobre la producción de antibióticos empleando como organismo modelo *Streptomyces coelicolor*.

Una de estas proteínas es la codificada por el gen *SCO4441* que es una proteína de 295 aminoácidos con un dominio HTH-Xre y que se ha propuesto que forma parte de un sistema toxina-antitoxina junto con el gen codificado por *SCO4442* que codifica una proteína de 63 aa con un dominio DUF397. En este sistema la primera proteína actuaría como antitoxina y la segunda sería la toxina (Shao, 2011).

La sobreexpresión individual o conjunta de estos genes bajo el control de un promotor fuerte demostró la sobreexpresión de la toxina no tenía un efecto tóxico en las condiciones de cultivo ensayadas. Sin embargo, la sobreexpresión de la antitoxina o de ambos genes en conjunto conllevaba un elevado incremento en la producción de los antibióticos coloreados producidos por *S. coelicolor*.

Actualmente hemos extendido este estudio a otras especies en las que hemos sobreexpresado estos genes y analizado su efecto en la producción de antibióticos.

Referencia:

Shao, 2011, *Nucleic Acids Research*, 39, D606–D611

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

Mejora de la eficiencia del sistema CRISPR/Cas9 en *Streptomyces tsukubaensis* mediante la expresión inducible de *cas9* por teofilina

María Teresa López-García, María del Rosario Pérez-Redondo, Miriam Castro-Mariñas, Marta Crespo Sánchez, José Manuel Murciego Copete, Antonio Rodríguez-García

Instituto de Biotecnología de León INBIOTEC. Avenida Real 1. 24006 León

Email: maite.lopez@inbiotec.com

Streptomyces tsukubaensis se utiliza industrialmente para la producción del inmunosupresor tacrolimus (FK506). Recientemente, se han descubierto derivados de FK506 con una interesante aplicación clínica como antidepresivos. El proyecto TACRODRUGS (<http://www.era-ib.net/tacrodrugs>), junto con otros objetivos, busca producir estos nuevos compuestos modificando la agrupación génica *fkf* (de FK506 *biosynthesis*). Para esto, es necesario delecionar la agrupación original e introducir en su lugar la agrupación modificada.

Streptomyces tsukubaensis es una de las especies del género *Streptomyces* más difícil de manipular genéticamente. En los últimos años, han surgido nuevas herramientas de edición genética basadas en el sistema CRISPR-Cas9 y adaptadas para su uso en *Streptomyces*, como pCRISPomyces-2 (Cobbs y col., 2015). En este trabajo se ha modificado el plásmido pCRISPomyces-2 para aumentar su eficacia en la obtención de mutantes en *S. tsukubaensis* y se ha probado la modificación para la delección de la agrupación *fkf*.

El plásmido pCRISPomyces-2 presenta una baja eficiencia de conjugación, probablemente debido a la toxicidad que genera la alta expresión del gen de la endonucleasa Cas9. Por ello, se ha sustituido el promotor fuerte y constitutivo que controla la expresión de *cas9* por un promotor inducible por teofilina. El plásmido resultante, pCRISPomyces-ptc, aumenta aproximadamente 40 veces la eficiencia de conjugación con respecto al plásmido original.

A partir de pCRISPomyces-ptc, se ha construido el plásmido pCRISP-ptc- Δ fkf. Tras su conjugación y la posterior inducción de Cas9 por teofilina en los conjugantes, se han obtenido 3 mutantes Δ fkf. En estos mutantes se ha delecionado la agrupación de biosíntesis de FK506 (85 kb) e insertado, en su lugar, una secuencia (115pb) con un sitio de integración para el fago phiC31 que facilitará futuras inserciones. La correcta delección de la agrupación y la secuencia de los mutantes se ha comprobado por PCR y por secuenciación masiva (Illumina).

Referencia:

Cobb, R.; Wang, Y.; Zhao, H. High-efficiency multiplex genome editing of *Streptomyces* species using an engineered CRISPR/Cas system. 2015. ACS Synth. Biol. 4, 723-728.

Visita a Cádiz (Santa Cueva)

Un pequeño recorrido por Cádiz

Luisa Fernández-Trujillo Núñez
Voluntaria Pastoral del Arte

Para muchos la llegada a la ciudad de Cádiz desde el mar era algo asombroso, instalada en una pequeña península, lugar destacado desde la antigüedad por su posición privilegiada, fenicios, romanos, visigodos, musulmanes, se encontraban entre sus pobladores con mayor o menor fortuna y tras varios siglos de olvido, convertida en uno de los puertos estratégicos de la flota española con gran influencia comercial, sufrió ataques y saqueos, destacando el asalto anglo-holandés de 1596, punto de inflexión del Cádiz actual, ya que Felipe II meditó abandonar la reconstrucción de la ciudad y trasladar su población a la cercana población del Puerto de Santa María, finalmente se tomó la decisión de reconstruirla y se fortificó iniciando la construcción de las actuales murallas, seña de identidad de la ciudad.

Tras el traslado en el siglo XVIII de la Casa de Contratación de Sevilla a Cádiz, la ciudad fue ganando en prestigio y reconocimiento, haciéndole recuperar el esplendor perdido que no solo se hizo notar en el comercio sino que hizo renacer un nuevo espíritu socio-político, no olvidemos que fue la cuna de la I Constitución española. Su resurgir científico, ya destacó durante el imperio romano con una figura como Columela autor del tratado "Res rustica" sobre estudios agrónomos de gran importancia para el imperio romano, en 1748 se crea en Cádiz el Real Colegio de Cirugía de la Armada creado por Pedro Virgili, Celestino Mutis y sus estudios sobre Botánica, y fue lugar de inicio de la expedición científico política "Malaspina".

Además de artística con la construcción de bellos edificios civiles como es el Edificio de la Aduana (actual Diputación) de carácter sobrio pero elegante, Casas-Palacios, Ayuntamiento, el Antiguo Hospital de Mujeres (actual sede del Obispado de Cádiz), edificio barroco civil de gran belleza y que guarda entre sus paredes la obra de El Greco "La Visión de San Francisco" una de las obras más bellas del autor. No podemos dejar escapar la Casa de la Contaduría (actual Museo de la Catedral) con su patio Mudéjar, único aún conservado en Cádiz, la Cárcel Real, la Torre Tavira, el Teatro Romano considerando el segundo más grande de la antigua Hispania entre otros monumentos.

Y religiosos, al convertirse la ciudad en puerto de origen hacia América, hizo que en el pequeño espacio delimitado por nuestra geografía, se llegarán a concentrar distintas compañías religiosas que partían a evangelizar las nuevas tierras, dejando un patrimonio artístico plagado de Conventos, Iglesias, Oratorios y Capillas, sobresaliendo nuestra Catedral (*nueva*), construida a raíz del resurgir económico de la ciudad, realizando una bella transición del barroco al neoclásico sin romper una estética brillante, con su impresionante cúpula y una cripta, de arquitectura casi imposible, con una bóveda plana.

Nos centraremos en dos que destacan por su belleza artística y su importancia en nuestra historia.

El primero de ellos es el **“Oratorio de San Felipe Neri”**, templo de estilo barroco, erigido por los Padres Filipenses, y la elegante sencillez de su fachada, de planta elíptica sostiene una gran cúpula rodeada de tres balconadas, una capilla central donde se halla el Retablo Mayor de estilo barroco en madera dorada donde encontramos presidiéndolo una “Inmaculada” de Bartolomé Murillo, a decir de muchos una de las mejores del artista, y completada por seis capillas abiertas, destacando la “Antigua Capilla del Sagrario” realizada en Génova en mármol y jaspe, sostenida por estípites antropomorfos representando a ángeles y el Crucificado en actitud expirante, acompañado por San Bernardo, la Virgen Dolorosa, San Francisco de Asís y María Magdalena que destacan por su sobriedad y recogimiento. A la entrada del templo a la izquierda encontramos el alto relieve de la escuela sevillana del siglo XVII “La Adoración de los Reyes” que en su parte baja en una hornacina expone una cabeza de San Juan Bautista degollado, depositada sobre una bandeja, de gran realismo, y justo en frente un altorrelieve con “La Anunciación”.

Es aquí a dónde en Febrero de 1811, las Cortes españolas, se trasladan ante el avance del ejército francés desde la cercana Isla de León (actual San Fernando). Se decide escoger este lugar por ser idóneo por la ausencia de pilares y planta abierta muy parecida al Teatro de la Cortes de San Fernando, y donde jurada por los Diputados presentes, el 19 de marzo de 1812 se promulga la I Constitución Española, llamada “la Pepa” por celebrarse ese día la festividad de San José. Anexo al Oratorio nos encontramos con el Museo de las Cortes de Cádiz, que incluye una maqueta que representa la ciudad mostrando el urbanismo de la ciudad del siglo XVIII basada en un plano de 1749, realizada en distintas maderas y marfil.

El segundo edificio a destacar es el **“Oratorio de la Santa Cueva”**, singular edificio considerado uno de los grandes monumentos de España, cuya fachada exterior de estilo neoclásico, pasa desapercibida por su apariencia civil, salvo por la hornacina en la fachada a su derecha que contiene el cuadro de “Santa María del Refugio” no da la sensación de encontrarse ante un lugar religioso, consta de dos capillas, la baja o de “La Pasión” y la alta o “Sacramental” destaca en su construcción la distribución de los espacios que debemos a las magníficas manos de Cayón y su discípulo Benjumeda, se construyó por iniciativa del Marqués de Valdeñigo, con la participación de artistas como Gandulfo, Vaccaro, Riedmayer, Zacarías Gonzalez y José Camarón.

Un aspecto a destacar es el sentido teológico que lo acompaña, sobresaliendo el contraste entre el recogimiento sobrio de la capilla baja en planta de salón llena de espiritualidad dedicada a la Pasión, presidida únicamente por una gran Calvario en madera policromada como único entretenimiento a la vista. Es para este lugar que Franz Joseph Haydn compuso su obra sermón “Las Siete Últimas Palabras”. Y el carácter espectacular de la capilla alta del Santísimo Sacramento de planta ovalada llena de luz, color y hermosas obras de arte que hacen de la misma una joya artística de gran valor, presidido por un tabernáculo de mármol, jaspe y plata, cuya singularidad radica en su interior que copia a la capilla en su estructura, una cúpula con pinturas al fresco y cinco grandes lunetas realizadas en la técnica al óleo sobre lienzos que rodean la capilla, destacando entre ellos los realizados por Francisco de Goya, “La multiplicación de los panes y los peces”; “El convite real”; y “La última cena”, consideradas de las mejores obras de carácter religioso del autor, donde el recrea una atmósfera tenue que ayuda al visitante a entrar en la escena representada.

Viernes, 8 de junio

I

Mesa Redonda V: Tecnología Enzimática

Moderador:

Dr. Francisco Javier Pastor

Dra. María Enriqueta Arias

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Glicosidasas fúngicas: enzimas con gran potencial biotecnológico

Manuel Nieto-Domínguez, Juan Méndez-Liter, Laura I. de Eugenio, Alicia Prieto y María Jesús Martínez

Dirección: Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid

Email: mjmartinez@cib.csic.es

La biomasa vegetal, especialmente la que procede de residuos lignocelulósicos, ha cobrado gran interés en los últimos años por ser una materia prima renovable, que puede sustituir a los combustibles fósiles, para la producción de energía, calor, biocombustibles u otros productos químicos. En este sentido, cabe destacar que las enzimas son catalizadores eficaces, capaces de actuar sobre los diferentes componentes de la lignocelulosa para producir estos productos de alto valor añadido, sin generar residuos o subproductos indeseados que puedan tener un alto impacto ambiental.

Entre estas enzimas, las glicosidasas tienen un papel esencial para el aprovechamiento de la celulosa y hemicelulosa, polisacáridos que se encuentran en la pared celular vegetal y representan las mayores reservas de carbono de la biosfera. Actualmente existen cócteles enzimáticos para tratamiento de biomasa enriquecidos con α -glucosidasa y α -xilosidasa, enzimas clave para completar la hidrólisis de la celulosa y las hemicelulosas a azúcares fermentables para la producción de etanol 2G. Sin embargo, estas enzimas también pueden ser una alternativa para la síntesis estereo- y regio-selectiva de glicósidos con gran potencial biotecnológico.

En este contexto, estamos estudiando el sistema enzimático implicado en la degradación de la celulosa y hemicelulosa de *Talaromyces amestolkiae*, un ascomiceto aislado de residuos de cereales. El análisis del genoma de este hongo puso de manifiesto que tiene gran cantidad de genes relacionados con la degradación de los polisacáridos de la pared celular vegetal, incluso más que los encontrados en los genomas de *Trichoderma viride* y *Aspergillus niger*, cuyas enzimas se utilizan generalmente en cócteles para tratamiento de biomasa.

Hasta el momento se han caracterizado varias glicosidasas producidas por este hongo: i) dos $\square$ -1,4-endoglucanasas y una $\square$ -1,4-endoxilanasas, la última implicada en la producción de oligosacáridos, considerados potenciales prebióticos y ii) tres α -glucosidasas y una α -xilosidasa que, además de completar la hidrólisis de los celoo- y xilooligosacáridos hasta glucosa y xilosa, respectivamente, pueden llevar a cabo reacciones de transglicosilación. Estas reacciones han resultado ser especialmente interesantes porque pueden servir para sintetizar glicósidos con propiedades bioactivas. Su espectro de aplicaciones biotecnológicas se amplía más aún mediante la modificación de estas enzimas por técnicas de ingeniería genética, haciendo que la transglicosilación sea la reacción que catalizan predominantemente. Actualmente disponemos de las proteínas nativas y recombinantes, expresadas en *Pichia pastoris*, y los resultados muestran que son enzimas muy versátiles, algunas con propiedades muy novedosas, lo que abre el abanico de su potencial biotecnológico.

Financiación. Proyectos MINECO/FEDER BIO2015-68387-R y CM S2013/MAE-2907.

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

***Streptomyces* y sus enzimas como herramientas biotecnológicas para la valorización de residuos agroindustriales**

Alba Blánquez, Juana Rodríguez, Francisco Guillén, Manuel Hernández, Enriqueta Arias.

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

Durante las últimas décadas, el agotamiento de los recursos petrolíferos y especialmente, una mayor concienciación de la sociedad actual en la preservación de los ecosistemas, han impulsado a la comunidad científica a focalizar esfuerzos en el aprovechamiento de los residuos agrícolas e industriales para desarrollar nuevos productos de valor agregado de bajo costo, respetuosos con el medio ambiente, y que sean a su vez tecnológicamente eficientes. Los procesos biotecnológicos más utilizados para transformar los residuos agroindustriales implican la utilización de microorganismos ligninolíticos y/o sus enzimas. Entre estos microorganismos destacan las actinobacterias y dentro de este grupo, el género *Streptomyces*, que ha demostrado su capacidad para transformar sustratos lignocelulósicos y modificar la estructura de la lignina.

En el grupo MICRODEG de la Universidad de Alcalá se han elucidado los sistemas enzimáticos implicados en la degradación de la lignocelulosa por *Streptomyces* y a su vez, se han caracterizado los sustratos transformados. Se ha demostrado asimismo, el potencial biotecnológico de los estreptomicetos en procesos relacionados con la industria papelera (biopasteo y bioblanqueo), así como en la degradación de compuestos xenobióticos. Con estos antecedentes, se ha planteado en este trabajo explorar nuevas posibilidades biotecnológicas en estas bacterias que posibiliten su aplicación en áreas de gran interés actual, entre las que cabe señalar, el desarrollo de lubricantes y adhesivos biodegradables a partir de productos agrícolas residuales y/o derivados de industrias.

En cuanto a su aplicación para la valorización de residuos, se ha demostrado la utilidad de distintas cepas de *Streptomyces* para transformar residuos agrícolas como la paja de trigo, mediante fermentación en estado sólido (SSF), y se ha utilizado la álcali-lignina extraída de estos residuos para elaborar lubricantes biodegradables con propiedades reológicas y tribológicas superiores a los lubricantes comerciales existentes. Por otro lado, teniendo en cuenta el interés surgido recientemente por proporcionar oportunidades sostenibles y valor agregado a la lignina presente en los efluentes de la industria papelera, se ha ensayado la capacidad de la lacasa SilA de *S. ipomoeae* para formar grupos reactivos sobre lignina Kraft comercial. Este ensayo ha permitido comprobar la capacidad de dicha lacasa para aumentar la masa media molecular de este polímero y obtener de este modo, biomateriales que sirvan de base para la fabricación de oleogel y adhesivos biodegradables.

Proyecto financiado por Proyecto MINECO CTQ2014-56038-C3-2-R

COMUNICACIÓN ORAL INVITADA

Bacterial Cellulose: an amazing biomaterial with great application

Josefina Martínez¹, A. Gala Morena¹, Julia Fernández^{1,2}, Pilar Díaz¹, and F.I. Javier Pastor¹

¹Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Universitat de Barcelona, Avda. Diagonal 643, 08080 Barcelona. ²CELBIOTECH_Paper Engineering Research Group, Universitat Politècnica de Catalunya_BarcelonaTech, C/ Colom 11, 08222 Terrassa, Spain.

Email: jmartinez@ub.edu

Cellulose is an organic polymer composed of α -1,4-linked D-glucose used in the elaboration of numerous industrial products such as paper, textiles, food additives and pharmaceutical devices. Moreover, materials science has demonstrated increasing interest in cellulose because of its great potential as a reinforcement material in composites owing to its mechanical and physical properties. Cellulose is very abundant in nature as part of the cell wall of vegetal cells, and plants have traditionally been the main source of this material. However, plant-derived cellulose needs to be purified of hemicelluloses and lignin by enzymatic, chemical and/or mechanical treatments before further use. These processes have a high economic and environmental cost and, in addition, could change the functionality of the cellulose and limit its applicability. Some bacteria are able to synthesize cellulose. *Komagataeibacter xylinus* (previously known as *Gluconacetobacter xylinu* or *Acetobacter xylinus*) is the most studied species and one of the few with substantial cellulose production yields to be commercially exploited. Bacterial cellulose (BC) is a linear extracellular polysaccharide with the same chemical composition of plant cellulose, but its conformation and physicochemical properties are different, providing it superior qualities. BC exhibits higher chemical purity (because it is produced free of hemicellulose and lignin), higher degree of crystallinity and higher water retention capacity. Moreover, BC displays great elasticity, high tensile strength and good biocompatibility. These unique properties make BC a multifunctional biomaterial and enable many successful applications, especially in the areas of biomedicine, catalysis, conducting materials or electric devices.

BC production can be achieved by culturing the producer bacterium on a glucose-rich liquid medium in static conditions. Glucose is polymerized and extruded outside the cell. Individual cellulose chains are tied by hydrogen bonds into fibrils that assemble with adjoining fibrils giving rise to 20-70 nm wide ribbons. The result is a tri-dimensional network of cellulose nanofibrils that builds up at the air-liquid interface in the form of a dense pellicle that, after several days of incubation to allow appropriate thickness, can be collected. Two issues that restrain commercial production and extended application of BC are the low yield of the producing strains and the high cost of production media.

In our work, we addressed different aspects of BC production, including the isolation of new bacterial cellulose producers, the exploration of the suitability of low-cost culture media and the application of BC to obtain functional nanocomposites.

Acknowledgements

This work was funded by the Spanish MINECO MICROBIOCEL (CTQ2017-84966-C2-1-R (CTQ2017-84966-C2-2-R) and FILMBIOCEL (CTQ2016-77936-R, funding also from the "Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER") projects.

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

CHIT33: Fungal chitinase heterologously expressed in *Pichia pastoris* and its application in production of chitooligosaccharides

Peter Elias Kidibule¹, Paloma Santos-Moriano², Elena Jiménez³, Inmaculada Aranaz⁴, Niuris Acosta^{4,5}, Harris Ángeles Heras^{4,5}, Francisco José Plou², Julia Sanz-Aparicio³ and María Fernández-Lobato¹.

¹ Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Departamento de Biología Molecular (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, Nicolás Cabrera 1, 28049 Madrid, Spain.

² Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Marie Curie 2, 28049 Madrid Spain.

³ Department of Crystallography and Structural Biology, Institute of Physical Chemistry Rocasolano (CSIC), C/ Serrano, 119, 28006 Madrid, Spain

⁴ Instituto de Estudios Biofuncionales. Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Farmacia. UCM. Paseo Juan 23, n1 28040.

⁵ InFiQuS S.L. Paseo de Juan XXIII n° 1. 28040 Madrid

Background:

Chitinases are ubiquitous enzymes that have gained a recent biotechnological attention due to their ability to transform biological waste from chitin into valued chito-oligomers with wide agricultural, industrial and medical applications. The biological activities of chito-oligomers are related to their size and acetylation degree. *Trichoderma harzianum* is a soil fungus effective against many phytopathogenic fungi. *T. harzianum* produces several chitinases among them, the chitinase CHIT33. The gene of this protein (CHIT33) was previously characterized and encoded a 33 kDa-protein included in the structural Glycoside Hydrolase family GH18.

The chitinase gene Chit33 cDNA from *T. harzianum* was expressed in *Pichia pastoris* using a restriction-free cloning strategy, CHIT33 was expressed in *Pichia pastoris* using fed-batch fermentation to about 2.7 g/L. Protein heterologously expressed showed similar biochemical properties to those expressed by the natural producer (33 kDa, optima pH 5.5–6.5 and 30–40 °C).

In addition to hydrolyse colloidal chitin, this enzyme released reducing sugars from commercial chitosan of different sizes and acetylation degrees. CHIT33 hydrolyzed colloidal chitin at least 10-times more efficiently (defined by the k_{cat}/K_m ratio) than any of the assayed chitosan. Production of partially acetylated chitooligosaccharides was confirmed in reaction mixtures using HPAEC-PAD chromatography and mass spectrometry. Masses corresponding to (D-glucosamine)₁₋₈-GlcNAc were identified from the hydrolysis of different substrates.

CHIT33 activity using chitosan as substrate producing hetero chito-gomers. To improve the production of COS using chitosan, two chitosans of different degree of polymerization and acetylation were N-acetylated using acetic anhydride following Hirano's method.

Production and understanding of how the enzymes generating bioactive chito-oligomers work is essential for their biotechnological application, and paves the way for future work to take advantage of chitinolytic activities.

COMUNICACIÓN ORAL CORTA

Utilización de carbohidratos derivados de la *N*-glicosilación de proteínas en *Lactobacillus casei*

Jimmy E. Becerra¹, Jesús Rodríguez-Díaz², Martina Palomino-Schätzlein³, Manuel Zúñiga¹, Vicente Monedero¹ y María J. Yebra¹

¹Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos, Departamento de Biotecnología de Alimentos, IATA-CSIC, Valencia. ²Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia. ³Servicio de RMN, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia
Email: btcmon@iata.csic.es

Las bacterias intestinales deben de ser capaces de utilizar los recursos de este nicho, que incluyen los oligosacáridos de las glicoproteínas de la mucosa del huésped. La estructura central de los *N*-glicanos consiste en una molécula de *N*-acetilglucosamina (GlcNAc) unida a un residuo de asparagina de la proteína y fucosilada mediante un enlace α -1,6. Esta estructura es extendida con otros azúcares mediante enlaces glicosídicos. En el genoma de *Lactobacillus casei* existe una agrupación de genes (*alf2*) que codifican una α -L-fucosidasa (AlfC) específica de enlaces α -1,6 y una glicosil asparaginasa putativa (AsnA) que, junto con otros genes, parecen constituir una ruta de degradación de glicopéptidos *N*-glicosilados. Objetivos: 1) Sintetizar 6'fucosil-oligosacáridos y fucosil aminoácidos (fucosil- α -1,6-N-GlcNAc-Asn; 6'FN-Asn) utilizando AlfC en reacciones de transglicosilación 2) Estudiar la función de los genes del operón *alf2* de *L. casei* en el metabolismo de glicosil aminoácidos.

Materiales y Métodos: se realizaron reacciones de transglicosilación con α -L-fucosidasa 6×(His)AlfC y *p*-nitrofenol- α -L-fucopiranosido como donador y de hidrólisis de glicoaminoácidos con la glicosil asparaginasa 6×(His)AsnA, que se analizaron por RMN y HPLC. Se construyeron mutantes simples y dobles en los diversos genes de *alf2* mediante la inserción de plásmidos en el cromosoma de *L. casei*.

Resultados: mediante transglicosilación con AlfC se han sintetizado los glicanos 6'FN-Asn, fucosil- α 1,6-glucosa, fucosil- α 1,6-galactosa y fucosil- α 1,6-*N,N*-diacetilquitobiosa. *L. casei* es capaz de utilizar el glicosil aminoácido 6'FN-Asn. Este compuesto es transportado al interior celular por la permeasa AlfH, defucosilado por AlfC y procesado por la glicosil asparaginasa AsnA, que sólo actúa sobre el sustrato defucosilado. La porción GlcNAc resultante es entonces metabolizada tras su fosforilación por el producto del gen *sugK*. Los análisis también permiten concluir que la permeasa AlfH transporta di y trisacáridos con L-fucosa con configuración α -1,6 sin necesidad de estar unidos a ningún aminoácido. Por el contrario, la activación de la expresión de los genes de *alf2* requiere que el represor transcripcional AlfR2 reconozca estructuras GlcNAc-Asn. Así, a diferencia de la cepa silvestre, una cepa deficiente en *alfR2* puede metabolizar los oligosacáridos fucosil- α 1,6-GlcNAc, fucosil- α 1,6-glucosa, fucosil- α 1,6-galactosa y fucosil- α 1,6-*N,N*-diacetilquitobiosa.

Conclusiones: el operón *alf2* de *L. casei* constituye una agrupación de genes para el metabolismo de productos de la *N*-glicosilación y, por tanto, permite a la bacteria

explotar recursos de la mucosa. *L. casei* probablemente requiere de la participación de otros microorganismos para liberar los glicopéptidos y deglicosilarlos parcialmente para que resulten sustratos apropiados de AlfH, AlfC y AsnA.

CONFERENCIA DE CLAUSURA:

Biología de Sistemas en Microbiología Industrial

José Luis García

Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I2SysBio, UV-CSIC), Valencia. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB, CSIC), Madrid.

Email: i2sysbio@gmail.com, jlgarcia@cib.csic.es

El desarrollo a escala industrial de procesos biotecnológicos basados en el empleo de microorganismos se está viendo impulsado por una creciente demanda de la industria química para desarrollar procesos ambientalmente sostenibles para la producción de combustibles, productos químicos y materiales, que no dependan de la síntesis química basada en el uso del petróleo. Sin embargo, los microorganismos capaces de producir estos productos, ya sea de forma natural o mediante mutaciones suelen tener bajos rendimientos y productividades, y para establecer un proceso económicamente viable es necesario mejorar el rendimiento del sistema. El empleo de las herramientas de la ingeniería metabólica es por lo tanto esencial para lograr mejores rendimientos. Pero a veces los cambios metabólicos deseables para lograr estas mejoras no son evidentes y es entonces cuando el empleo de las herramientas de la biología de sistemas desempeña un papel fundamental. Esto involucra tanto a las tecnologías ómicas (genómica, transcriptómica, proteómica, fluxómica, metabolómica, etc.) como a las herramientas de modelado matemático como por ejemplo el modelado metabólico a escala genómica. Examinamos la historia de la biología de sistemas y sus diferentes técnicas y revisamos cómo se aplican todas ellas a escala industrial en los distintos chassis de producción como bacterias, microalgas, levaduras, hongos o células de mamífero, lo que nos conduce a un nuevo territorio que hoy se define como ingeniería metabólica de sistemas o como biotecnología de sistemas.

Excursión Optativa:

- Visita a las instalaciones del Proyecto Europeo ALLGAS en la Estación Depuradora de El Torno (Chiclana), en el que están depurando aguas residuales con microalgas, y utilizando la biomasa para producir combustible (metano). Demostración de drones por este servicio de la UCA.
- Visita a las ruinas romanas de Baelo Claudio y playa de Bolonia: Paseo a la duna gigante, baño, merienda-cena y regreso.

Visita a las instalaciones del Proyecto Europeo ALLGAS en la Estación Depuradora de El Torno (Chiclana). Demostración de drones por este servicio de la UCA.

Proyecto Europeo ALLGAS: FP 7 All-gas project: 2 hectares' full chain microalgae cultivation plant constructed and under operation in South Spain.

ZouhayrArbib, Maikel Fernandez, Esteban Serrano, Enrique Lara, Frank Rogalla
AQUALIA. FCC Servicios Ciudadanos
Email:zouhayr.arbib@fcc.es

Co-financed by the FP 7 programme of the EU Commission, the project "ENERGY 2010.3.4-1: Bio-fuels from algae" intends to demonstrate on large scale the sustainable production of bio-fuels based on low cost microalgae cultures (www.all-gas.eu). FP 7 All-gas project objectives are:

- (1) Implement a demonstration real plant: From pilot to reality
- (2) Demonstrate sustainable algae culture in wastewater
- (3) Sustainable transformation of the biomass in bioenergy (Biomethane mainly)
- (4) Treat and reuse wastewater for nutrient recover.

For a successful implementation of the final DEMO plant a correct upscaling of the process is mandatory, for that reason All-gas project started in 2011 at pilot scale (200m² cultivation area), after 2 years of research the project was up scaled to the prototype plant (1000m² cultivation area), and finally in 2016 the construction of the DEMO started.

All-gas DEMO plant is composed: by 4 x 5200m² raceways ponds, 3X20m³/h preconcentration system based on dissolved air flotation technology (concentration factor higher than 100), 2750m³ anaerobic digester combined with 15m³/h biogas to biomethaneupgrading system. Final DEMO plant will enable to: treat an average of 2000m³/d of wastewater, where a complete remove of nitrogen and phosphorus in a single stage reactor is achieved, generate at the same time an effluent that can be reused (high disinfection rate), significant reduction of the energy required for treating WW with energy requirement below 0.2kWh/m³ and the production of enough compressed natural gas to run 20 cars 30000km/year each. FP 7 All-gas project it is a real example of applied circular economy and leading edge technology.

Comunicaciones Poster

POSTER 01:

Experiencias de biomanufactura en ambientes universitarios utilizando plataformas microbianas

Nombres y apellidos: Rosa Buxeda y Lorenzo Saliceti

Dirección: Departamentos de Biología e Ingeniería Química, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Mayagüez, Puerto Rico

Email: rosa.buxeda@upr.edu, lorenzo.saliceti@upr.edu

Las células microbianas, especialmente *Escherichia coli*, son unas de las principales plataformas de producción de proteínas recombinantes en el área de la biomanufactura. Su uso en el ámbito industrial requiere conocimientos y destrezas interdisciplinarias que incluyen ingeniería genética y crecimiento a gran escala usando biorreactores en ambientes asépticos. Siendo la biomanufactura uno de los principales motores de desarrollo económico, y ante la necesidad de atemperar las experiencias universitarias a esta área del saber, se desarrolla la iniciativa de BioTalentos. En esta iniciativa equipos interdisciplinarios de estudiantes de ciencias e ingeniería utilizan la plataforma de células microbianas para mimetizar las experiencias industriales en ambientes de laboratorio. Dichas experiencias se realizan bajo la supervisión de profesores de estas disciplinas. Los protocolos incluyen modificación genética de células microbianas, cultivo en escalado, purificación de las proteínas recombinantes producidas por las bacterias transformadas y monitoreo ambiental en cuartos limpios. Los equipos interdisciplinarios de estudiantes, previos al inicio de los protocolos, reciben capacitación de trabajo en equipo, liderazgo y regulaciones ambientales. Debido a que las plataformas de producción industrial han ido moviéndose hacia el uso de células mamíferas que, a diferencia las de células bacterianas, poseen la capacidad de llevar a cabo modificaciones post-traduccionales, las mismas son utilizadas por los equipos interdisciplinarios como modelos de contraste al sistema bacteriano. Los datos de avalúo obtenidos de los equipos participantes refleja sobre un 90% de dominio en destrezas pertinentes a los protocolos realizados.

POSTER 02:

Análisis comparativo de proteínas de pared en dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* en fase estacionaria de crecimiento

Juan Antonio Porras-Agüera, M. Carmen González-Jiménez, Jaime Moreno-García, Juan Carlos Mauricio, Juan Moreno, Teresa García-Martínez
Departamento de Microbiología, Campus Universitario Rabanales (Edificio C6),
Carretera N IVa, Km 396. 14014 Córdoba. Universidad de Córdoba
Email: b02poagj@uco.es

La pared celular de levadura es una estructura rígida, pero a la vez dinámica, formada por polisacáridos y glicoproteínas (mayormente glucanos y manoproteínas), que protege a la célula de los cambios y estreses del medio externo. Las alteraciones en su estructura proteica junto con el almacenamiento de carbohidratos han sido identificadas como algunas de las características principales que tienen lugar durante la fase estacionaria de crecimiento, etapa en la cual las células detienen su crecimiento como respuesta a la disminución de nutrientes y aparición de tóxicos en el medio. En este estudio, se llevó a cabo un análisis proteómico para comparar las proteínas de pared celular, en dos cepas de levaduras vínicas de *Saccharomyces cerevisiae*, una comúnmente usada en fermentación (P29) y una levadura de flor responsable de la crianza biológica en la producción de vino fino (G1), al inicio de la fase estacionaria de crecimiento. Técnicas proteómicas como el fraccionador OFFGEL y un espectrómetro de masas LTQ Orbitrap se utilizaron para separar, analizar e identificar las proteínas, de las cuales sólo se seleccionaron aquellas asociadas a la pared celular mediante el uso de bases de datos de levadura (SGD, <https://www.yeastgenome.org/> y Uniprot, <http://www.uniprot.org/>). También se usaron para determinar la función molecular y los procesos biológicos (GO Terms) asociados a las proteínas detectadas. Se identificaron un total de 57 proteínas relacionadas con la pared celular en ambas cepas de levadura al principio de la fase estacionaria. Proteínas como Tdh1/2/3p y Fba1p, involucradas en los procesos de glucólisis y gluconeogénesis; y aquellas responsables del mantenimiento e incorporación de componentes a la pared celular, como Bgl2p y Ssa1/2p, fueron las más abundantes en ambas cepas. Los procesos biológicos (GO Terms) relacionados con la organización y biosíntesis de pared celular, glicosilación y metabolismo de carbohidratos fueron los más destacados en ambas cepas, sobre todo en el caso de la levadura de flor, excepto el proceso de glicosilación que fue sobresaliente en la cepa P29. Este estudio proporciona información relevante sobre el proteoma relacionado con la pared celular en levaduras y su comportamiento al inicio de la fase estacionaria. Los cambios observados están de acuerdo con los descritos por otros investigadores en esta fase de crecimiento celular.

POSTER 03:

Desarrollo de magnetoliposomas biomiméticos para su uso como agentes de hipertermia

Ylenia Jabalera¹, María Antonia Fernández-Vivas¹, Guillermo Iglesias², Ángel Delgado² y Concepción Jiménez-López¹

¹Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, Campus Fuentenuevas/n Granada

²Departamento de Física Aplicada, Universidad de Granada, Campus Fuentenuevas/n Granada

Email: yjabalera@ugr.es

Uno de los tratamientos anticancerígenos más prometedores en la nanotecnología es el uso de nanomateriales magnéticos para su aplicación en hipertermia magnética. Se han desarrollado diferentes materiales para conseguir la mejor respuesta magnética hipotérmica. En este contexto, uno de los nanomateriales magnéticos que más interés ha despertado en el campo de la nanotecnología son los magnetosomas producidos por las bacterias magnetotácticas. Estos magnetosomas están compuestos por partículas de magnetita rodeados por una bicapa lipídica y presentan unas características físicas y químicas que permiten su uso en numerosas aplicaciones biotecnológicas, entre ellas la hipertermia magnética¹. Sin embargo, el escalado de la producción de magnetosomas utilizando estas bacterias supone a día de hoy un reto debido al crecimiento dificultoso de estas bacterias y a sus necesidades fisiológicas tan estrictas. Una de las alternativas desarrolladas para la obtención de nanocristales de magnetita es la biomimética, es decir, la obtención *in vitro* de magnetita en presencia de proteínas heterólogas implicadas en el control del tamaño y forma del cristal. Dentro de esta vía destacan los cristales obtenidos en presencia de la proteína MamC². En este trabajo, se realizó la síntesis de estos cristales biomiméticos y se optimizó el recubrimiento de los mismos con una membrana lipídica para la obtención de los llamados magnetoliposomas biomiméticos. Los magnetoliposomas biomiméticos obtenidos se evaluaron para su posible uso como agente de hipertermia magnética. Los agentes desarrollados, en presencia de un campo magnético alterno, alcanzaban la temperatura efectiva en un tratamiento de hipertermia (mayor de 42 °C) en menos de 1 minuto y mantenían de manera estable la temperatura alcanzada. Consecuentemente, los resultados obtenidos demuestran que los magnetoliposomas biomiméticos desarrollados en el presente trabajo presentan unas prometedoras características que permitirían su aplicación en el campo de la nanotecnología como agentes de hipertermia.

1. Bazylnski, D. A. & Schübbe, S. Controlled Biomineralization by and Applications of Magnetotactic Bacteria. *Advances in Applied Microbiology* 62, 21–62 (2007).
2. Valverde-Tercedor, C. et al. Size control of *in vitro* synthesized magnetite crystals by the MamC protein of *Magnetococcus marinus* strain MC-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99: 5109–5121 (2015).

Agradecimientos: Proyecto CGL2016-76723-P y Ministerio de Educación, Ciencia y Deporte por la concesión de la beca FPU2016 (Ref. FPU16_04580)

POSTER 04:

ProWood: protection of wood by novel bio-based solutions

Óscar Velasco-Rodríguez¹; David Becerro-Recio¹; Katarina Kosalkova¹; Laura García-Calvo¹; Alexia del Árbol-Alonso¹; Irina Rosca²; Cristian-Dragos Varganici²; Kjell Josefsen³; Håvard Sletta³; Alberto Sola-Landa¹; Teodora Rusu²; Carlos Barreiro¹

Address: 1) INBIOTEC (Instituto de Biotecnología de León). Avda. Real 1 - Parque Científico de León 24006, León, Spain. 2) Petru Poni Institute of Macromolecular Chemistry, 41A Aleea Grigore Ghica-Voda, 700487, Iasi, Romania. 3) SINTEF Materials and Chemistry, Richard Birkelands road 3B, 7034 Trondheim, Norway.
Email: oscar.velasco@inbiotec.com

The woodworking industry moves actually more than 200€ billion and employs more than 2.1 million workers in Europe (EU27). New ways of wood construction, furniture industry and protection of the cultural heritage have increased the global interest about the wood degradation. Besides, the growing interests in new eco-friendly alternatives are moving away the old chemistry product that does not meet the expectations in terms of efficiency, price and long-term activity. Besides some of them release toxic substances.

The main reason of wood decay its colonization by fungi that cause the different kinds of rot. However, the wood is also colonized by microorganisms that could act as a natural protector, inhibiting the growing of molds and yeasts responsible of wood decay.

Thus, the key objective of ProWood Consortium is the development of new coating solutions, based in substances of natural origin, that are mixed with natural antagonists of wood decay or their activities. Initially, the main objective is focusing on the evaluation of the different microorganisms involved in wood decay, as well as those present in wood able to act as antagonists of wood-rooting fungi.

Isolation, identification, characterization and bio-implementation of compounds and microorganisms with antagonist effect on wood decay are the initial methods used in this project. The ability of microorganisms settled in the wood to inhibit the proliferation of wood-rotting fungi are being bio-assayed. On the one hand, antagonism bio-assays and, on the other hand, membrane bio-assays for metabolites detection have been developed. Moreover, the molds and yeasts isolated from wood involved in wood decay are also analyzed.

ProWood is a Consortium formed by research centers and technological industries from across Europe, which are working together for the creation of alternative solutions to protect wood in an efficient, sustainable and long-term way. As a result, the optimization of isolation, characterization and bio-assays analysis of wood-decaying microorganisms and their antagonists are showing a huge group of microorganisms suitable for biocontrol.

POSTER 05:

Selenate reduction by the bacterial species *Stenotrophomonas bentonitica*: biotechnological applications

María Victoria Fernández Cantos*, Miguel Ángel Ruiz Fresneda, Josemaría Delgado Martín, Mohamed Larbi Merroun

Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, Granada, Spain

mvictoriaf@correo.ugr.es

Selenium (Se) is an essential micronutrient for organisms across the tree of life, including naturally distributed around the environment. However, it is also a common component of radioactive wastes which will be disposed in future deep geological repositories (DGR). These repositories would consist of radioactive wastes encapsulated in metal containers surrounded by artificial and natural barriers. Spanish bentonites clay formations have been suggested as DGR artificial barriers due to their geochemical and mineralogical properties (Villar et al., 2006). Understanding the risks associated with these repositories will contribute to a better management of them. In this regard, the bentonite bacterial isolate *Stenotrophomonas bentonitica* (Sánchez-Castro et al. 2017) has been demonstrated to reduce selenium oxyanions (SeO_3^{2-} and SeO_4^{2-}) to elemental selenium ($\text{Se}(0)$) reducing its mobility and toxicity.

This study is focused on the assessment of *S. bentonitica* tolerance to selenate (SeO_4^{2-}) and on the characterization of selenium nanostructures production under aerobic conditions. For this purpose, a multidisciplinary approach combining microscopy, microbiology and spectroscopy was applied. Minimal inhibitory concentrations (MICs) and growth curve based on total protein content through Bradford's method were conducted to evaluate the toxicity of SeO_4^{2-} . These results showed a MIC > 200mM Se(VI) and a longer lag phase with increasing Se concentration. Furthermore, the isolate is able to reduce Se(VI) to Se(0) under aerobic conditions producing Se nanowires. Morphology, structure and cellular location of Se nanowires were analysed by XRD, ESEM STEM/HAADF, showing the intracellular location of crystalline Se nanowires.

In conclusion, our results demonstrate the high tolerance of *Stenotrophomonas bentonitica* to selenate and its capability to reduce selenate forming selenium nanowires. Consequently, selenium mobility in repositories could be significantly reduced and, hence, contribute to its safety. The biogenic Se nanowires obtained could also have important applications such as in bioremediation of Se contaminated sites for instance and also in the field of Nanotechnology.

References:

- Sánchez-Castro, I., Ruiz-Fresneda, M. A., Bakkali, M., Kämpfer, P., Glaeser, S. P., Busse, H. J. & Merroun, M. L. (2017). *Stenotrophomonas bentonitica* sp. nov., isolated from bentonite formations. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(8), 2779-2786.
- Villar, M. V., del Villar, L. P., Martín, P. L., Pelayo, M., Fernández, A. M., Garralón, A., & de Cisneros, C. J. (2006). The study of Spanish clays for their use as sealing materials in nuclear waste repositories: 20 years of progress/El estudio de arcillas españolas para su utilización como material de sellado en almacenamientos de residuos radiactivos: 20 años de progreso. *Journal of Iberian Geology*, 32(1), 15.

POSTER 06:

Biodegradation of xenobiotic compounds by the optimized fungal culture of the thermotolerant fungus *Thielavia arenaria* HJ22 isolated in Tunisia

Rim Mtibaâ (a), Elisabet Aranda (b), Tahar Mechichi (a), Carlos Garrido (c) and Jesús M. Cantoral (c).

(a) Laboratory of Enzyme Engineering and Microbiology, Ecole Nationale d'Ingenieurs de Sfax, University of Sfax, Route de Soukra Km 4.5, BP 1173, 3038 Sfax, Tunisia

(b) Institute of Water Research, Department of Microbiology, University of Granada, Ramón y Cajal 4, E-18071 Granada, Spain

(c) Department of Biomedicine, Biotechnology and Public Health, Laboratory of Microbiology, Faculty of Marine and Environmental Sciences. University of Cádiz. 11510, Puerto Real, Spain.

The development of clean biocatalytic methods for the conversion of aromatic compounds has received increasing attention. As it is well known, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and related compounds are recalcitrant organo-pollutants widespread in the environment. Due to their bioactivity, toxicity and unavailability even at low but environmentally high concentrations, the conventional physicochemical technologies are not effective to remove these compounds. For this reason, biodegradation involving microorganisms has been proven to be an advanced biological approach due to their intrinsic catabolic and excretion activity.

This study aimed to evaluate anthracene (Ant) and bisphenol A (BPA) degradation by *Thielavia arenaria* HJ22 isolated from the Tunisian arid regions. The laccase producing medium of this strain was optimized by response surface methodology (RSM). *T. arenaria* showed better activity at pH 6.0 and at temperature 35 °C. Analysis of Ant and BPA (100 µM) degradation were performed by high-pressure liquid chromatography showing that the isolate has the highest and rapid rate of degradation for BPA. A complete removal of BPA was shown within 12 h. Whereas, 73 % of Ant has been degraded within 15 days. The identification of the end products was performed using HPLC for Ant and UHPLC-MS for BPA. Results showed that the main mechanism for the degradation of BPA is the oxidation of the aromatic substrate resulting in acidic and hydroxylated metabolites. The HPLC chromatograms of Ant and of some products were performed and the results showed that the main oxidation intermediate product is determined as 9, 10-anthraquinone known as no genotoxic metabolite.

POSTER 07:

Análisis poblacional de bacterias con resistencia a antibióticos en muestras de agua y sedimentos de origen marino y fluvial en la Bahía de Cádiz.

María José González Rodríguez, Sokratis Papaspyrou, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez and Jesús M. Cantoral

Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510, Puerto Real, España.

Email: mariajose.gonzalezrodriguez@alum.uca.es

Actualmente, tanto la acuicultura como las actividades antropogénicas tienen un gran impacto sobre el medio marino provocando la liberación desmesurada de productos químicos, incluyendo entre otros los antibióticos. Además, está documentado que el uso incorrecto y sin control de medicamentos, y su posterior vertido de desechos en las aguas residuales ha originado un incremento de las poblaciones bacterianas resistentes tanto a los antibióticos como a otros medicamentos. El desarrollo incontrolado y persistencia en el medio ambiente de poblaciones resistentes puede conllevar efectos muy negativos para la salud de y por este motivo, los genes de resistencia a antibióticos son considerados como contaminantes emergentes.

Durante los últimos años se han identificado y caracterizado un número de genes que se asocian a la resistencia adquirida por las bacterias frente a determinados grupos de compuestos químicos, incluyendo a las diferentes familias de antibióticos.

En el presente trabajo vamos analizar las poblaciones presentes en muestras de aguas y de sedimentos provenientes de la Bahía de Cádiz. Para ello se van a utilizar técnicas moleculares que incluyen la detección, identificación y cuantificación de los genes que confieren resistencia mediante qPCR. También se llevará a cabo un análisis poblacional fruto de un trabajo de metasecuenciación a partir de las muestras de ADN genómico total extraídas tanto de las aguas como de los sedimentos. Este estudio nos dará una información acerca de las poblaciones existentes en cada uno de los puntos de estudio. Además, se compararán los resultados obtenidos con valores de presencia de antibióticos en las muestras de agua a lo largo del curso de ambos ríos.

POSTER 08:

Comparación de la digestión anaerobia termofílica de pulpa agotada de remolacha azucarera y su co-digestión con estiércol de ganado vacuno

Xiomara Gómez-Quiroga, Kaoutar Aboudi, Carlos José Álvarez-Gallego y Luis Isidoro Romero-García

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias, Instituto de Investigaciones Vitivinícolas y Agroalimentarias (IVAGRO), Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real, Cádiz, España

Email: xiomara.gomez@uca.es

La pulpa agotada de remolacha azucarera es un subproducto del proceso industrial de producción de azúcar a partir de la remolacha azucarera que es utilizado, actualmente, como suplemento nutritivo en la alimentación del ganado. Sin embargo, este sustrato forma parte de la denominada “biomasa lignocelulósica” que es susceptible de aprovechamiento energético, mediante el proceso de digestión anaerobia, para obtener el biogás. No obstante, este sustrato presenta un déficit en nitrógeno y alcalinidad, que puede limitar el proceso anaerobio. La co-digestión de este tipo de biomasa con residuos ganaderos, es una solución adecuada y efectiva para incrementar los rendimientos de producción de biogás.

El objetivo del presente trabajo es determinar el grado de mejora alcanzable en la producción de metano, mediante la co-digestión anaerobia termofílica (55°C) de la pulpa agotada de remolacha y el estiércol de ganado vacuno (EGV), cuando se compara con la digestión de los sustratos individuales. Los ensayos han sido desarrollados en reactores semi-continuos, operando a un tiempo de retención hidráulico de 30 días. En el ensayo de co-digestión se ha utilizado una mezcla de ambos sustratos al 8% en sólidos totales y se ha empleado una ratio de mezcla, de pulpa agotada respecto de EGV, de 25:75.

Los resultados obtenidos han mostrado que la tasa diaria de producción de metano (TDPM) obtenida en la co-digestión de ambos sustratos es de 0,56 LCH₄/L_r*día, mientras que para la pulpa agotada se obtuvo 0,26 LCH₄/L_r*día y para el estiércol (EGV) 0,27 LCH₄/L_r*día. Por tanto, estos resultados indican que la co-digestión supone un incremento de más del 50% de la TDPM, respecto de los valores obtenidos para los dos sustratos individuales, lo que demuestra el efecto sinérgico que provoca el mezclado de los mismos. Además de la mejora en el rendimiento en metano, la co-digestión también ha tenido un efecto positivo en el nivel de ácidos grasos volátiles (AGVs), evitando la inhibición del proceso, ya que el nivel alcanzado en el reactor de digestión de la pulpa agotada era muy elevado. Igualmente, en lo que respecta a la estabilidad del sistema, la co-digestión consigue una disminución de la ratio acidez/alcalinidad desde el 0,26 obtenido en la digestión de la pulpa agotada hasta el 0,09 alcanzado en el reactor de co-digestión.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación se enmarca en el proyecto CTM2016-79071-R (Ministerio de Economía, Industria y Competitividad), financiado por la Agencia Estatal de Investigación (AEI) y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

Los autores agradecen a la Universidad de Cádiz el contrato predoctoral UCA-2014-043/PU/EPIF-FPI-CT/CP, al Campus Agroalimentario de Excelencia Internacional (Ceia3) y a la empresa Azucarera (grupo AB Sugar) por el suministro de las muestras de pulpa agotada de remolacha azucarera.

POSTER 09:

Activación y caracterización de la agrupación de genes de biosíntesis de una nueva familia de compuestos híbridos péptido-policetónicos en *Streptomyces argillaceus*

Adriana Becerril, Suhui Ye, Alfredo F. Braña, Ignacio Pérez-Victoria, Fernando Reyes, José A. Salas y Carmen Méndez*

Universidad de Oviedo, Dpto de Biología Funcional, Área Microbiología, Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA) e Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). becerriladriana@uniovi.es

El desarrollo de nuevas técnicas de secuenciación masiva y el abaratamiento de los costes ha permitido que se haya secuenciado el genoma de muchos microorganismos productores de compuestos bioactivos en los últimos años. El análisis del genoma de los principales productores de estos compuestos, el género *Streptomyces*, reveló que cada especie contiene entre 30-40 agrupaciones de genes (*clusters*) para la biosíntesis de metabolitos secundarios, de los cuales sólo unos pocos se expresan en las condiciones estándar de laboratorio.

En nuestro grupo se obtuvo la secuencia del genoma completo de *Streptomyces argillaceus* ATCC 12956, principal productor del antitumoral mitramicina. El análisis bioinformático de la misma permitió identificar hasta 31 *clusters* de biosíntesis de metabolitos secundarios, de las cuales 19 codificaban compuestos *a priori* desconocidos¹. Recientemente se consiguió activar y caracterizar la ruta de biosíntesis de los compuestos codificados por uno de ellos, una nueva familia de compuestos alcaloides denominados argimicinas P^{1, 2}.

De las agrupaciones restantes se seleccionó el *cluster* 11 para su estudio y caracterización. Dicho *cluster* codifica para un compuesto péptido no ribosomal (NRP) – policetónico (PK) híbrido y muestra una elevada sintonía con un *cluster* de *S. canus* descrito recientemente y, en menor grado con el *cluster* de biosíntesis del compuesto antibiótico y antitumoral leinamicina. La activación del *cluster* 11 se llevó a cabo combinando dos estrategias: la sobreexpresión del gen *lrgR2*, un regulador positivo del *cluster* y el cultivo de la cepa resultante (*S. argillaceus* pEM4T-Reg831) en 30 medios de cultivo distintos. La comparación mediante UPLC de los perfiles metabólicos de esta cepa con los de un mutante en el gen *lrgI* (*S. argillaceus* Δ lrgI), que codifica una Péptido Sintetasa No Ribosomal-Policétido Sintasa (NRPS-PKS) híbrida, permitió identificar más de una decena de compuestos que estaban ausentes en la cepa mutante y que por tanto estarían codificados por este *cluster*. Tres de estos compuestos pudieron ser purificados y caracterizados por espectrometría de masas (MS) y resonancia magnética nuclear (RMN). Todos ellos resultaron ser compuestos nuevos, constituyendo una nueva familia de compuestos tipo leinamicina. Se ha delimitado experimentalmente el *cluster* de biosíntesis mediante la obtención de mutantes en genes de los extremos del agrupamiento. El *cluster* de biosíntesis presenta un tamaño total de 69,807 kb y se encuentra formado por 33 genes, cuatro de ellos con función reguladora. También se ha procedido al estudio y caracterización de la ruta de biosíntesis de estos compuestos mediante la obtención de mutantes en genes estructurales. Algunas de estas cepas mutantes acumularon compuestos diferenciales, que fueron purificados y caracterizados mediante MS y RMN, revelando ser compuestos nuevos. La estructura de estos compuestos así como el patrón de producción presentado por cada cepa mutante ha permitido proponer una ruta de biosíntesis.

1. Ye, S. y col. 2017. Front Microbiol, 8, 1-18. 2. Ye, S. y col. 2018. Front Microbiol, 9, 1-12.

POSTER 10:

Activación y caracterización de un *cluster* para la biosíntesis de derivados de 3,4-ABHA en *Streptomyces argillaceus* identificado por minería genómica

Ignacio Montero, Suhui Ye, Brian Molloy, Alfredo F. Braña, José A. Salas y Carmen Méndez*

Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional, Área de Microbiología, Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA) e Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA)

Email: monteroignacio@uniovi.es

Los avances en secuenciación y bioinformática permiten identificar por minería genómica agrupaciones de genes de biosíntesis de metabolitos secundarios potencialmente bioactivos y revelar que el potencial productor de *Streptomyces* es aún mayor de lo esperado. Sin embargo, muchos de los programas de búsqueda no identifican muchos de los *clusters* de compuestos que contienen como unidades estructurales los hidroxibenzoatos y los aminobenzoatos. La secuenciación del genoma de *Streptomyces argillaceus* y su análisis por antiSMASH¹ ha permitido identificar 31 *clusters* de biosíntesis². Mediante un análisis más minucioso de dicho genoma, buscando genes reguladores tipo SARP³ (*Streptomyces Antibiotic Regulatory Protein*) se localizó un *cluster* silencioso adicional (*cluster* 1705) que contiene genes para la biosíntesis de 3,4 AHBA, así como nueve genes para proteínas estructurales, tres genes reguladores y tres genes que codifican proteínas de transporte.

En esta comunicación se presenta la activación de dicho *cluster* mediante la co-expresión de los tres genes reguladores, así como la identificación de varios compuestos codificados por el mismo. Muchos de estos compuestos no se han descrito previamente y sus estructuras coinciden con pequeñas modificaciones de la molécula de 3,4-AHBA como acilaciones. También se han identificado compuestos que derivan de la asociación de dos moléculas de 3,4-AHBA relacionadas con las aminophenoxazinonas⁴. Además, se ha demostrado la interacción del *cluster* 1705 con el *cluster arp* de argimicinas P² en la formación de un compuesto híbrido.

La búsqueda de los genes de biosíntesis de 3,4-AHBA en genomas de *Streptomyces* ha permitido identificar *clusters* de biosíntesis en otras especies del género, como *Streptomyces roseosporus* y en la colección CS de la que dispone nuestro equipo investigador⁵, que previamente no habían sido identificados, lo que valida esta estrategia de búsqueda.

1. Weber, T., *et al.*, Nucleic Acids Res, 2015. 43 (W1): p. W237-43.

2. Ye, S., *et al.* Front Microbiol, 2017. 8: p. 194.

3. Bibb, M.J., Curr Opin Microbiol, 2005. 8(2): p. 208-15.

4. Pasceri R., *et al.*, Journal of Medicinal Chemistry. 2013. 56(8):3310-7.

5. Malmierca, M.G., *et al.* Front Microbiol, 2018. 9: p. 39.

POSTER 11:

Estrategias basadas en la secuenciación de genomas para la producción de nuevos compuestos bioactivos en *Streptomyces* sp.

Laura Prado Alonso*, Rubén Álvarez Álvarez, Carmen Méndez, José A. Salas, Carlos Olano.

Dirección: Dpto. Biología Funcional, Área de Microbiología, Facultad de Medicina. Universidad de Oviedo. C/ Julián Clavería, S/N, 33006 Oviedo.

Email: laura.prado@outlook.com

Debido al aumento de las resistencias microbianas a antibióticos, y a la necesidad de compuestos antitumorales más efectivos y específicos, todo ello sumado a la baja eficacia de los métodos de escrutinio tradicionales, se hace necesario el desarrollo de nuevas estrategias para la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos. Los Actinomicetos son el grupo de bacterias más importante en la síntesis de compuestos bioactivos de origen microbiano, con un 5-10% de su genoma dedicado al metabolismo secundario, y dentro de éstos, *Streptomyces* es el género más importante, ya que supone un 75% de la producción. La secuenciación de genomas de diferentes especies del género ha puesto de manifiesto el potencial productor de las mismas, ya que contienen un elevado número de agrupamientos génicos (clústeres) destinados a la producción de metabolitos secundarios, superior al número de metabolitos que son detectados en condiciones experimentales. La minería genómica trata de descubrir nuevos compuestos diseñando estrategias para identificar e inducir la expresión de estos clústeres biosintéticos silenciosos o crípticos. Dentro de estas estrategias es interesante el uso de genes que codifican enzimas de decoración, como halogenasas o glicosilasas, como marcadores para el estudio de estos clústeres y la búsqueda de nuevos compuestos.

Las halogenasas son enzimas que incorporan halógenos a compuestos como indoles, fenoles, terpenos, oligopéptidos o policétidos. La halogenación es importante porque genera diversidad de actividad y de estructuras, siendo fuente potencial para la generación de nuevos compuestos. Además, el halógeno es importante para la biodisponibilidad y actividad biológica de estos compuestos, porque aumenta la estabilidad, efectividad y especificidad. Por tanto, el uso de halogenasas como marcadores, es una estrategia interesante para la búsqueda de nuevos compuestos.

En este trabajo se ha realizado un *screening* de genes de halogenasas en una colección de 30 cepas de *Streptomyces* sp. aisladas de hormigas cortadoras de hojas de la tribu *Atinni*, utilizando dos estrategias: la amplificación de genes de halogenasas por PCR mediante el uso de oligos degenerados, y el análisis de genomas secuenciados de estas cepas. Así, por PCR se ha encontrado que un tercio de la colección de cepas contiene genes que codifican para halogenasas. Del mismo modo, mediante el análisis de genomas secuenciados utilizando el programa bioinformático antiSMASH (antibiotics & secondary metabolite analysis shell), se han detectado numerosos clústeres biosintéticos que contienen halogenasas. Se han diseñado diferentes estrategias de biología molecular para el estudio de estos genes, como mutación de genes estructurales del clúster, mutación del gen codificante para la halogenasa, o sobreexpresión de genes reguladores. Los análisis de producción mediante UPLC han revelado la existencia de picos diferenciales en las cepas mutantes obtenidas, respecto a las parentales, que podrían ser debidos al clúster en estudio.

POSTER 12:

Optimización del método de determinación cualitativa y cuantitativa de sideróforos en *Botrytis cinerea*.

Ana Fernández-Morales, María Carbú, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez, María José González-Rodríguez, Alejandro Bodalo and Jesús M. Cantoral.

Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz. 11510, Puerto Real, España. Email:ana.fernandezmorales@uca.es

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno relevante, tanto en el plano agrícola como económico debido a las cuantiosas pérdidas que genera en una amplia variedad de cultivos. Este hongo muestra un interesante metabolismo secundario, a través del cual sintetiza numerosos metabolitos que juegan un papel fundamental en el proceso infectivo del mismo (Dean et al. 2012; Amselem et al. 2011).

De todos los metabolitos secundarios, los péptidos no ribosomales son los menos estudiados, debido a que su síntesis se lleva a cabo por la acción de las Péptidos Sintasa no Ribosomales (NRPS), cuya expresión se ve disminuida en condiciones *in vitro* (Collado, I. G. & Viaud, M., 2015). La NRPS están codificadas por 20 genes como máximo en los hongos filamentosos, los que da lugar a una amplia variedad de metabolitos sintetizados a partir de estos complejos enzimáticos (Bushley et al. 2008).

La competición frente al hierro (Fe) en la relación patógeno-huésped, se considera un factor de virulencia, debido a que se trata un ión esencial, estando presente en la mayoría de rutas y procesos metabólicos, sin embargo su biodisponibilidad se ve reducida en ambientes aerobios, ya que se vuelve insoluble. Por ello los organismos han desarrollado estrategias para captar el Fe de manera eficiente, una de ellas es la síntesis de sideróforos (Dotaniya et al. 2013; Haas 2014). Se ha descrito que en diversos Ascomycetos la síntesis de sideróforos extracelulares está estrechamente relacionada con las NRPS6 (Oide et al. 2006).

Por todo ello, resulta interesante optimizar un protocolo para la determinación de sideróforos en el hongo fitopatógeno *B. cinerea*, ya que de esta manera sería posible caracterizar, al conjunto de la familia de NRPS, y así poder determinar su implicación en la síntesis de sideróforos extracelulares e intracelulares en este patógeno.

Amselem, J. et al., 2011. *PLoS Genetics*, 7(8).

Bushley, K.E., Ripoll, D.R. & Turgeon, B.G., 2008. *BMC evolutionary biology*, 8(1), p.328.

Collado, I. G. & Viaud, M., 2015. Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems.

Dean, R. et al., 2012. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), pp.414–430.

Dotaniya, M.L. et al., 2013., 33(1), pp.73–76.

Haas, H., 2014.. *Natural Product Reports*, 31(10), pp.1266–1276.

Oide, S. et al., 2006. *The Plant Cell Online*, 18(10), pp.2836–2853.

POSTER 13:

Estudio metabolómico de *Botrytis cinerea* B05.10 mediante técnicas OSMAC y modulación epigenética

Ana Isabel Massa, Inmaculada Izquierdo-Bueno, Isidro González Collado, Rosa Durán-Patrón

Dpto. de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Campus Universitario Río San Pedro s/n, Torre sur, 4ª planta, Universidad de Cádiz, 11510, Puerto Real, Cádiz, España. Email: ana.massa@uca.es

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que produce la enfermedad conocida como podredumbre gris en muchos cultivos vegetales. Los síntomas más comunes de la infección de *B. cinerea* son la putrefacción y el desarrollo de lesiones necróticas. En este contexto, se han aislado dos familias de fitotoxinas no específicas que desempeñan un papel importante durante la patogénesis: botrianos, y botcininas y derivados. [1] Además, el sesquiterpeno ácido absícico, que interviene en la caída de las hojas [2], ha sido aislado a partir de varias especies de *Botrytis*.

La secuenciación del genoma de *B. cinerea* B05.10 ha revelado la existencia de 43 enzimas implicadas en el metabolismo secundario. [3] Esto implica la existencia de un importante arsenal de metabolitos crípticos en este hongo, que pueden ser descubiertos mediante la exploración y expresión de los genes silenciados.

En esta comunicación se han utilizado nuevas metodologías para estimular la biosíntesis de metabolitos crípticos por *B. cinerea*: la aproximación OSMAC (One Strain-Many Compounds) y el uso de modificadores epigenéticos. El método OSMAC consiste en elicitar la biosíntesis de nuevos compuestos mediante el cultivo de los microorganismos en diferentes condiciones de fermentación, variando parámetros como la composición del medio, aireación, tipo de frasco de cultivo, y/o adición de inhibidores enzimáticos. La epigenética actúa a nivel de ADN, modificando la estructura y condensación de la cromatina, pero sin alterar la secuencia de nucleótidos.

Basándonos en la aproximación OSMAC, *B. cinerea* fue incubado en medio Agar-Malta suplementado con níquel, lo que nos condujo a la ausencia de toxinas con esqueleto botriano y a una acumulación de mevalolactona. Estos resultados apuntaban a una inhibición de la ruta biosintética a botridial y derivados por tratamiento con níquel. [4] Por otro lado, *B. cinerea* fue cultivado en medio Czapek-Dox suplementado con diferentes concentraciones de SAHA y 5-AZA. La mezcla de estos modificadores epigenéticos estimuló la producción de toxinas con esqueleto botriano, fundamentalmente botridial, [1] su principal arma química en el proceso de infección.

Bibliografía:

- [1] I. G. Collado, J. R. Hanson, A. J. Macias. *J. Chem. Res.*, 2017, 41(8), 435.
- [2] S. Marumo, M. Katayama, E. Komori, Y. Ozaki, M. Natsume, S. Kondo. *Agric. Biol. Chem.*, 1982, 46, 1967–1968.
- [3] J. Amselem et al. *PLoS Genet.*, 2011, 7, e1002230.
- [4] J. Moraga, B. Dalmais, I. Izquierdo-Bueno, J. Aleu, J. Hanson, R. Hernández-Galán, M. Viaud, I. G. Collado. *ACS. Chem. Biol.*, 2016, 11, 2838-2846.

POSTER 14:

Efecto de la presión de CO₂ endógeno sobre la expresión de proteínas de estrés de *Saccharomyces cerevisiae* durante la segunda fermentación del cava

Juan Jesús Román Camacho, Juan Antonio Porras Agüera, Jaime Moreno-García, Juan Carlos Mauricio, Juan Moreno, Teresa García-Martínez

Departamento de Microbiología, Campus Universitario Rabanales (Edificio C6), Carretera N IVa, Km 396. 14014 Córdoba. Universidad de Córdoba.

Email: b32rocaj@uco.es

El cava es el vino espumoso español por excelencia. Su elaboración mediante el método “Champenoise” conlleva una segunda fermentación del vino base en botellas cerradas herméticamente, seguida de un proceso de crianza biológica de al menos 9 meses en los que el vino está en contacto con las lías. Durante la segunda fermentación del cava, las células de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* están sometidas a una presión de CO₂ endógeno debido al cierre hermético de las botellas. Esta condición de sobrepresión puede cambiar la expresión de proteínas implicadas en diversos procesos fisiológicos. En concreto, en este trabajo se pretenden estudiar, mediante un análisis proteómico, los cambios en la expresión de proteínas relacionadas con la respuesta a diversos tipos de estreses, los cuales se han relacionado directamente con el proceso de fermentación del cava: 1. Estrés osmótico; 2. Estrés térmico (altas y bajas temperaturas); 3. Estrés oxidativo; 4. Estrés por falta de nutrientes (fuente de carbono fermentable y nitrógeno) y 5. Estrés relacionado con el metabolismo del etanol (estrés a etanol, acetaldehído y ácido acético).

Los extractos de proteínas se obtuvieron de células de levadura en dos tiempos y dos condiciones de segunda fermentación en botella: T1CP a mitad de la fermentación en botella cerrada y T2CP, un mes después de finalizada la fermentación (bajo presión de CO₂ endógeno) y en botella abierta, condición de referencia sin presión, a los mismos tiempos (T1NCP y T2NCP). Se ha usado un fraccionador OFFGEL acoplado a un equipo LTQ Orbitrap XL MS para el análisis e identificación de las proteínas.

En el análisis proteómico se detectaron un total de 173 proteínas relacionadas con la respuesta a estrés, de las cuales, 89 se expresaron en la condición T1CP, 151 en la condición T1NCP, 36 proteínas en la condición T2CP y 52 en la condición T2NCP. Proteínas de estrés oxidativo fueron las más abundantes en las dos condiciones ensayadas. Por otro lado, las proteínas de respuesta a estrés osmótico estuvieron implicadas en la vía HOG (High Osmolarity Glicerol) para la producción de glicerol, participando principalmente tanto como proteínas quinasas en la cascada de señalización (Hsp82p, Ste20p, Msn2p) como enzimas implicadas en la propia biosíntesis activa de glicerol (Gpp1p y Gpp2p). De las proteínas estudiadas hasta ahora, la mayoría se encuentran más expresadas en la condición CP. En el caso de Hsp82p, se expresó más en T1CP, mientras que en T2 se expresó más NCP. Las proteínas Ste20p y Msn2p, solo expresadas en T1, aumentaron su expresión en CP. Por último, las proteínas Gpp1p y Gpp2p también aumentaron su expresión en la condición CP en ambos tiempos. Los resultados sugieren que la acumulación de CO₂ endógeno podría repercutir en la pared celular o en la acumulación de algún metabolito que promovería la producción de glicerol.

POSTER 15:

Biodiversidad de levaduras procedentes de fuentes naturales de una región central de España

Beatriz García-Béjar Bermejo, María Arévalo-Villena, Pilar Fernández-Pacheco, Ana Briones.

Dpto. de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Castilla – La Mancha, Avenida Camilo José Cela s/n, 13071

Email: beatriz.gbermejo@uclm.es

La biodiversidad es un término abstracto que engloba toda la variedad de vida dentro de un ecosistema, una región o en todo el planeta. La pérdida de biodiversidad genética y de especies en el mundo debido a la actividad humana es una de las preocupaciones principales a nivel mundial, puesto que implica la desestabilización de los ecosistemas de los que se obtienen materiales y servicios para el desarrollo humano. Además, el conocimiento de la diversidad microbiológica es relevante ya que juega un papel significativo en el equilibrio de los ecosistemas, en las redes tróficas y en la regeneración de nutrientes entre otras muchas funciones. Sin embargo, estas investigaciones han estado tradicionalmente centradas en bacterias y hongos filamentosos, aunque actualmente existe un interés creciente en el estudio de las levaduras puesto que se estima que el 99% de la biodiversidad de este grupo es aún desconocida.

Por estas razones, se planteó el estudio de la variedad de levaduras presentes en muestras procedentes de diferentes ambientes de una región central de España, la cual presenta más de 1.500.000 hectáreas protegidas por la Red Natura 2000 y que posee zonas de gran diversidad biológica tanto animal como vegetal y alberga además alimentos únicos cuyo proceso de elaboración y características finales están bien detalladas y reguladas por leyes nacionales.

Para ello, se realizó una toma de muestras en diferentes puntos de la provincia de Ciudad Real y Madrid y se llevó a cabo un aislamiento de la microbiota presente en placas de agar YPD con antibióticos y antifúngicos obteniéndose un total de 392 levaduras de 24 ambientes diferentes. Este proceso permitió seleccionar y purificar los aislados de cada muestra, que fueron observados al microscopio óptico. La identificación genética se realizó primero a nivel de especie mediante la técnica PCR-RFLP amplificándose la región del gen 5.8S rRNA y usando los cebadores ITS1 e ITS4. De cada especie se eligió un representante para secuenciar su región D1/D2 y comprobar así la identificación realizada. En segundo lugar, la identificación a nivel de cepa se realizó mediante la técnica de PCR-RAPD. Estas técnicas permitieron identificación de 21 especies y 215 cepas y todos los datos se analizaron con programas bioinformáticos: MEGA4 y BioNumerics 7.6.

Este estudio ha proporcionado un conocimiento de la biodiversidad de las levaduras de una región española no estudiada, tanto a nivel de especie como de cepa. Se ha demostrado la capacidad de dispersión de algunos filotipos y la asociación con ciertos ambientes, y se han identificado especies nunca antes descritas en este territorio.

POSTER 16:

Identificación de lacasas implicadas en la polimerización del 1,8-dihidroxi-naftaleno en el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

Alejandro Bódalo Ponce, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez, Ana Fernández-Morales, María Carbú, María José González-Rodríguez and Jesús M. Cantoral.

Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz. 11510, Puerto Real, España

Email: alejandro.bodalo@uca.es

De todas las especies del género *Botrytis* sp., la especie *Botrytis cinerea* es la que provoca un mayor impacto en pérdidas económicas, pues este hongo no presenta ninguna especificidad por la planta huésped y es capaz de desarrollar la enfermedad conocida como 'podredumbre gris'. Este fitopatógeno es capaz de infectar a más de 1400 especies de plantas, incluyéndose entre los hospedadores una enorme variedad de plantas ornamentales, frutas, verduras y hortalizas.

De entre todas las enzimas implicadas tanto en el metabolismo primario como secundario de *Botrytis cinerea*, las enzimas lacasas se encuentran asociadas a la síntesis de pigmentos, perteneciendo al grupo de las oxidasas de cobre azul. Las melaninas son polímeros multifuncionales que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Son pigmentos típicamente oscuros, castaños o negros, cargados negativamente, hidrofóbicos y de alto peso molecular que son formados a través de la polimerización oxidativa de compuestos fenólicos.

En los hongos se encuentran dos importantes tipos de melanina: la DHN-melanina (intermediario del 1,8-dihidroxi-naftaleno) y DOPA-melanina (precursor de la L-3,4-dihidroxifenilalanina). Se ha observado que la melanina sintetizada por el hongo le protege frente a una gran cantidad de agresiones como las oxidaciones, las altas temperaturas y la radiación ultravioleta.

Se realizó un estudio identificativo cuyo objetivo fue determinar las enzimas lacasas que estaban involucradas en la polimerización del 1,8-dihidroxi-naftaleno (DHN). Estas enzimas catalizan los pasos finales en las rutas biosintéticas que conducen a la síntesis de DHN-melanina. Se hizo un análisis de expresión en 4 estados de desarrollo diferentes de los 14 genes que codifican para las enzimas lacasas en *B. cinerea* mediante RT-qPCR con el fin de reducir el número de genes candidatos, observándose que 5 de ellos se encontraban sobreexpresados. De esos sobreexpresados, los genes *BcLCC5*, *BcLCC8* y *BcLCC9* presentaron un alto perfil de expresión en conidios mientras que los genes *BcLCC7* y *BcLCC10* se expresaron más en esclerocios. Se generaron mutantes *knock-out* de la cepa B05.10 de *Botrytis cinerea* para esos genes sobreexpresados, inactivándose, por tanto, la síntesis de las lacasas implicadas en la polimerización del DHN.

Se realizará una caracterización fenotípica de los mutantes, que englobará entre otros, bioensayos bajo diferentes condiciones de luz con el fin de averiguar si la obtención de mutantes *knock-out* muestran defectos en la melanización y así describirse nuevos genes melanogénicos.

POSTER 17:

Bacterial cellulose-chitosan nanocomposites with antimicrobial activity

Lourdes Cabañas¹, Cristina Valls², M. Blanca Roncero², Julia Fernández^{1,2}, Pilar Díaz¹ and Josefina Martínez¹

¹Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, Universitat de Barcelona, Av. Diagonal 643, Barcelona, Spain

²CELBIOTECH_Paper Engineering Research Group, Universitat Politècnica de Catalunya_BarcelonaTech, C/ Colom 11, 08222 Terrassa

Email: vcabanhas@gmail.com

Bacterial cellulose (BC) is a biopolymer that has attracted attention in recent years due to its unique structural and mechanical properties. In terms of chemical structure, BC is identical to the cellulose produced by plants, composed of units of glucose lineally linked by β (1 $\rightarrow$ 4)-glycosidic bonds. However, unlike vegetable cellulose, which is always bonded to hemicellulose and lignin, BC is chemically pure. With the rising importance of green chemistry and the use of biopolymers, chitosan has gained attention. This oligosaccharide is obtained from chitin and is a random copolymer of D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine units. Because of the biocompatibility, non-toxicity, biodegradability and antimicrobial properties, chitosan is considered a versatile material with many potential applications.

In this work, the production of bacterial cellulose-chitosan nanocomposites was accomplished. To do this, two approaches were followed. In the first, BC paper sheets were immersed in an aqueous solution of chitosan; in the second, BC pulp was impregnated with chitosan prior to the production of the paper sheets. Bacterial cellulose-chitosan nanocomposites were compared in terms of physical properties and antimicrobial activity. The evaluation of smoothness, permeability and hydrophobicity suggested that there were no significant differences between the bacterial-chitosan nanocomposites produced by the two different approaches, nor with the BC-paper sheets without chitosan. The antimicrobial activity of the nanocomposites was tested against three strains: *S.aureus*, a gram positive, *P.aeruginosa* a gram negative and *C.albicans*, a yeast. Inhibition of growth and kill effect was more effective against *S.aureus* than *P.aeruginosa* and *C.albicans*. At the same time, the bacterial-chitosan nanocomposite elaborated by impregnation showed more antimicrobial activity than those obtained by immersion.

Bacterial cellulose-chitosan nanocomposites showed to be a suitable matrix to obtain paper-like supports with a novel function that combines the physical properties of bacterial cellulose and the antimicrobial activity of chitosan.

Acknowledgements

This work was funded by the Spanish MINECO MICROBIOCEL (CTQ2017-84966-C2-1-R and CTQ2017-84966-C2-2-R) and FILMBIOCEL (CTQ2016-77936-R, funding also from the "Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER") projects. Special thanks are also due to the Serra Hünter Fellow to Cristina Valls.

POSTER 18:

Regulación de los mecanismos de quorum sensing en *Ophiostoma piceae* y su interacción con bacterias para la valorización de residuos

Jorge Barriuso*, Iñigo de la Fuente, Ismael Trujillano, Alicia Prieto y María Jesús Martínez

Grupo de Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica, Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), CSIC, Madrid. Email: jbarriuso@cib.csic.es

El hongo saprófito de la madera *Ophiostoma piceae* es dimórfico, característica fundamental para la colonización de su hábitat. La transición morfológica de levadura a hifa, así como la secreción de una potente lipasa, están regulados por mecanismos de quorum sensing (QS), siendo el farnesol la única molécula de QS detectada hasta el momento en este hongo¹. Esta molécula se identificó inicialmente en *Candida albicans* y se relacionó con los mecanismos de patogenicidad de este hongo dimórfico. También se ha descrito que el farnesol es una señal para establecer una comunicación mediada por QS con microorganismos pertenecientes a otros reinos de la naturaleza. Por ej., bacterias del género *Pseudomonas* son capaces de reconocer las moléculas señal de *Candida* y viceversa². En este sentido, la bacteria *Pseudomonas putida* posee un metabolismo muy versátil y es capaz de producir una gran variedad de metabolitos secundarios, entre ellos bioplásticos (PHAs)³. Uno de los mayores retos de nuestra sociedad es el reciclaje de los residuos, siendo una solución idónea su aprovechamiento para producir compuestos de valor añadido. Sin embargo, es necesario mejorar la eficiencia de los procesos de biocatálisis, y en esto pueden jugar un papel importante los consorcios microbianos⁴.

En este trabajo hemos estudiado la regulación del QS en *O. piceae* CECT20416 en presencia de distintos nutrientes, y se han llevado a cabo estudios “ómicos” para dilucidar los componentes del sistema, identificando una proteína ortóloga a la adenilato ciclasa de *C. albicans* (Cyr1), un integrador clave en la respuesta a señales de QS tanto fúngicas como bacterianas. Análisis bioinformáticos de Cyr1, mediante modelado 3D y *docking*, además de experimentos en cultivo líquido añadiendo distintas moléculas señal, han permitido seleccionar las que poseen actividad biológica.

Por otra parte, se ha estudiado si los cultivos mixtos de *O. piceae* y *P. putida* pueden crecer sobre un residuo (aceite de oliva reciclado) y fomentar la producción de productos de interés biotecnológico. Los co-cultivos de estos microorganismos mostraron una asociación robusta en la que la actividad lipasa, presente solo en *O. piceae*, no se ve afectada. Las observaciones mediante SEM y CLSM muestran que la bacteria se asocia a las hifas del hongo, produciendo una diferenciación morfológica en la que pueden estar interviniendo señales de QS. Los análisis metabolómicos en curso, dilucidarán si a partir de un residuo los consorcios microbianos pueden favorecer la producción de productos de interés biotecnológico, como por ejemplo los PHAs.

1. de Salas et al. 2015. Appl Environ Microbiol. 8(13):4351-7

2. Hogan et al. 2004. Mol Microbiol. 54(5):1212-23.

3. Nikel et al. 2014. Nat Rev Microbiol. 12(5):368-79.

4. Minty et al. 2014. Proc Natl Acad Sci USA. 110(36):14592.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto BIO2015-73697-JIN cofinanciado con fondos FEDER del MINECO.

POSTER 19:

Laccase/TEMPO-mediated bacterial cellulose oxidation: elaboration of silver nanoparticles in paper-like composites with antimicrobial activity

A. Gala Morena¹, M. Blanca Roncero², Cristina Valls² and Josefina Martínez¹

¹Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Universitat de Barcelona, Avda. Diagonal 643, 08028 Barcelona.

²CELBIOTECH_Paper Engineering Research Group, Universitat Politècnica de Catalunya_BarcelonaTech, C/ Colom 11, 08222 Terrassa

Email: galamorena@ub.edu

Bacterial cellulose (BC) is a biopolymer produced by bacteria and composed of α -1,4-linked D-glucose units. BC has attracted attention in recent years due to its unique structural and mechanical properties, and has been used in different applications, such as biomedicine and cosmetics. However, the chemical modification of the molecule is frequently a necessary prerequisite to provide new functions and applicability to cellulose.

In this study, the functionalization of bacterial cellulose applying the laccase/TEMPO oxidative treatment was attempted. This methodology allowed the oxidation of the C6 of glucose and thus, the formation of carboxyl groups. Taking advantage of the negative charges formed in BC, a solution of silver nitrate was added to BC pulp, allowing an ion-exchange reaction. Then, paper sheets from this pulp were elaborated, and the formation of silver nanoparticles in the paper composites was induced by thermal reduction. SEM and EDS analysis confirmed the presence of well distributed, uniformly sized silver nanoparticles in the elaborated nanocomposites. Silver content and its release from nanocomposites, validated by ICP-MS, suggested that the presence of carboxyl groups was necessary for the generation of nanoparticles and that BC was a suitable matrix to form and to retain metal nanoparticles. Moreover, results indicated that BC oxidation and thermal reduction decreased the silver ion release, which is an important aspect in many applications like reusable biosensors.

The antimicrobial property of the composites containing silver nanoparticles was tested against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Candida albicans*. Results indicated that the composites presented optimal antimicrobial activity for all kinds of microorganisms, both by direct contact of the microorganisms with the surface of the nanocomposite and in dynamic aqueous conditions.

In conclusion, oxidation of BC pulp and thermal reduction are promising methods to obtain paper-like composites containing metal nanoparticles that could be employed in catalytic, magnetic, conductive or biomedical fields. Particularly, composites containing silver nanoparticles could be used in those applications where antimicrobial activity is additionally required.

Acknowledgements

This work was funded by the Spanish MINECO MICROBIOCEL (CTQ2017-84966-C2-1-R and CTQ2017-84966-C2-2-R) and FILMBIOCEL (CTQ2016-77936-R, funding also from the "Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER") projects. Special thanks are also due to the Serra Hunter Fellow to Cristina Valls.

POSTER 20:

Producción y análisis proteómico de crudos ricos en celulasas inducidos por bagazo de cerveza: aplicación en sacarificación de bagazo.

Neumara L. S. Hakalin, Laura I. de Eugenio, María Molina-Gutiérrez, Leonor Sánchez-Rodríguez, M^a Jesús Martínez* y Alicia Prieto*

Grupo de Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica, Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), CSIC, Madrid. Email: mjmartinez@cib.csic.es; aliprieto@cib.csic.es

La explotación de subproductos derivados de la biomasa es una tarea de enorme importancia en el contexto de la economía circular, basada en la gestión sostenible de los residuos. Para muchas empresas, la retirada de grandes cantidades de productos residuales supone un coste elevado o, cuando menos, una preocupación más para evitar su acumulación y los problemas de espacio, o medioambientales, que podrían generar. En este trabajo, hemos planteado el empleo de un tipo concreto de residuo vegetal, el bagazo de cerveza, para producir crudos enzimáticos ricos en celulasas, que posteriormente serán empleados para la sacarificación de este mismo subproducto.

El bagazo utilizado procede de “La Cibeles”, una pequeña empresa localizada en la Comunidad de Madrid que utiliza un proceso artesanal de producción de cerveza. El bagazo fue pretratado con NaOH (0,25% y 0,5%) y, tras eliminar el material solubilizado, se añadió el residuo al medio de cultivo como inductor de actividades celulolíticas codificadas en el genoma del ascomiceto *Talaromyces amestolkiae*. Para la producción de crudos se evaluaron dos consistencias de bagazo pretratado (0.5% y 1%). Durante el periodo de incubación (5 días) se valoraron diariamente las actividades endoglucanasa, α -glucosidasa y Avicelasa extracelulares. Destacó la producción de α -glucosidasas, que fue la más elevada determinada hasta el momento utilizando este hongo en diferentes condiciones de inducción.

Una parte de los crudos obtenidos se destinó al análisis proteómico del secretoma de *T. amestolkiae* con el fin de determinar las enzimas liberadas en las condiciones de la inducción. Este análisis, que aún no se ha completado, ha permitido demostrar que las proteínas mayoritarias en los crudos son glicosil hidrolasas (GH), entre las que destacaremos celulasas pertenecientes a las familias GH1, GH3, GH7, GH55 y GH70.

Por otra parte, uno de los crudos producidos se ha empleado para sacarificar el propio residuo utilizado como inductor. Tras el tratamiento alcalino (con NaOH 0,25%, 0,5% y 0,75%) y la eliminación del material solubilizado, el bagazo quedó enriquecido en celulosa, al eliminarse parte de la hemicelulosa y de la lignina. En este momento se están realizando los experimentos de sacarificación de los bagazos sometidos a los tres pretratamientos alcalinos, comparando los rendimientos obtenidos con el crudo de *T. amestolkiae* y con el cóctel comercial Celluclast. Posteriormente, se fermentarán los diferentes hidrolizados enzimáticos con *Saccharomyces cerevisiae* y se analizará el rendimiento de etanol producido en el proceso global.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos HIDROFUN (BIO2015-68387-R, MINECO/FEDER) y RETO-PROSOST (S2013/MAE-2907, Comunidad de Madrid).

POSTER 21:

Análisis bioinformático del potencial de producción de metabolitos secundarios de diferentes especies de *Streptomyces* aislados de hormigas *Acromyrmex octospinosus*

Ana Ceniceros, Mónica G. Malmierca, Carmen Méndez, José Antonio Salas, Carlos Olano

Departamento de Biología Funcional e Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Universidad de Oviedo, Oviedo, Spain

Email: acenicerosm@gmail.com

Las bacterias del género *Streptomyces* son el origen de gran cantidad de compuestos bioactivos usados clínicamente en la actualidad. El análisis del genoma de distintas especies de este género ha desenmascarado un mayor potencial de producción de metabolitos secundarios del inicialmente sospechado¹. En un esfuerzo por obtener nuevos compuestos bioactivos, hemos secuenciado 12 cepas de una colección de *Streptomyces* obtenidas de hormigas cortadoras de hojas de la especie *Acromyrmex octospinosus* procedentes de Perú. Su genoma fue analizado empleando el programa antiSMASH para predecir clústeres de metabolitos secundarios². Mediante el uso del programa BiG-SCAPE hemos realizado una red que muestra todos los clústeres de metabolitos secundarios detectados por antiSMASH, agrupándolos por familias de compuestos (NRPS, PKS, etc)³. En esta red, a su vez, se agrupan aquellos clústeres que tienen homología unos con otros, mostrando, por tanto, que clústeres están compartidos entre distintas cepas y cuáles son específicos de cada especie. Algunos de estos clústeres han sido activados e identificados en nuestro grupo, aumentando así la información disponible de metabolismo secundario en este importante género.

1. Bentley, S. D. *et al.* Complete genome sequence of the model Actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature* 417, 141-147 (2002).

2. Medema, M. H. *et al.* antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Res.* 39, W339-46 (2011).

3. <https://git.wur.nl/medema-group/BiG-SCAPE>

POSTER 22:

Attempts to recover ancient traits of *Bacillus* sp. JR3 esterase LipJ

Carolina Buruaga¹, Mónica Estupiñán¹, Josefina Martínez^{1,2} and Pilar Díaz^{1,2}

¹Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, University of Barcelona

²IN2UB

Email: buruaga.cbr@ub.edu

Thermophilic enzymes constitute natural tools for application in biotechnological processes requiring high temperature conditions and provide insights into evolutionary mechanisms of the current biosphere selective pressure. *Bacillus* sp. JR3 was isolated from an ancient volcanic soil of El Hierro (Canary Islands, Spain) and selected due to its remarkable lipolytic activity at high temperatures. Lipase LipJ was cloned and characterized, showing the highest activity at 30°C on short chain-length substrates, with no signs of being thermophilic¹. Nevertheless, sequence and structure analysis showed the most characteristic features of family I.5 thermophilic lipases.

In order to get a deeper knowledge of LipJ, an iterative site directed mutagenesis was applied to residue H110, the only amino acid found to be different in the Zn²⁺-binding cavity of the closest thermophilic lipases, described as relevant for thermophilicity². Among the active variants obtained from the NNK-degeneracy library, mutant H110N displayed an interesting activity increase with respect to LipJ when tested on medium chain-length substrates at 30°C. Analysis of a validated 3D model structure suggested that new polar bonds or additional Zn²⁺ interactions could be responsible for the longer substrate accommodation; however, an increase in the temperature of the enzymatic activity was not observed.

We also performed a rational mutagenesis approach to study how significant changes in LipJ sequence would affect its activity at either higher temperature or on longer chain-length substrates. Variants E27A, G136A and M139Q were obtained as single, double or triple mutants. Lipase activity of the LipJ variants showed a general shift in specificity towards longer chain-length substrates. Mutants displayed higher activity than wild type LipJ at both 30 and 80°C on heptanoate. Moreover, *in silico* molecular docking studies suggested that the triple mutant would generate more space than the wild type in the vicinity of the active site to accommodate medium chain-length substrates. These results suggest that LipJ derives most likely from a thermophilic ancestor whose properties have been disappearing along evolution, in the absence of the selective pressure of high temperatures.

1. Ribera J, Estupiñán M, Fuentes A, Fillat A, Martínez J, Díaz P. *Bacillus* sp. JR3 esterase LipJ: A new mesophilic enzyme showing traces of a thermophilic past. *PLoS One*. 2017;12(7). doi:10.1371/journal.pone.0181029.
2. Biundo A, Steinkellner G, Gruber K, Spreitzhofer T, Ribitsch D, Guebitz GM. Engineering of the zinc-binding domain of an esterase from *Clostridium botulinum* towards increased activity on polyesters. *Catal Sci Technol*. 2017;7(6):1440-1447. doi:10.1039/C7CY00168A.

POSTER 23:

Reducción de la producción de sulfhídrico en levaduras industriales mediante CRISPR/Cas9

Marina Ruiz-Muñoz, Gustavo Cordero Bueso, Mónica González-Moreno, María del Carmen Bernal-Grande, Pedro Miguel Izquierdo-Cañas* y Jesús Manuel Cantoral

Laboratorio de Microbiología, CASEM, Campus de Puerto Real, 11510, Cádiz,

* Instituto de la Vid y del Vino de Castilla La Mancha. Tomelloso. Ciudad Real.

E.mail: marina.ruiz@uca.es

Las características organolépticas de un vino son muy diversas, siendo muchas de ellas debidas a la fermentación alcohólica del mosto inicial que llevan a cabo las levaduras. En este sentido, destacan los metabolitos secundarios aromáticos como los alcoholes superiores o los compuestos volátiles sulfurados. Estos últimos, también denominados tioles, engloban una gran cantidad de compuestos que pueden ser responsables tanto de aromas deseables como de defectos en el producto final, como es el caso del ácido sulfhídrico (H_2S), relacionado con un olor similar al del huevo podrido. Aunque las bodegas cuentan con estrategias para conseguir la reducción de la presencia de sulfhídrico, como la adición de una fuente nitrogenada al mosto o la aireación, es preferible el desarrollo y la obtención de levaduras capaces de fermentar sin producir dicho metabolito.

Se sabe que las levaduras son capaces de producir el sulfhídrico al menos por tres vías distintas: durante la asimilación del azufre, cuando el dióxido de azufre (SO_2) es reducido a anhídrido sulfhídrico (H_2S) por la sulfito-reductasa, durante la asimilación de azufre libre mediante la acción de la glutatión-reductasa y durante la vía de asimilación de sulfatos orgánicos presentes en aminoácidos como la metionina o la cisteína. Una vez se ha asimilado la fuente de azufre, la conversión de esta a sulfhídrico se debe a la acción de una cascada enzimática, codificada por distintos genes (entre los que destacan MET2, MET5 y MET10).

Por otro lado, el sistema CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) ha resultado ser una técnica revolucionaria en distintos ámbitos, ya que permite llevar a cabo una edición genética de cualquier célula de una forma sencilla, barata y muy precisa. En primer lugar, se obtuvo en la base de datos del NCBI la secuencia del gen MET2 en formato FASTA, y se procedió al diseño del sgRNA que señalizara la secuencia diana de corte para Cas9, mediante el uso de la herramienta E-CRISP, valorándose la existencia de *off-targets*. Una vez obtenido el sgRNA, se procedió a llevar a cabo la edición genética mediante el uso del plásmido pCAS (Addgene, plásmido 60847) y técnicas basadas en PCR, consiguiendo de esta forma una delección de 8 pb en la secuencia diana, dándose de esta forma una modificación en la pauta de lectura durante su transcripción. Una vez obtenida la levadura con su genoma editado se procedió a comprobar su estabilidad genómica en condiciones de vinificación a escala de laboratorio y semi-industrial.

Así, el objetivo del presente trabajo es la obtención cepas con una producción de sulfhídrico reducida a partir de una levadura empleada a nivel industrial para la producción de vino mediante la interrupción del gen MET2 mediante la técnica de CRISPR/Cas9.

[1] Nat Methods. 2014 Feb; 11(2):122-3. DOI: 10.1038/nmeth.2812.

POSTER 24:

Aislamiento y caracterización de una *Pseudomona aeruginosa*, endófito de maíz, con capacidad antagonista e inhibitoria del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*Hernando José Bolívar-Anillo,^{1,2} Carlos Garrido,³ Isidro G. Collado^{1*}¹Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real, Cádiz. Spain.²Laboratorio de Investigación en Microbiología, Universidad Simón Bolívar, Barranquilla. Colombia.³ Department of Biomedicine and Biotechnology, Laboratory of Microbiology, Faculty of Marine and Environmental Sciences, University of Cádiz, 11510, Puerto Real, Cádiz. Spain.Email: hbolivar1@unisimonbolivar.edu.co

Botrytis cinerea es el hongo necrotrófico más ampliamente estudiado, cuyas pérdidas económicas son difíciles de calcular debido a su amplio rango de huéspedes.¹ A pesar que existen en el mercado una amplia variedad de fungicidas químicos para el control de este fitopatógeno, estos son considerados no sostenibles debido a los efectos adversos sobre la salud humana, animal y el medio ambiente. Sumado a lo anterior, *B. cinerea* es considerado un fitopatógeno de alto riesgo por su capacidad de adquirir resistencia a los fungicidas.² La búsqueda de nuevos métodos alternativos y complementarios al control químico de este fitopatógeno abre la posibilidad del uso de bacterias endófitas o las moléculas sintetizadas por ellas. Los endófitos son microorganismos que habitan en el interior de las plantas sin causar daño a las mismas bajo ninguna circunstancia³ y muchas de ellas son consideradas agentes de control biológico.

En el presente trabajo se aisló la bacteria endófito de plantas de maíz identificada como *Pseudomonas aeruginosa* USB-9. En las pruebas de competencia *P. aeruginosa* USB-9 fue capaz de inhibir a *B. cinerea* B0510 alrededor de un 63%. Interesantemente, en la zona de enfrentamiento entre ambos microorganismos, se detectó un considerable aumento en la producción de botriosporas por *B. cinerea* B0510. La extracción y purificación de los metabolitos producidos por *P. aeruginosa* USB-9 en la zona de enfrentamiento con *B. cinerea* B0510 permitió identificar la molécula que podría estar directamente relacionada con la capacidad de biocontrol de esta bacteria endófito, la cual fue identificada como fenazina-1-carboxamida. Estos datos parecen indicar la existencia de una comunicación química cruzada entre ambas especies.

Referencias

1. Dean R, Kan J, Pretorius ZA, et al (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol 13:1–17. doi: 10.1111/J.1364-3703.2011.00783.X
2. Haidar R, Fermaud M, Calvo-garrido C, et al (2016) Modes of action for biological control of Botrytis cinerea by antagonistic bacteria. Phytopathol Mediterr 55:13–34. doi: 10.14601/Phytopathol.
3. Cocq K, Gurr S, Hirsch P, Mauchline TIM (2017) Exploitation of endophytes for sustainable agricultural intensification. Mol Plant Pathol 18:469–473.

POSTER 25:

Método OSMAC (*One Strain Many Compounds*) para identificación de nuevos metabolitos secundarios producidos por *S. albus* J1074

Fernández-De la Hoz Jorge, González Aranzazu, Méndez Carmen, Olano Carlos y Salas José A.

Departamento de Biología Funcional de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo (Área de Microbiología). C/ Julian Clavería s/n 33006-Oviedo, España.

Email: jorgefhoz@gmail.com

Con el fin de encontrar y caracterizar nuevos metabolitos secundarios producidos por la cepa *Streptomyces albus* J1074 se siguió el método de variaciones en las condiciones de cultivo conocido por sus siglas en inglés como método OSMAC (*One Strain Many Compounds*). Este método consiste en introducir variaciones en las diferentes condiciones del cultivo como temperatura de crecimiento, medio de cultivo, velocidad de agitación, etc. y comprobar si alguno de esos cambios o diferentes combinaciones entre ellos provocan un cambio en la pauta de producción habitual de metabolitos de una cepa bacteriana¹.

Para este trabajo se cultivó la cepa *S. albus* J1074 en diferentes medios de cultivo y se realizaron análisis cromatográficos (UPLC y HPLC-MS) de los extractos a diferentes tiempos con diferentes solventes para localizar nuevos metabolitos producidos. En los ensayos en medio de cultivo MFE a 30°C, con una agitación de 250rpm y realizando extracciones con acetato de etilo + 1% de ácido fórmico se encontraron y purificaron cuatro nuevos derivados de paulomicinas (localizándolos junto con sus correspondientes formas deshidratadas)².

Estos cuatro nuevos metabolitos presentan una estructura análoga a los antibióticos 273_{a2α} y 273_{a2β} conteniendo además un grupo tiazol, posiblemente debido a una adición de Michael intramolecular. Comparándolos con las paulomicinas A y B, los nuevos análogos presentan una actividad antibiótica menor frente a bacterias Gram-positivas, pero dos de ellos muestran una mayor actividad antibiótica frente a Gram-negativas. Además los cuatro nuevos metabolitos muestran una mayor estabilidad en cultivo que las paulomicinas A y B, lo que podría ser debido a la presencia de un grupo de N-acetil-L-cisteína unido al carbono del isotiocianato del ácido paúlico mediante un enlace tioéster y la consiguiente ciclación intramolecular del ácido paúlico para generar un heterociclo de tiazol, que dota a las paulomicinas de una mayor estabilidad estructural sin la que se produce la degradación de paulomicina en paulomenoles inactivos³.

1. Bode, H.B., Bethe, B., Höfs, R., and Zeeck, A. (2002). Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *Chembiochem*, 3, 619–627.
2. Fernández-De la Hoz, J., Méndez, C., Salas, J.A., and Olano, C. (2017). Novel bioactive paulomycin derivatives produced by *Streptomyces albus* J1074. *Molecules*, 22(10), 1758.
3. González A., Rodríguez M., Braña A.F., Méndez C., Salas J.A. and Olano C. (2016) New insights into paulomycin biosynthesis pathway in *Streptomyces albus* J1074 and generation of novel derivatives by combinatorial biosynthesis. *Microbial cell factories*, 15(1): 1-16.

POSTER 26:

Nuevos híbridos de levadura para la obtención de productos de panificación innovadores

Rosana Chiva¹, Marta Hoya¹, Nieves Olivares¹, José Antonio Uña², María Ángeles Santos² y Mercedes Tamame¹.

Email:rosanachiva@usal.es

¹Instituto de Biología Funcional y Genómica, IBFG, CSIC-Universidad de Salamanca. C/ Zacarías González 2. 37007, Salamanca.

²Departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca, Edificio Departamental de Biología, Campus Miguel de Unamuno 37007, Salamanca.

Las propiedades de los productos de panificación dependen en gran medida de las levaduras que se usan para fermentar las harinas y les confieren bastantes de sus características organolépticas y sensoriales. Parte de la Investigación e Innovación en ese Sector Agroalimentario se orienta a la obtención de cepas con alta capacidad fermentativa y otros fenotipos capaces de aportar cualidades distintivas al pan, con las que elaborar productos más diferenciados en distintas empresas, usando harinas tradicionales o nuevas y distintos procesos tecnológicos.

La obtención de híbridos ha adquirido interés renovado para obtener cepas robustas aptas para la alimentación sin recurrir a la mutagénesis ni a la tecnología del ADN recombinante. Los *híbridos primarios* entre cepas de interés se someten a *evolución adaptativa* y se seleccionan posteriormente *híbridos secundarios* estables, adaptados al proceso de fermentación de harinas. Los híbridos entre cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y/o cepas de *S. kudriavzevii*, *S. uvarum* y *S. bayanus*, tienen el potencial de conferir nuevas propiedades al pan, especialmente si heredan el crecimiento robusto de un parental fermentativo y propiedades nuevas de otra cepa parental aislada de ambientes fermentativos o naturales.

Se han descrito dos procedimientos de obtención y selección de híbridos vínicos, el “*rare mating*” (Pérez-Través *et al.*, 2012) y el “*HyPr*” (Alexander *et al.*, 2016). Hemos empleado los dos procedimientos para obtener un juego de 17 híbridos, entre cepas de *S. cerevisiae* y 9 híbridos inter-específicos, entre cepas de panificación comerciales o *salvajes* (aisladas de masas madre) y cepas de origen vínico, que se estabilizaron genéticamente en ciertas condiciones fermentativas. Varios híbridos se han empleado para ensayos de panificación en el laboratorio y dos se han probado en una industria especializada del sector, determinando que tienen buena capacidad fermentativa y que les confieren algunas propiedades distintivas a panes experimentales de trigo y del nuevo cereal Tritordeum.

Bibliografía:

- Pérez-Través L, *et al.* (2012). Evaluation of different genetic procedures for the generation of artificial hybrids in *Saccharomyces* genus for winemaking. *Int. J. Food Microbiol.* 156(2):102-11.
- Alexander WG, *et al.* (2016). Efficient engineering of marker-free synthetic allotetraploids of *Saccharomyces*. *Fungal Genet. Biol.* 89:10-17.

POSTER 27:

Complejo proceso de glicosilación de sipanmicinas: cooperación entre glicosiltransferasas.

Mónica G. Malmierca^{a,b,c}, Ignacio Pérez-Victoria^d, Jesús Martín^d, Fernando Reyes^d, Carmen Méndez^{a,b,c}, Carlos Olano^{a,b,c} y José A. Salas^{a,b,c}.

^aDepartamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo (Asturias), Spain.

^bInstituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (I.U.O.P.A), Universidad de Oviedo, Oviedo (Asturias), Spain.

^cInstituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (IISPA), Oviedo, Spain

^dFundación MEDINA, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Granada, Spain
Email: monicagomal@yahoo.es

Uno de los mayores retos de la biomedicina actual es el descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos que puedan hacer frente al creciente número de bacterias resistentes a los antibióticos comúnmente empleados en clínica o a la aparición de enfermedades infecciosas emergentes, así como el desarrollo de nuevos agentes quimioterápicos más eficaces y con menores efectos secundarios. A este respecto, las bacterias del grupo de los actinomicetos comprenden una de las mayores fuentes de metabolitos bioactivos conocidos hasta el momento, por lo que muchos esfuerzos están centrados en la búsqueda de productores de nuevos compuestos de interés dentro de este grupo. Sin embargo, la tasa de éxito de los programas de búsqueda clásicos ha decrecido enormemente debido al redescubrimiento de compuestos ya conocidos, por lo que se están empleando estrategias alternativas como la búsqueda de microorganismos productores en simbiosis con otro tipo de organismos.

Dentro de uno de esos programas de *screening* empleando una colección de cepas de *Streptomyces* aisladas de hormigas cortadoras de hojas de la tribu attini, nuestro grupo descubrió dos nuevos compuestos producidos por la cepa CS149, denominados sipanmicinas, pertenecientes a la familia de las macrolactamas glicosiladas, que incluye metabolitos con actividad antifúngica (fluvirucinas) o antiproliferativa (vicenistatina, incednina). Se ha descrito que la parte glicosídica de muchas moléculas bioactivas es fundamental para dicha actividad por lo que nos planteamos el estudio de las etapas de glicosilación implicadas en la unión de los azúcares al aglicón de las sipanmicinas.

La agrupación génica implicada en la biosíntesis de las sipanmicinas presenta 4 genes que codifican glicosiltransferasas (GTs), sin embargo, sólo 2 azúcares están presentes en la molécula. Mediante la generación de mutantes individuales en cada una de estas GTs y la posterior caracterización de los compuestos resultantes, demostramos la participación conjunta de 2 GTs en cada uno de los pasos de glicosilación de estos compuestos siendo, hasta donde sabemos, la primera vez que se describe la interacción de 2 GTs diferentes para la unión de un solo azúcar. Además, en el segundo paso también participaría una proteína auxiliar con homología con citocromo P450.

POSTER 28:

Cepas de la levadura *Wickerhamomyces anomalus* contra la proliferación del hongo fitopatógeno *Fusarium graminearum*

Soledad Vega¹, José Antonio Uña¹, Lorena Celador¹, Rosa Ana Chiva², Paula Xiomara Méndez¹, M^a Encarnación Velázquez¹, Mercedes Tamame², María Ángeles Santos¹

¹Departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca, Edificio Departamental, Campus Miguel de Unamuno, 37007, Salamanca.

²Instituto de Biología Funcional y Genómica, CSIC/Universidad de Salamanca, Calle Zacarías González 2, 37007, Salamanca.

E-mail: u109166@usal.es

El hongo ascomiceto *Fusarium graminearum* es el principal agente etiológico de la fusariosis de la espiga o mancha blanca del trigo. Esta enfermedad afecta periódicamente a la producción del cereal cuando, en el periodo de la floración y llenado del grano, se dan condiciones climatológicas favorables de temperatura y humedad. La infección se produce por ascosporas, traídas por el viento, procedentes de otras gramíneas infectadas, o por conidios que están en el suelo y pasan a la inflorescencia de la planta a través de salpicaduras del agua, en días de lluvia. La fusariosis provoca pérdidas económicas considerables en todos los eslabones de la cadena agroindustrial, pues determina menor rendimiento de la cosecha, baja calidad industrial del grano afectado e incorporación de toxinas nocivas en el producto final, cuyos niveles están estrictamente regulados por la legislación.

El control de la enfermedad se logra principalmente con fungicidas químicos, pues no se han logrado desarrollar líneas comerciales de trigo resistentes a la infección del hongo, posiblemente debido a que la resistencia no es un carácter universal y permanente, pues el patógeno evoluciona para vencer la resistencia de la planta huésped. Así, las dificultades para controlar la fusariosis unido a la creciente preocupación sobre los efectos adversos y nocivos de los residuos químicos sobre la salud y el medio ambiente han estimulado el interés renovado por el control biológico como alternativa para controlar la enfermedad. Los microorganismos que se emplean para el biocontrol tienen diferentes mecanismos de actuación frente a la infección, exclusión del patógeno mediante competición por los nutrientes, producción de metabolitos con actividad antifúngica e inducción de mecanismos de resistencia de la planta. Los agentes de biocontrol empleados contra la fusariosis son especies bacterianas de *Pseudomonas*, *Bacillus* y actinobacterias, aunque también se han descrito algunos hongos filamentosos y levaduras del género *Cryptococcus* como antagonistas del hongo.

En este trabajo, nosotros presentamos la identificación y caracterización de nuevas cepas de levadura capaces de inhibir el crecimiento de *Fusarium graminearum*. Todas estas cepas pertenecen a la especie de la levadura no convencional *Wickerhamomyces anomalus*. A escala de laboratorio, nuestros resultados indican que las cepas, aptas para tolerar condiciones extremas de estrés osmótico, salinidad, pH y temperatura, impiden el desarrollo normal de *F. graminearum* mediante la producción de metabolitos tóxicos para el hongo, cuya identidad y modo de acción se están investigando.

POSTER 29:

Elaboración de una grasa lubricante biodegradable a partir de paja de cebada fermentada con *Streptomyces* sp. MDG 301

Alba Blánquez¹, Gabriela Domínguez¹, Carmen Fajardo¹, Antonio Borrero², Concepción Valencia², M. Enriqueta Arias¹, Manuel Hernández¹, Juana Rodríguez¹.

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

² Dpto. Ingeniería Química, Química Física y Ciencias de los Materiales. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Huelva. Spain.

E-mail: juana.rodriguez@uah.es

La biomasa lignocelulósica se considera un recurso renovable susceptible de ser convertido en una alternativa a los combustibles fósiles y petroquímicos. Una parte importante de la biomasa lignocelulósica proviene de residuos agrícolas que tienen un gran potencial debido a su amplia disponibilidad y bajo costo. Además, el interés creciente por la utilización de procesos biotecnológicos para la transformación de la materia lignocelulósica, es consecuencia de las posibilidades que ofrecen los tratamientos biológicos y de la experiencia que sobre este tema se ha adquirido durante los últimos años.

En este trabajo se ha planteado la obtención de nuevos agentes espesantes basados en fracciones lignocelulósicas para el desarrollo de formulaciones biodegradables tipo gel en fase orgánica (oleosa) con potencial aplicación industrial como lubricantes, adhesivos, recubrimientos, etc. Con este objetivo, paja de cebada fermentada durante 7 días en condiciones de fermentación en estado sólido (SSF) por la cepa *Streptomyces* sp. MDG301 se ensayó como posible espesante en medios oleosos que contenían aceite de ricino para producir una grasa lubricante biodegradable. Asimismo, se determinó el perfil enzimático de la cepa en condiciones SSF, mediante la valoración de enzimas hidrolíticas (xilanasas, CMCasas y mananasas) y oxidativas (lacasas y peroxidasas) a lo largo del periodo de incubación. Las variaciones en la composición química del sustrato fermentado, en relación con un control sin inocular, se analizaron al final del periodo de incubación.

Los resultados obtenidos muestran que la actividad predominante en el extracto enzimático es de tipo xilanasas (32.45 U g⁻¹). Sin embargo, tras el análisis químico del sustrato fermentado se observó una disminución en la cantidad de lignina Klason, con respecto al control. Esta disminución ha de atribuirse a la presencia de enzimas oxidativas (ya detectadas en otras condiciones), aunque en este ensayo no se detectaron debido, probablemente, a la dificultad que entraña su extracción a partir de un cultivo SSF. El aumento observado en la fracción holocelulósica del sustrato fermentado podría ser atribuido a la ausencia de actividad CMCasa.

Por último, se ha llevado a cabo un estudio de la biodegradabilidad de las grasas lubricantes obtenidas a partir de paja de cebada control y fermentada mediante la determinación de la producción de CO₂ por la microbiota de un suelo comercial. Estas grasas fueron elaboradas por el grupo de la Dra. Valencia. Se observó un aumento de la tasa de respiración en los suelos suplementados con ambos lubricantes lo que pone de manifiesto la biodegradabilidad de estos nuevos lubricantes de origen biológico y abre nuevas perspectivas a la utilización de residuos agrícolas para la obtención de productos de alto valor agregado.

Proyecto financiado por Proyecto MINECO CTQ2014-56038-C3-2-R

POSTER 30:

Nuevos productos naturales bioactivos a partir de hongos de origen marino de la Bahía de Cádiz

María Estrella González-Rey¹, Ana Isabel Massa¹, Paula Rodríguez-Márquez², Rosario Sánchez-Maestre¹, Carlos Garrido², Sokratis Papaspyrou², Josefina Aleu¹, Rosa Durán-Patrón¹

¹Dpto. Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Campus Universitario Río San Pedro s/n, Torre sur, 4ª planta, Universidad de Cádiz, 11510, Puerto Real, Cádiz, España.

²Dpto. Biomedicina y Biotecnología, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias de Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510, Puerto Real, España.

Email: mariaestrella.gonzalez@uca.es

Los océanos cubren casi el 70% de la superficie terrestre y albergan una gran diversidad ecológica, química y biológica. Además, favorecido por las duras condiciones físico-químicas del medio marino, se producen una gran variedad de moléculas estructuralmente únicas, que difieren considerablemente de los compuestos derivados de organismos terrestres y muestran gran potencial biológico y farmacéutico [1].

La investigación sobre la química de los organismos marinos ha experimentado un aumento desde la década de los años 90, debido a la necesidad de obtener nuevos compuestos con posibles aplicaciones industriales, incluidos productos farmacéuticos, cosméticos, nutracéuticos o agroquímicos [2]. A pesar de ello, el hábitat marino está escasamente explorado; se estima que el 91% de las especies marinas aún no han sido descritas [3].

En este estudio, se han aislado e identificado diferentes especies de hongos de origen marino, procedentes de muestras de sedimentos recogidos a lo largo de un gradiente del intermareal de la Bahía de Cádiz, con el fin de obtener nuevos compuestos con interesantes actividades biológicas y potencial aplicación como fármacos, aditivos, cosméticos o agroquímicos. De todas las especies identificadas, en esta comunicación se describen los avances obtenidos en el estudio del metabolismo secundario del hongo de origen marino *Acremonium zonatum*, utilizando la aproximación OSMAC (One Strain, Many Compounds). Basándonos en esta técnica, *A. zonatum* fue cultivado bajo diferentes condiciones de fermentación, variando parámetros como composición del medio de cultivo, aireación, tipo de frasco de cultivo, etc. El extracto procedente del cultivo del hongo en medio YPD Agar durante 25 días fue separado y purificado mediante métodos cromatográficos, con el fin de identificar los metabolitos producidos por el hongo.

Bibliografía

- [1] G. Romano, M. Costantini, C. Sansone, C. Lauritano, N. Ruocco, A. Ianora. *Marine Environmental Research*, 2017, 128, 58-69.
- [2] M. Saleem, M. S. Ali, S. Hussain, A. Jabbar, M. Ashraf, Y. S. Lee. *Nat. Prod. Rep.*, 2007, 24, 1142-1152.
- [3] C. Mora, D. P. Tittensor, S. Adl, A. G. Simpson, B. Worm. *PLoS Biology*, 2011, 9 (8), e1001127.

POSTER 31:

Gestión eficiente y sostenible de efluentes en acuicultura marina mediante tecnología solar.

José A. Perales¹; Manuel A. Manzano¹; M. Carmen Garrido¹; Rocío Robles²; Julia Vélez²; Milagrosa Ramírez³; Manuel Domínguez³; Rocio Litrán³

¹Departamento de Tecnología de Medio Ambiente, Instituto Universitario de Investigaciones Marinas (INMAR), Campus de Excelencia Internacional del Mar (CEIMAR), Universidad de Cádiz.

²Centro Tecnológico de Acuicultura de Andalucía, CTAQUA

³Departamento de Física e la Materia Condensada, Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz.

Email: joseantonio.perales@uca.es

Son diversos los procesos biológicos y químicos existentes para la eliminación de nutrientes (N y P) en aguas residuales, algunos diseñados para eliminar solo nitrógeno (por ejemplo el proceso Ludzack-Ettinger modificado) o fósforo (por ejemplo la precipitación con sales de hierro), mientras que mediante otros procesos, más complejos, es posible eliminar ambos nutrientes (por ejemplo el proceso Bardenpho). Aunque estas tecnologías tienen una eficacia probada en la eliminación de nutrientes de las aguas residuales, consumen cantidades significativas de energía y productos químicos y, por lo tanto, son muy costosas.

Hace más de 50 años, varios autores (Oswald y Gotaas, 1957) sugirieron el uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales; debido a que son altamente efectivas para reducir simultáneamente la concentración de nitrógeno y fósforo, así como para aumentar la concentración de oxígeno en las aguas residuales. Sin embargo, el uso de la biotecnología de microalgas en el tratamiento de aguas residuales aún no es una alternativa tecnológica a los procesos convencionales, ¿por qué? En este trabajo, se analizan las ventajas y desventajas de la biotecnología de microalgas en comparación con los procesos de eliminación de nutrientes químicos y biológicos convencionales. Finalmente, se plantean algunos de los principales retos a resolver para conseguir que la biotecnología de microalgas en el tratamiento de aguas residuales sea una realidad viable.

Oswald, W. J. and Gotaas, H. B. (1957). Transactions. American Society of Civil Engineers. 122, 73–105.

POSTER 32:

Relevancia de la delección del gen *tri4* en *Trichoderma arundinaceum*. Una estrategia de biocontrol frente al fitopatógeno *Botrytis cinerea*

Izquierdo-Bueno¹, J. Moraga¹, R. Linares¹, R. E. Cardoza², L. Lindo², S. Gutierrez² and I. G. Collado¹.

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Puerto Real, España. ² Área de Microbiología, Escuela Universitaria de Ingeniería Agrícola, Universidad de León, Ponferrada, España.

E-mail: inmaculada.izquierdo@uca.es

Trichoderma es un género de hongos filamentosos conocido por su habilidad de actuar como agentes de biocontrol contra hongos fitopatógenos. Entre los metabolitos producidos por *Trichoderma*, los tricotecenos son micotoxinas que han mostrado un amplio abanico de actividades biológicas. Dentro del clade Brevicompactum, *Trichoderma brevicompactum* y *Trichoderma arundinaceum*, producen respectivamente dos tricotecenos diferentes, tricodermina y harzianum A.¹

Se ha llevado a cabo un estudio del metaboloma secundario del transformante de *T. arundinaceum*, *TaΔTri4*, deleccionado en el gen *tri4* que codifica para una P450 monooxigenasa necesaria para la producción de harzianum A.² Además se ha evaluado su capacidad como agente de control biológico mediante ensayos de enfrentamiento directo con el fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

Durante la interacción con *B. cinerea*, se detectó una sobreproducción de aspinolidas B y C en comparación con la cepa parental Ta37. Además, se aislaron diez nuevos metabolitos: tres aspinolidas, dos nuevas γ -lactonas, dos hemi-cetales y tres productos de degradación de aspinolidas.

Por otra parte, la producción de las principales toxinas excretadas por *B. cinerea*, botrianos y botcininas se vió inhibida en el área de interacción entre ambos hongos. Estos resultados nos han permitido profundizar en la señalización química que se produce durante la interacción entre ambos microorganismos, lo que nos ha ayudado a mejorar el conocimiento sobre los mecanismos llevados a cabo durante las interacciones ecológicas entre estos hongos.

Referencias

- [1] S. P. McCormick, A. M. Stanley, N. A. Stover, and N. J. Alexander, *Toxins* (Basel), 2011, **3**, 802–814.
- [2] M. G. Malmierca, R. E. Cardoza, N. J. Alexander, S. P. McCormick, R. Hermosa, E. Monte, and S. Gutiérrez, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, **78**, 4856–4868.

POSTER 33:

Funcionalización de ligninas mediante la lacasa SilA de *S. ipomoeae* CECT 3341 para la obtención de polímeros de utilidad industrial

Gabriela Domínguez¹, Alba Blánquez¹, Rodrigo Serrano¹, Antonio Borrero², Concepción Valencia², Francisco Guillén¹, M. Enriqueta Arias¹, Manuel Hernández¹.

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

² Dpto. Ingeniería Química, Química Física y Ciencias de los Materiales. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Huelva. Spain. E-mail: enriqueta.arias@uah.es

La lignina es un biopolímero aromático que tradicionalmente se ha considerado un producto de desecho en procesos industriales y prácticas agrícolas, así como causante de serios problemas de contaminación. En la actualidad, dicha consideración ha cambiado y hoy día la lignina se valora como un biopolímero renovable, que puede ser transformado por microorganismos o enzimas en productos de interés biotecnológico, tales como plásticos biodegradables, adhesivos, aglomerantes, pavimentos, agentes secuestrantes de iones metálicos, etc., habiéndose descrito recientemente su utilidad con fines médicos.

En este trabajo se ha planteado utilizar la capacidad oxidativa de la lacasa SilA producida por *S. ipomoeae* para formar grupos reactivos sobre la molécula de lignina, con el fin de obtener biopolímeros de valor añadido y/o biomateriales que sirvan de base para la fabricación de productos de aplicación industrial. Como ligninas susceptibles de funcionalización por la lacasa se han utilizado una lignina de origen industrial (lignina Kraft) y otra de origen agrícola (álcali-lignina de paja de trigo), optimizándose las condiciones de funcionalización mediante un diseño factorial 2² con 3 puntos centrales.

Con este diseño factorial se evaluó el efecto de los factores concentración de lignina (X1: 0,5; 1; 1,5 mg mL⁻¹) y tiempo de incubación de la misma con la enzima SilA (X2: 30, 60 y 90 min) sobre la polimerización de ambas ligninas. Las variables respuestas fueron el contenido fenólico establecido espectrofotométricamente mediante el método de Folin-Ciocalteu y la distribución de masas medias moleculares de los polímeros de lignina mediante cromatografía de exclusión molecular en HPLC-DAD.

El análisis de los resultados correspondientes a la optimización del proceso evidenció que el modelo presentó un buen ajuste con un factor determinístico (R²) de 0,87 y 0,99 para el contenido fenólico y el grado de polimerización, respectivamente. Asimismo, el análisis de la varianza reveló diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) para el factor concentración de lignina, mientras que resultó ser no significativo el tiempo de incubación con la enzima. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la capacidad de la lacasa SilA para incrementar la masa molecular media de la lignina y generar biopolímeros de mayor tamaño, tal como se requiere para las múltiples aplicaciones industriales previamente mencionadas.

Por último, a partir de la lignina kraft funcionalizada con SilA en las condiciones óptimas elucidadas, se elaboró un oleogel del que se analizaron sus propiedades reológicas y tribológicas. Los resultados obtenidos mostraron la utilidad del tratamiento de lignina kraft con la lacasa SilA para la producción de grasas lubricantes biodegradables.

Proyecto financiado por Proyecto MINECO CTQ2014-56038-C3-2-

POSTER 34:

A novel phytase from *Serratia odorifera*: Cloning, expression, characterization and production

Ramon Marques, Ignasi Salaet*, Tula Yance*, Judit Macias*, Maria Jesus Pujol, Oriol Bachs and Rosa Aligue.

Departament de Biomedicina. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona. Institute of Biomedical Research August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona 08036, Catalunya, Spain.

Fertinagro Biotech. Teruel. España

Email: aliguerosa@ub.edu

The gene *appA*, encoding a phytase from *Serratian odorifera* was cloned and heterologously expressed in *Komagataella pastoris*. The open reading from of *appA* comprised 1281 pb encoding a protein of 426 amino acids including a 26-amino acid signal peptide. The encoded phytase, APPA, shows between 58 % of homology with other histidine acid phosphatases. The purified recombinant phytase had an optimal activity at 55 °C and pH 4.5, and it exhibited a specific activity of 112 Umg⁻¹ at 37 °C. APPA protein retained more than 85% of its initial activity after being incubated under varying pH conditions (pH 2.5–6,5) at 37 °C for 3 h. APPA was resistant to heat inactivation and it retained 90% of its initial activity after incubation at 45 °C for 10 min. APPA was effective for the hydrolysis of phytate phosphorus from soybean meal *in vitro*. According to our knowledge this is the first report where is being cloned and characterized the activity of the phytase from *S. odorifera*. Comparison with other well-known phytases suggests that the *S. odorifera* phytase has the highest stable activity over the time, which makes it very suitable enzyme for feed industry use.

POSTER 35:

Exploring the Lytic Polysaccharide MonoOxygenase activity on different cellulosic substrates

Daniel Sánchez¹, Xavier Andrés¹, Òscar Domènech^{2,3}, Josefina Martínez^{1,3}, Pilar Díaz^{1,3}, Francisco J. Pastor^{1,3}, Susana V. Valenzuela^{1,3}

¹Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

²Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy and Food Science, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.

³Institute of Nanoscience and Nanotechnology (IN2UB), Universitat de Barcelona, Spain. Email: susanavalenzuela@ub.edu

Cellulose is the most abundant source of renewable carbon on earth and the major component of lignocellulose. It has become one of the most powerful and sustainable alternatives in green chemistry as a platform for generation of biofuels, fine chemicals, and solvents. Likewise, great efforts have been done for the development of new cellulose-based biomaterials. Nevertheless, it has not yet been possible to fully exploit industrial applications of cellulosic materials, due to their recalcitrant nature. The study on lignocellulosic degrading enzymes historically involves hydrolytic enzymes, but this paradigm has been completely revolutionized by the recent discovery of accessory enzymes like Lytic Polysaccharide MonoOxygenases or LPMOs: these non-hydrolytic enzymes are able to disrupt the carbohydrate polymers by an oxidative mechanism, where the LPMOs cleave glycosidic bonds that are inaccessible to polysaccharide hydrolytic proteins, through a mechanism dependent on copper ion, boosting the overall efficiency of enzymatic biomass degradation. The activity of LPMOs has been demonstrated by the release of oxidized soluble cello-oligosaccharides from cellulosic substrates, but the mode of action of these enzymes on the solid surface of the polymer remains unclear.

Oxidative chain cleavages in crystalline areas of cellulose are expected to cause local disruptions of the ordered structure of cellulose; therefore, LPMOs might facilitate the action of hydrolytic enzymes. To provide relevant insights based on direct evidence, a series of cellulosic substrates has been produced, treated with LPMOs from *Sterptomyces ambofaciens* and analysed by HPAEC-PAD and AFM. The results show that the activity of the evaluated LPMO shows a high variability depending on the nature of the cellulosic substrate applied and on the degree of crystallinity.

Acknowledgements

This work was partially funded by the Spanish MINECO MICROBIOCEL (CTQ2017-84966-C2-2-R), AGAUR from Generalitat de Catalunya, grant 2017SGR30, the Catalan Biotechnology Reference Network (XRB) and by the Ajut a la Recerca Transversal IN2UB Convocatòria ART 2017.

POSTER 36:

Caracterización de las sesquiterpeno ciclasas 3 y 4 (STC 3 y STC4) presentes en el genoma del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*

I. R. Suárez-Cáceres,¹ C. Garrido,² J. M. Cantoral,² I. G. Collado¹

¹ Universidad de Cádiz, Departamento de química orgánica, Facultad de ciencias, Puerto Real, España

² Universidad de Cádiz, Departamento de biomedicina y biotecnología, Laboratorio de microbiología, Facultad de ciencias del mar y ambientales, Puerto Real, España
Email: ivonne.suarez@uca.es

El hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* es el responsable de la enfermedad conocida como podredumbre gris sobre una amplia variedad de cultivos comerciales, afectando a más de 1400 especies. Esto representa un grave problema tanto en el estado de cosecha como en el almacenamiento, causando grandes pérdidas económicas y generando repercusión en la rentabilidad del sector industrial.¹

Para identificar potenciales rutas biosintéticas involucradas en la producción de metabolitos secundarios en *B. cinerea*, se han localizado en el genoma los genes que codifican enzimas clave en el metabolismo secundario, las cuales se clasifican en 8 péptido sintasas norribosomiales (NRPS), 22 policétido sintasas (PKS), 1 dimetilalil triptófano sintasa (DMATS), 6 sesquiterpeno ciclasas (STC) y 3 diterpeno ciclasas (DTC).²

En esta comunicación se lleva a cabo una aproximación a la caracterización funcional de la sesquiterpeno ciclasas 3 y 4 (STC3 Y STC4) potencialmente implicadas en la biosíntesis de una nueva familia de sesquiterpenos con esqueleto de tipo eremofileno, aislados de *B. cinerea*. La investigación se realizó mediante el análisis de expresión de los niveles de los genes que codifican las *BcSTC* y el estudio comparativo de la producción de metabolitos secundarios de cepas silvestres: *B. cinerea* UCA992 y B05.10 y cepas mutantes delecionadas *Bcstc3Δ* y *Bcstc4Δ* usando cantidades subletales de Cu.

Los resultados obtenidos sugieren que los dos genes que codifican las sesquiterpeno ciclasas STC3 y STC4 son genes parálogos, implicados en la ruta biosintética de los metabolitos de tipo eremofileno aislados del hongo fitopatógeno *B. cinerea*. Con el fin de confirmar esta teoría, se han construido dobles mutantes delecionados en las sesquiterpeno ciclasas 3 y 4, *Bcstc3ΔBcstc4Δ*. El estudio de los metabolitos secundarios producidos por estos nuevos mutantes permitirá obtener información sobre el papel de estas sesquiterpeno ciclasas en el metabolismo de este hongo fitopatógeno.

1. Y. Elad, I. Pertot, A. M. Cotes Prado, and A. Stewart, in *Botrytis – The fungus, the pathogen and its management in agricultural systems*, eds. S. Fillinger and Y. Elad, Springer International Publishing, 2016, pp. 413-486.

2. J. Amselem, C. A. Cuomo, J. A. van Kan, et al., PLoS Genet., Genomic Analysis of the Necrotrophic Fungal Pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. PLoS Genet. 7, 2011.

POSTER 37:

Structural features determine the antioxidant activity of xylooligosaccharides produced by different xylanase families

Jesica M. Soder¹, Cristina Valls², F. Javier Pastor^{1,3}, Susana V. Valenzuela^{1,3}.

¹Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, Universitat de Barcelona, Av. Diagonal 643, 08028 Barcelona, Spain

²CELBIOTECH_Paper Engineering Research Group, Universitat Politècnica de Catalunya_BarcelonaTech, C/ Colom 11, 08222 Terrassa

³Institute of Nanoscience and Nanotechnology (IN2UB), Universitat de Barcelona, Spain

Email: susanavalenzuela@ub.edu

Xylan is one of the most extended carbohydrates in nature after cellulose. Therefore, its application as a substrate for sustainable biotechnological processes has an important relevance. Hydrolysis of the $\beta(1\rightarrow4)$ glycosidic linkage of xylan can lead to xylooligosaccharides (XOS). These are non-digestible oligosaccharides, with favorable physicochemical features as food ingredients. Due to the variability of decorations that are present in the xylan chain, it is possible to obtain XOS with different substitutes and a different degree of polymerization (DP) depending on the source of the xylan and the hydrolysis method applied for its obtention. These variations in structural features can provide differences in the valuation of properties they present. The term arabinoxylan is used to describe xylan of cereals and grasses, which shows abundant decorations of arabinose and ferulic acid. On the other hand, xylan from hardwood species is denominated glucuronoxylan (GX), as is highly substituted with methylglucuronic acid decorations (MeGlcA).

The antioxidant activity of XOS has been recently described, but the roles of the structures that are involved are not fully understood. In order to study this, three different xylanases from *Paenibacillus barcinonensis* belonging to glycosyl hydrolases families GH10, GH11 and GH30 were used to produce XOS from hardwood xylan. XOS released from GX by GH10 and GH11 xylanases are a mixture of linear (neutral) and substituted (acidic) oligomers. XOS released by xylanases of family GH30 are all MeGlcA substituted xylooligomers. Their antioxidant effect was studied by the colorimetric ABTS method.

The acidic GH30-XOS, showed a higher antioxidant activity than the GH-10 and GH-11 XOS. Moreover, the antioxidant activity increases with the DP of XOS produced. Our results showed an antioxidant dose-dependent response, which was increased in MeGlcA substituted oligosaccharides. XOS produced enzymatically from GX as substrate, present an environmental friendly and natural alternative antioxidant for food-related applications, or even as nutraceuticals compounds, for this reason, other potential beneficial properties of the xylooligosaccharides in this study are currently under investigation.

Valls et al. (2018) *Carbohydrate Polymers*, (194), 43-50

Acknowledgements: This work was partially funded by the Spanish MINECO MICROBIOCEL (CTQ2017-84966-C2-2-R), AGAUR from Generalitat de Catalunya, grant 2017SGR30 and the Catalan Biotechnology Reference Network (XRB). Special thanks are also due to the Serra Hunter Fellow to Cristina Valls and the Fellow from the Programa Nacional de Becas Don Carlos Antonio Lopez, from the Ministerio de Hacienda of Paraguay to Jesica Soder.

POSTER 38:

Cepas de levaduras *no Saccharomyces* aisladas de masas madre y sus cualidades para panificación

José Antonio Uña¹, Lorena Celador¹, Rosa Ana Chiva², Paula Xiomara Méndez¹, Soledad Vega¹, M^a Encarnación Velázquez¹, Mercedes Tamame², María Ángeles Santos¹

¹Departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca, Edificio Departamental, Campus Miguel de Unamuno, 37007, Salamanca.

²Instituto de Biología Funcional y Genómica, IBFG, CSIC-Universidad de Salamanca, Calle Zacarías González 2, 37007, Salamanca.

E-mail: gemail@usal.es

Las levaduras desempeñan una función esencial en la elaboración de alimentos fermentados, en los que están presentes o se añaden como cultivos iniciadores o *starters*. En particular, se ha encontrado una gran diversidad de especies de levadura en masas madre de cultivo (MMC) naturales, es decir, aquellas desarrolladas a partir de fermentaciones espontáneas de harina y agua, que se usan, en ciertos obradores, como inóculo para fermentar masas panarias de gran calidad. Junto a la bien conocida *Saccharomyces cerevisiae*, las levaduras más comunes encontradas en las MMC son *Candida humilis*, *Torulaspora delbrueckii*, *Wickerhamomyces anomalus* y especies del género *Pichia*.

Además de CO₂ y etanol, las levaduras pueden producir metabolitos que afectan al sabor del pan, como son ácidos orgánicos, diacetilo, alcoholes de cadena larga o ésteres. Adicionalmente, las levaduras *no Saccharomyces* pueden aportar actividades enzimáticas que contribuyen a la mejora del procesamiento de la masa panaria y a las cualidades finales del producto horneado. Actividades enzimáticas como la amilolítica, proteolítica, xilanolítica, celulolítica y lipolítica pueden afectar positivamente a la tasa de fermentación de la masa panaria, a su amasado, extensibilidad, gomosidad y estabilidad, respectivamente, incidiendo también en características del producto final.

Más aún, algunas levaduras están capacitadas para degradar compuestos que afectan a la calidad nutricional del pan elaborado con harinas integrales, caso del ácido fitico, o de fracciones proteicas poco digestibles, como sucede con las gliadinas del gluten que pueden ser degradadas por gliadinasas específicas. El ácido fitico, abundante en harinas integrales, inhibe la absorción de minerales (Ca²⁺, Zn²⁺, Mg²⁺) en el tracto gastrointestinal, por lo que su ingesta no debe ser elevada. La degradación incompleta, en el tracto digestivo, de gliadinas, abundantes en harinas de trigo panadero o de otros cereales, puede llevar a la acumulación de péptidos en el lumen intestinal que disparan una respuesta inflamatoria, tanto en personas susceptibles al gluten como en personas celiacas.

En este trabajo, presentamos cepas de levaduras *no Saccharomyces* aisladas de masas madre de panadería y de MMC. Además de las levaduras mencionadas arriba, hemos encontrado también especies de los géneros *Meyerozyma* y *Kazachstania*. Entre las propiedades más relevantes en panificación de algunas de esas levaduras están la capacidad de degradar fitato y gliadinas. La fermentación de masas de panificación a las que se les añaden cepas de las especies de levaduras *no Saccharomyces* identificadas, demuestra que algunas de esas levaduras confieren propiedades organolépticas distintivas a los productos experimentales elaborados con ellas.

POSTER 39:

Extracción y caracterización de biosurfactantes producidos por bacterias aisladas para su uso en la degradación de hidrocarburos derivados del petróleo

Gilberto Pinto-Liñán¹, Gloria Andrea Silva-Castro², Alfonso Rodríguez-Calvo², Tatiana Robledo-Mahón², Alma Paz-González¹, Lenci K Vazquez-Jiménez¹, Gildardo Rivera-Sánchez¹, Concepción Calvo²

¹, Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, 88710, Reynosa (México)

², Departamento de Microbiología, Instituto de Investigación del Agua, Universidad de Granada 18071 Granada (España)

Email: gpintol1600@alunmo.ipn.mx y Gilbertopl_91@hotmail.com

La contaminación de suelos por hidrocarburos, es un problema global que ha ocasionado una creciente preocupación. En este sentido, se han desarrollado distintas técnicas para la remediación de la contaminación ambiental, de las cuales, las técnicas biológicas han despertado gran interés debido a su eficacia, a su bajo costo y a ser tecnologías ambientalmente seguras. La biorremediación de los hidrocarburos derivados del petróleo, es eficaz debido a que gran parte de ellos son biodegradables, a que existe una amplia diversidad de microorganismos con capacidad para degradar dichos contaminantes y a que la microbiota degradadora es estimulada por la presencia del hidrocarburo. Sin embargo, una característica que dificulta la biodegradación de estos compuestos, es su baja biodisponibilidad por su carácter hidrofóbico y su capacidad para adherirse a superficies sólidas. Por ello, el uso de surfactantes en los tratamientos de ecosistemas contaminados es una de las opciones más utilizadas. Los microorganismos producen con frecuencia polímeros extracelulares con actividad emulgente y/o surfactante, los cuales pueden definirse como moléculas anfipáticas biodegradables con una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas como agentes humectantes, dispersantes, emulsificantes, agentes espumantes y detergentes. Estos biopolímeros se han utilizado en la industria petrolera, de cosméticos, de alimentos y farmacéutica, debido a su bajo costo de producción, baja toxicidad, mayor aceptación ecológica y mayor biodegradabilidad en comparación con los surfactantes sintéticos. En el presente trabajo se realizó la extracción y caracterización de biosurfactantes producidos por bacterias aisladas para su uso en la degradación de hidrocarburos. Veinte cepas bacterianas pertenecientes a los géneros: *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, y *Brachybacterium* aisladas de suelos de Reynosa México y de la zona norte de Túnez, fueron seleccionadas para este estudio. Para ello, las bacterias se cultivaron en medio de cultivo MY y se incubaron durante 7 días a 30 ° C, posteriormente se realizó la extracción mediante precipitación con etanol a -80° C, el precipitado se dializó frente a agua bidestilada y se liofilizó para determinar el rendimiento de producción y la composición de carbohidratos, proteínas, ácidos urónicos y restos acetilos. La actividad emulgente se determinó frente a hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos aromáticos y mezclas complejas de hidrocarburos. Para determinar la eficacia de los aislados en la producción de los biopolímeros se determinó las correlaciones entre la actividad emulgente, el rendimiento de producción y la composición química de cada uno de los polímeros aislados

POSTER 40:

***BcBOT7*, ¿un nuevo gen en la vía biosintética botridial?**

Javier Moraga,^{1,2} Inmaculada Izquierdo-Bueno,¹ Victoria E. González-rodríguez,² Rocío Linares,¹ Carlos Garrido,² Jesús M. Cantoral,² Isidro G. Collado.¹

1 Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias.

2 Departamento of Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real.

E-mail: javier.moraga@uca.es

Botrytis cinerea es un hongo necrotrófico causante de la enfermedad conocida como podredumbre gris que afecta a más de 1400 especies de plantas. Numerosos metabolitos secundarios se han aislado de cultivos de fermentación de *B. cinerea*, entre los que se encuentran dos familias de fitotoxinas no específicas del huésped: los sesquiterpenos botridial (BOT) y sus derivados (botrianos), así como los policétido, el ácido botcínico (BOA) y las botcininas, relacionadas estructuralmente. Los genes implicados en la producción de BOT y BOA están organizados en clústeres dentro del genoma de *B. cinerea*. El clúster de genes BOT contiene cinco genes que codifican enzimas biosintéticas, así *BcBOT2* codifica para una sesquiterpeno ciclasa, que es la primera enzima clave fúngica descubierta capaz de convertir difosfato de farnesilo en presilphiperfolan-8-ol. *BcBOT1*, *BcBOT3* y *BcBOT4* codifican monooxigenasas del citocromo P450. Finalmente, *BcBOT5* codifica una acetil transferasa, también involucrada en la biosíntesis de la toxina.

El estudio de la región genómica del clúster de genes biosintéticos BOT, reveló la existencia de dos genes adicionales, llamados *BcBOT6* y *BcBOT7*. Los patrones de expresión indicaron que los genes *BcBOT1-5* y el gen *BcBOT7*, dependen de la proteína *BcBOT6*, que se encuentra adyacente a los cinco genes estructurales implicados en la biosíntesis de BOT, y está dedicada a la regulación del clúster de genes BOT.

El gen restante cuyo papel en la producción de BOT aún no se ha confirmado es *BcBOT7*, que se predice que codifica para una deshidrogenasa, la cual podría estar involucrada en la conversión de BOT a dihidrobotridial. La identificación de *BcBOT7* es el primer paso hacia una comprensión integral de la biosíntesis completa de BOT y de su papel ecológico en el ciclo de vida de *B. cinerea*. Con el fin de conocer su verdadera implicación en la ruta biosintética, se generarán mutantes nulos en este gen y se realizará un posterior estudio metabolómico.

POSTER 41:

Estudio del papel de las micorredoxinas frente al estrés oxidativo en *Rhodococcus equi*

Álvaro Mourenza, Inés Pradal, José A. Gil, Michal Letek y Luis M. Mateos
Área de Microbiología, Departamento De Biología Molecular Facultad de Biología-Ambientales, Universidad de León.
Email: amouf@unileon.es

Rhodococcus equi es un microorganismo Gram-positivo presente en suelos perteneciente al grupo de las actinobacterias, y que se encuentra en hábitats muy variados. Es el agente causal de bronconeumonía en ciertos animales (principalmente potros) y ocasionalmente en seres humanos inmunosuprimidos. *R. equi* se comporta como patógeno intracelular, replicándose en los macrófagos alveolares donde es sometido a altas concentraciones de agentes oxidantes (Radicales Libres de Oxígeno y Nitrógeno, RLON). La capacidad de *R. equi* de infectar macrófagos se debe, principalmente, a la presencia de un plásmido de virulencia denominado pVAPA/B, que expresa ciertos factores de virulencia con un papel muy relevante durante el proceso de infección; la expresión de estos genes está ligada principalmente a los cambios de temperatura y pH que tienen lugar en el interior de los macrófagos. También se ha demostrado que estos factores de virulencia plasmídicos están regulados, y a la vez regulan diferentes genes del cromosoma bacteriano.

Actualmente no se conocen los mecanismos empleados por *R. equi* para sobrevivir a altas concentraciones de RLONs, pero todo parece indicar que los sistemas de regulación Redox bacterianos ejercerán un papel clave. Las micorredoxinas (Mrxs) juegan un papel muy relevante en este proceso, como ya se ha descrito en el caso de las actinobacterias *Corynebacterium glutamicum* y *Mycobacterium tuberculosis*. Tras una serie de estudios bioinformáticos se han encontrado tres genes con una alta homología con micorredoxinas (*mrx1*, *mrx2* y *mrx3*). Estas proteínas podrían estar implicadas en la reducción de los componentes celulares oxidados, permitiendo así la supervivencia de *R. equi* en el interior de los macrófagos. Durante el proceso de infección *R. equi* es sometido a cambios de temperatura, pH y disminución de la concentración de hierro, lo cual favorecería la expresión de factores de virulencia y posiblemente de los genes para micorredoxinas.

A partir de esta información se han construido mutantes de *R. equi* que presentan delecciones para los genes de micorredoxinas y se ha estudiado su viabilidad celular frente a diferentes agentes oxidantes (peróxido de hidrógeno, diamida e hipoclorito sódico, entre otros), estando sometidos a diferentes temperaturas de crecimiento (30°C y 37°C) y pH (6 o 7).

Igualmente se han utilizado sensores de estrés oxidativo celular para valorar la actividad de las micorredoxinas. Uno de estos sensores, roGFP2 (basado en la proteína verde fluorescente) ha sido fusionado a las distintas micorredoxinas, de forma que en estado oxidado el sensor se excita a una longitud de 390nm mientras que en forma reducida su excitación será a 490nm; en ambos casos la emisión es a 530nm. Con el fin de evaluar la actividad *in vitro* de una de las micorredoxinas (ReMrx3), se construyó un vector que genera la proteína de fusión ReMrx3-roGFP2, el cual fue clonado en el mutante de *R. equi* *mrx3*⁻. Este clon mutante complementado (con sensor) ha sido sometido a diferentes ensayos de crecimiento bajo condiciones de estrés, midiendo la relación de absorbancias 390/490 nm a lo largo del tiempo y arrojando información sobre la actividad Redox de ReMrx3.

POSTER 42:

TOPCAPI: ingeniería genética de *Streptomyces* para la producción avanzada de fármacos

Antonio Rodríguez-García, María del Rosario Pérez-Redondo, Alberto Sola-Landa, Irene Santamarta, Carlos Barreiro, Isabel Clara Sánchez-Orejas, Consorcio TOPCAPI

Instituto de Biotecnología de León INBIOTEC. Avenida Real 1. 24006 León

Email: antonio.rodriguez@inbiotec.com

El proyecto TOPCAPI (*Thoroughly optimised production chassis for advanced pharmaceutical ingredients*) explotará la capacidad biosintética natural de los actinomicetos para producir dos tipos de compuestos de gran valor. El proyecto está financiado por el programa de investigación e innovación H2020 de la Comisión Europea (contrato n.º 720793) y en él participan socios de centros académicos y de investigación del Reino Unido (2), España (2) y Eslovenia (1), y socios industriales de Italia (2) y Eslovenia (1).

Los compuestos diana del proyecto son, por un lado, el precursor tiopeptídico de la semisíntesis de un nuevo fármaco antiacné de uso tópico que está actualmente en ensayos clínicos de Fase II y, por otro lado, los precursores para la producción semisintética de tetraciclinas policétidas de tipo II, de gran importancia médica para el tratamiento de las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).

Para lograr la producción biotecnológica de estos compuestos TOPCAPI modificará por ingeniería genética dos especies hospedadoras de *Streptomyces*. Para determinar la estrategia de las modificaciones génicas se analizarán las especies hospedadoras con métodos de biología de sistemas. En concreto, se integrarán los resultados de experimentos de transcriptómica y metabolómica en modelos matemáticos predictivos. Estos modelos han de servir, utilizando enfoques avanzados de ingeniería metabólica y biosintética, para la mejora rápida de las factorías microbianas en la producción industrial de fármacos.

Página del proyecto: www.topcapi.eu

POSTER 43:

Aislamiento y caracterización de bacterias productoras de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de fuentes agrícolas

Andrés Felipe Villa Restrepo¹ Wilman Alcaraz Zapata¹, José Gregório Cabrera Gomez², Alejandro Acosta Cárdenas¹, Jenifer Urán Álvarez¹.

¹Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia

²Laboratorio de Bioproductos, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Sao Paulo - Brasil. Email: andres.villa@udea.edu.co

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son poliésteres producidos por bacterias en forma de gránulos intracelulares de reserva de carbono y energía. Estos materiales despiertan un gran interés biotecnológico, ya que poseen propiedades termoplásticas y elastoméricas semejantes a los plásticos de origen petroquímico. Existe en los diversos ambientes agrícolas una variedad de bacterias capaces de producir biopolímeros tipo PHA, con gran potencial para ser implementados a nivel industrial. El primer paso en la estrategia para mejorar la producción de PHA es principalmente, el aislamiento y selección de microorganismos con la capacidad de producir altas concentraciones del biopolímero. En este estudio, un total de 60 morfotipos bacterianos fueron aislados a partir de muestras del ambiente agrícola como suelos de cultivos, harinas y tejidos vegetales, los cuales fueron cultivados en un medio de cultivo que favorece la producción de PHA por su desbalance en la relación carbono/nitrógeno. Por medio de la caracterización cualitativa con dos colorantes lipofílicos negro de Sudán B y rojo Nilo A, se determinó que 17 de los aislados acumularon intracelularmente gránulos de PHA usando glucosa como única fuente de carbono. También, se detectó por cromatografía de gases que 11 (64,7 %) de los aislados evaluados forman un pico con tiempo de retención similar al éster de metilo 3-hidroxibutirato (PHB). De estos, se encontró que los aislados SB34 y MT60 tuvieron mayor producción del homopolímero de PHB en comparación con las cepas de referencia, 16.7 % de acumulación del polímero por biomasa celular seca por el aislado SB34 y de 9.5 % por el aislado MT60, mientras que estos porcentajes fueron de 15,5 y 7,3 % por las cepas de referencia *R. eutropha* H16 y *B. sacchari* LFM 101, respectivamente. Luego, se seleccionaron los aislados que acumularon cantidades superiores al 8 % de PHA / peso seco celular y fueron identificados por medio de la secuenciación del gen 16S rDNA con la cual, se determinó que el aislado más productor pertenecía al género *Burkholderia* sp. (96 % de identidad). La metodología implementada permitió aislar e identificar bacterias de los ambientes agrícolas con potencial en la producción de un PHA a partir de sustratos simples, con propiedades termoplásticas interesantes para la industria.

POSTER 44:

Identificación de microorganismos por técnicas ópticas y espectroscópicas

Andrés Felipe Villa Restrepo¹, Alejandro Mira Agudelo², María Marcela Manrique Moreno³, Javier Silva Agredo⁴, Yuliana Arango Escudero¹

¹ Grupo de Bioprocesos Microbianos, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; ²Grupo de Óptica y Fotónica, Instituto de Física, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; ³Grupo de Bioquímica Estructural de Macromoléculas, Instituto de Química, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; ⁴Grupo de Investigación en Remediación Ambiental y Biocatálisis, Instituto de Química, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Email: andres.villa@udea.edu.co

Los microorganismos están presentes en numerosos bioprocesos de importancia clínica, industrial y ambiental. Existen diferentes métodos para la identificación y caracterización microbiana, que van desde los morfológicos, tintoriales y bioquímicos, hasta el desarrollo de técnicas moleculares como la secuenciación del gen 16 rDNA que permite la identificación y caracterización microbiana de manera específica. Sin embargo, el desarrollo de estas últimas requiere de inversión tecnológica y de personal altamente calificado, lo cual hace de su implementación un proceso costoso. Por lo tanto, se considera prioritario implementar estrategias alternativas de identificación como la espectroscopia y la caracterización por patrones de dispersión de la luz. En este trabajo, se evaluó el uso de los patrones difractivos de la luz y la espectroscopia infrarroja en la identificación rápida y confiable de microorganismos. Para esto, se analizaron los patrones de difracción de la luz de colonias de 10 microorganismos de importancia clínica, industrial y ambiental; y sus perfiles vibracionales mediante espectroscopia infrarroja y se evaluó la capacidad de estas dos técnicas para la identificación microbiana. A primera vista, los espectros entre bacterias muestran similitud; sin embargo, para cada cepa los espectros tienen diferencias específicas a lo largo del rango espectral de 4000 - 400 cm^{-1} . Al observar cada una de las ventanas espectrales analizadas, se encontraron pequeñas diferencias, especialmente en la región de 1180 - 920 cm^{-1} (W4) que se pueden atribuir a los cambios de polisacáridos, lo que permite diferenciar entre bacterias (Gram negativas y Gram positivas) y levaduras. Por otro lado, el método de difracción mostró ser una técnica rápida, confiable, no invasiva, sensible y específica para diferenciar colonias de microorganismos aplicados en la industria, el ambiente y la clínica. Los resultados generados mostraron que estas técnicas son una buena herramienta en identificación de microorganismos “desconocidos”, sin embargo, es importante que las bases de datos que se creen tengan mayor cantidad y diversidad de patrones de difracción que permitan diferenciar e identificar en un mayor rango a los microorganismos.

POSTER 45:

Bioprospección de actinomicetos en suelos de Canarias con potencial biotecnológico.

David Tomás Montesdeoca Flores, Eduardo Antonio Hernández Bolaños, Estefanía Abreu Yanes, Milagros León Barrios y Néstor Javier Abreu Acosta.

Nertalab S.L. C/ José Rodríguez Moure, nº4 38008.

Email: davidmontesdeocaflores@gmail.com

Los actinomicetos son un amplio grupo de procariotas Gram positivos, cuyo hábitat más característico es el suelo. Además de desempeñar importantes funciones ecológicas, tienen un enorme potencial biotecnológico, por su metabolismo secundario productor de numerosas moléculas bioactivas de gran interés comercial e industrial, cuyo ejemplo más representativo es el abrumador número de antibióticos de uso clínico que tiene su origen en este grupo de bacterias. En este trabajo se ensayaron distintas metodologías para el aislamiento de actinomicetos a partir de suelos de tres zonas de la isla de Tenerife con características edafoclimáticas diferentes: Una zona árida en la costa sur de la isla, una zona húmeda representada por el bosque de laurisilva y una zona de alta montaña canaria en las inmediaciones del Teide. Las metodologías ensayadas incluyeron el uso de diferentes medios de cultivo de distinta riqueza, adicionando en ocasiones extracto del propio suelo a tratar, con y sin adición de antibióticos y tratamientos físicos (60°C, 20x min) y químicos (SDS 0,1x%). Además, se valoró el aislamiento selectivo de actinomicetos utilizando filtros de 0,22 µm como una barrera física.

Los resultados de este trabajo mostraron que el secado al aire de la muestra durante 7 días (pretratamiento) produjo uno de los mejores recuentos de actinomicetos para los tres suelos y en cualquiera de los medios de cultivo. Por el contrario, el peor resultado se obtuvo combinando un medio pobre suplementado con extracto de levadura (Tap Water Yeast Extract) combinado con el tratamiento físico (63,43% de actinomicetos). El uso de filtros produjo aislamientos específicos de actinomicetos. Entre los actinomicetos aislados se seleccionaron un grupo de cepas representativas de cada suelo y se describieron macroscópica y microscópicamente. Las características fenotípicas de estos aislados son en su mayoría compatibles con especies del género *Streptomyces*. La evaluación en estas cepas de la capacidad para producir compuestos con actividad antimicrobiana mediante un primer test en placa, mostró que el 33,33% de los aislados presentó algún tipo de actividad frente a bacterias grampositivas, gramnegativas o levaduras.

POSTER 46:

Actividades enzimáticas de interés industrial en actinomicetos de suelos canarios.

Eduardo Antonio Hernández Bolaños, Estefanía Abreu Yanes, David Montesdeoca Flores, Milagros León Barrios y Néstor Abreu Acosta
Nertalab S.L, C/José Rodríguez Moure, nº4, Bajo. Santa Cruz de Tenerife.
Email: Eduardo_ahb@hotmail.com

Los actinomicetos son un grupo amplio de bacterias Gram positivas cuyo ambiente principal es el suelo, donde desempeñan importantes funciones en la descomposición de la materia orgánica. Varias de estas actividades están relacionadas con la degradación de polímeros complejos, lo que los convierte en una fuente importante de enzimas hidrolíticas de con un gran interés biotecnológico.

En este trabajo se ha evaluado la capacidad para degradar proteínas, lípidos, almidón y celulosa en un grupo 91 cepas de actinomicetos aislados en tres suelos naturales de la isla de Tenerife (costa, laurisilva y alta montaña) y en un suelo de una explotación agrícola de plataneras (cultivo tradicional de las islas). Estas actividades se determinaron midiendo los halos de degradación en ensayos en placas con medios específicos suplementados con dichos polímeros.

Los resultados de este estudio mostraron que el suelo de laurisilva presentó las medias más altas para las 4 actividades ensayadas, contrastando con el suelo agrícola, que presentó las más bajas. Sin embargo, los actinomicetos que presentaron las degradaciones más altas para cada tipo de polímero (por encima del percentil 90), pertenecían en su mayoría al suelo de costa. En total, de los 91 actinomicetos ensayados, 81 fueron capaces de degradar los 4 tipos de polímeros, siendo la actividad menos frecuente la proteolítica seguida de la lipolítica. Todos los actinomicetos mostraron la capacidad de degradar tanto almidón como celulosa.

POSTER 47:

Efecto de microorganismos autóctonos y selección de cultivo para elaboración de suero costeño

Vela A ¹, Valencia-García F ²¹Estudiante de Maestría en Biología, Facultad de Ciencia Naturales y Exactas, Universidad de Antioquia.²Grupo Biotransformación, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia.

INTRODUCCIÓN. El suero costeño (SC) es un producto lácteo fermentado artesanal elaborado en la Costa Atlántica Colombiana, como sustento económico de familias de la región, el cual es producido por una “acidificación espontánea” de leche cruda (Chamie & García, 1999; Cueto & Garcés, 2007)., que debido a condiciones ambientales, falta de prácticas higiénicas y la inexistencia de agua con tratamiento adecuado, se convierte en un sustrato para una cantidad de microorganismos que ponen en riesgo la salud del consumidor y otros que dan características sensoriales no deseadas en el producto. En busca de mejorar la calidad, la implementación de procesos de pasteurización se hace prioritaria, pero la destrucción no sólo de microorganismos patógenos es inminente, afectando también microorganismos autóctonos involucrados en el proceso de fermentación (Awad & Ahmed, 2007) (Bruno, Glikmann, & Intorno, 2011) (Leroy & De Vuyst, 2004).; por esta razón se hace necesario la selección de cultivos lácticos con el fin de dirigir y regular dichos procesos, y de esta manera lograr una calidad sensorial y microbiológica del producto que resulten seguros para el consumidor (Powell et al., 2011; Kashet, 1987 citado por Alvarado et al., 2007).

OBJETIVO: Evaluar el efecto en SC de microorganismos autóctonos adicionados solos o en mezclas sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales.

METODOLOGÍA. Los aislados de *Lactobacillus plantarum* (Lp), cepa 60-1, *Lactococcus lactis* (Ll), cepa 34-3, *Streptococcus infantarius* (Sti), cepa 46-3 fueron obtenidos de SC artesanal (Motato et al., 2017). El SC fue elaborado a escala de laboratorio a un volumen de 15 litros de leche pasteurizada y el porcentaje de inóculo fue del 2%. Las proporciones de un solo microorganismo o sus mezclas para ajustar la totalidad del inóculo, fue calculada con un diseño factorial empleando el software para el diseño de mezclas (Desing Expert 10), lo que dio como resultado un total de 17 mezclas. Cada microorganismo fue activado en leche de manera individual y adicionado según la proporción indicada por el diseño. La fermentación tuvo una duración de 24 horas a 25 °C ± 3°C y el desuerado fue de 8-12 horas. El filtrado obtenido fue salado al 1% y empacado hasta la realización de los análisis. Los productos fueron caracterizados fisicoquímica (pH, acidez y humedad) y sensorialmente por 15 panelistas semi-entrenados evaluando apariencia, olor, textura en la boca, sabor y retrogusto.

CONCLUSIÓN. La utilización de un diseño de mezclas y los análisis sensoriales resultan ser una herramienta útil para poder valorar el efecto de los microorganismos autóctonos, cuando las propiedades fisicoquímicas no son diferenciadas, para la definición de cultivos iniciadores para la elaboración de Suero costeño. Para este estudio, las proporciones de cepas que presentaron los atributos de calidad mejor valorados fueron en su orden Lp -Ll. en proporción 2:1, Sti -Lp -Ll en proporción 4:1:1 y Sti -Lp -Ll en proporción 1:1:1.

POSTER 48:

Potencial de microalgas nativas para el tratamiento de lixiviados (Proyecto ReCO₂overy)

Manuel Camilo Pardo Castillo, Liliana Griego, José Manuel González José Manuel Rico

Departamento de Biología de Organismos y Sistemas, Calle Catedrático Rodrigo Uría s/n, 33071, Oviedo.

Email: mcpardoc@hotmail.com

ReCO₂very fue un innovador proyecto de investigación dentro de la convocatoria RETOS del Plan Nacional de Ciencia y Tecnología desarrollado entre el 2015 y 2017 que investigó el aprovechamiento de las emisiones de CO₂ de las incineradoras de residuos para el cultivo eficiente de microalgas. A su vez, se desarrolló un proyecto en el que se realizó una caracterización de la comunidad microalgal presente en la propia planta de tratamiento (COGERSA, Asturias) seleccionando las cepas para su identificación seguido de su crecimiento en lixiviados (materia orgánica en descomposición) resultantes del proceso de depuración en distintas concentraciones para finalmente obtener biomasa que pueda tener un alto potencial tanto comercial como biotecnológico produciendo metabolitos secundarios, pigmentos (carotenoides), lípidos, entre otros.

Se tomaron muestras de estanques estacionales y permanentes teniendo en cuenta sus características morfológicas y los parámetros fisicoquímicos. Se dejaron sedimentar 24-48 h en placas de sedimentación y vistas al microscopio de contraste de fases para su identificación y estimación de la concentración celular total. Se determinaron 61 especies distribuidas en siete charcas estacionales y cinco estanques permanentes, Euglenophyta como Cyanophyta son grupos característicos de este tipo de ambientes, Bacillariophyta y Chlorophyta son los grupos con mayor presencia, géneros como *Chlorella*, *Desmodesmus* y *Chlamydomonas* estuvieron presentes y son ampliamente reconocidos por su producción en cultivos o bioindicadores ambientales.

Resultados posteriores, 14 cepas fueron aisladas, identificadas y sometidas hasta concentraciones elevadas de lixiviado permeado (resultado de la depuración) creciendo de forma diferente. Dos cepas (*Chlorella* sp. y *Coelastrella* sp. 2) crecieron en concentraciones altas de permeado (50% o más), otra cepa (*Coelastrella* sp. 1) muestran un gran potencial como fuente de carotenoides y otra (*Acutodesmus obliquus*) remueve del medio el fósforo total en más del 50% en concentraciones de hasta el 25% de lixiviado permeado.

POSTER 49:

Determinación de la secuencia cromosómica de *Streptomyces tsukubaensis*, productor del inmunosupresor tacrolimus, mediante ultrasecuenciación PacBio

Maria del Rosario Pérez-Redondo, María Teresa López-García, Alberto Sola-Landa, José Manuel Murciego-Copete, Marta Crespo-Sánchez, Miriam Castro-Mariñas, Carlos Barreiro, Antonio Rodríguez-García

Instituto de Biotecnología de León INBIOTEC. Avenida Real 1. 24006 León

Email: r.perez.redondo@inbiotec.com

Streptomyces tsukubaensis es el productor industrial del inmunosupresor de uso médico tacrolimus (FK506). El borrador de su secuencia genómica, en una de las primeras aplicaciones a bacterias de la secuenciación masiva, se consiguió mediante la tecnología Roche 454 (Barreiro y col., 2012). Este borrador (GenBank AJSZ000000000) consta de 956 secuencias contiguas correspondientes al cromosoma lineal. Dado el interés industrial de esta cepa, decidimos aprovechar la madurez actual de la tecnología de Pacific Biosciences (PacBio) para completar el genoma. Esta tecnología permite obtener lecturas nucleotídicas más largas, en comparación con otras plataformas como Illumina o Ion Torrent, que posibilitan la determinación de regiones con secuencias repetidas. En el caso de las cepas del género *Streptomyces* esto es especialmente importante para estudiar las agrupaciones génicas de biosíntesis de antibióticos, inmunosupresores, etc. Los genes fundamentales de muchas de estas agrupaciones codifican enzimas modulares, tales como policétido sintetasas, que presentan secuencias repetidas debido a su naturaleza modular).

Para completar el genoma de *Streptomyces tsukubaensis* se utilizaron dos tecnologías de secuenciación masiva, PacBio e Illumina, con una cobertura combinada de 224x. En primer lugar, se obtuvieron 203 365 lecturas PacBio (tamaño medio de 7841 b). Por medio del proceso HGAP 3 se ensamblaron las lecturas en una secuencia contigua de 7 952 237 b ('unitig_0'), correspondiente al cromosoma. El alineamiento con las secuencias 454 previas confirmó el correcto ensamblaje del cromosoma, excepto en los extremos: una región de 0,2 Mb del extremo 5' se había invertido y traslocado erróneamente al extremo 3'. Las secuencias previas, además, se incorporaron en el cálculo de la secuencia de consenso. Para ello se creó una secuencia de referencia formada por el engarce de las secuencias 454 previas mapeadas sobre unitig_0 y, donde no existían aquellas, la consenso derivada de las lecturas PacBio. Sobre esta referencia se mapearon las lecturas PacBio con Blasr y, mediante el algoritmo arrow del programa SMRT link de corrección automática, se obtuvo la secuencia de consenso. Esta última mostró un total de 356 variantes respecto de la referencia, que se revisaron manualmente. Por último, se utilizaron los datos de una secuenciación Illumina NextSeq 500 (7 948 342 lecturas de 75 b) y el programa breseq para una comprobación adicional. El resultado fue la obtención de la secuencia cromosómica continua de *Streptomyces tsukubaensis*, de un total de 7 950 181 b, con una gran fiabilidad.

Referencia

Barreiro C, Prieto C, Sola-Landa A, Solera E, Martínez-Castro M, Pérez-Redondo R, García-Estrada C, Aparicio JF, Fernández-Martínez LT, Santos-Aberturas J, Salehi-Najafabadi Z, Rodríguez-García A, Tauch A, Martín JF. 2012. Draft genome of

Streptomyces tsukubaensis NRRL 18488, the producer of the clinically important immunosuppressant tacrolimus (FK506). *J Bacteriol* 194:3756-3757.

POSTER 50:

Aislamiento y caracterización de microorganismos de interés industrial de suelos de Tenerife

Estefanía Abreu Yanes^A, David Montesdeoca Flores^A, Eduardo Hernández Bolaños^{A,B}, Milagros León Barrios^B, Néstor Abreu Acosta^A.

^{A)} NERTALAB, SL. C/José Rodríguez Mouré, 4. 38008. Santa Cruz de Tenerife.

Email: esabya@gmail.com, laboratorio@nertalab.es

^{B)} Dpto. Bioquímica, Microbiología, Biología Celular y Genética. Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna. Avda. Astrofísico Sánchez s/n, 38204 La Laguna

El presente estudio tuvo como objetivo aislar y caracterizar microorganismos presentes en diferentes suelos de la isla de Tenerife con actividades de interés industrial, (actividad celulolítica, amilolítica, lipídica, proteolítica, antibiótica y antifúngica).

Los microorganismos se aislaron en suelos de tres localidades diferentes: El Socorro (zona de costa, suelo 1), Izaña (alta montaña, suelo 2) y en Las Mercedes (bosque húmedo, suelo 3). En cada zona se establecieron dos puntos de muestreo que presentaban distintos tipo de vegetación, distinta cobertura vegetal o de sustrato y distinta orientación (norte/sur). Para el aislamiento de los microorganismos se utilizaron medios de cultivo en función de la actividad a determinar.

Se encontraron microorganismos productores de amilasas, celulasas y proteasas en todos los suelos estudiados, mientras que los productores de lipasas solo se aislaron en 4 de los 6 puntos muestreados. En el suelo 1 predominaron los degradadores de almidón y de proteínas, aunque también se obtuvieron resultados positivos para el resto de actividades. En el suelo 2 se encontró actividad degradadora para los 4 sustratos estudiados, aunque en menor porcentaje que en los otros dos suelos. En el suelo 3 destacan los degradadores de almidón y de lípidos, siendo estos últimos detectados solo en uno de los puntos muestreados.

Dichos aislados se emplearon a su vez para ensayos de inhibición de patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, y *Candida albicans*). En total, 5 aislados procedentes de El Socorro, 6 de Izaña y 2 de las Mercedes mostraron efecto inhibitorio sobre alguno de los patógenos testados.

Los microorganismos más interesantes por sus potencialidades industriales fueron clasificados a nivel de género y aproximados a la especie más cercana mediante secuenciación de un fragmento del gen ARNr 16S.

POSTER 51:

Producción mejorada de polihidroxialcanoatos (PHA) a partir de un modelo predictivo de alimentación y empleando un aislado bacteriano e hidrolizado de harina de yuca como sustrato alternativo

Alejandro Acosta Cárdenas¹, Mauricio A. Trujillo Roldán², Wilman Alcaraz Zapata^{1*},¹Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia. ²Unidad de Bioprocesos, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México – México. wilman.alcaraz@udea.edu.co

En la actualidad, los polihidroxialcanoatos (PHA) son una alternativa a los plásticos convencionales, ya que son biodegradables y poseen características termoplásticas similares a los plásticos derivados del petróleo. En este estudio se evaluó la producción de PHA de un aislado bacteriano identificado como *Burkholderia* sp, a partir de un modelo de alimentación predictivo propuesto por esta investigación, frente al modelo de alimentación exponencial ampliamente reportado en la literatura. El modelo fue diseñado con base en balances de masa para mantener la concentración de sustrato del cultivo en niveles deseados (<25 g/L), y de esta manera, evitar su acumulación y el subsecuente efecto inhibitor. El modelo predice el flujo de sustrato necesario a alimentar para producir en un intervalo de tiempo posterior, una concentración de biomasa definida. Los cultivos se realizaron a nivel de reactores con sistemas de control, empleando harina de yuca (mandioca) de una variedad no comestible como sustrato alternativo. Inicialmente se establecieron condiciones óptimas para el cultivo (pH, temperatura, relación C/N, C/P y oxígeno disuelto) y posteriormente se evaluó los modelos de alimentación exponencial (A) y predictiva (B) los cuales se muestran a continuación:

$$(A) \quad F(t) = \left(\frac{\mu}{Y_{x/s}} \right) \cdot \frac{V_0 X_0 e^{\mu(t-t_0)}}{S}$$

$$(B) \quad F(t) = \left(\frac{\Delta x \cdot V}{Y_{x/s} \cdot S \cdot \Delta t} \right)$$

Resultados: Se establecieron las condiciones óptimas para el crecimiento y producción de PHA (pH: 7,0; temperatura: 33°C; C/N: 6,91; C/P: 7,17 O₂: 40%) obteniendo una concentración inicial de biomasa de 10,7 ± 0,71; polímero de 3,3 ± 0,34 y una productividad de 0,232 ± 0,02 gPHA/L.h. A partir de la evaluación de los sistemas alimentados, se logró mejorar la producción con el modelo de alimentación predictiva, alcanzando una concentración de biomasa y polímero de 40,9 ± 1,12 y 24,1 ± 1,14 g/L, respectivamente, equivalentes a una productividad de 1,01 ± 0,05 gPHA/L.h, comparado con lo obtenido a partir del modelo exponencial, con el cual se logró una biomasa de 30,9 ± 0,54, PHA de 18,1 ± 1,33 g/L y una productividad de 0,75 ± 0,06 gPHA/L.h. La identificación del polímero realizada por medio de espectroscopia infrarroja (FTIR), indica que el producido por este aislado es el polihidroxibutirato (PHB), el cual posee gran importancia en la industria debido a sus propiedades termoplásticas.

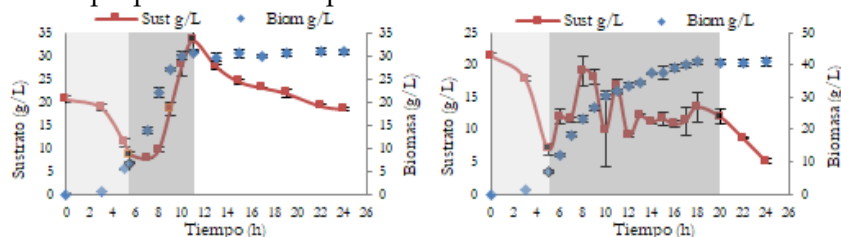


Figura 1. Cinética de crecimiento y perfil de sustrato en el cultivo del aislado *Burkholderia* sp, empleando alimentación exponencial (izquierda) y alimentación predictiva por intervalos (derecha). La zona gris claro indica la etapa de lote y la gris oscuro la etapa de alimentación.

Conclusiones: El modelo de alimentación predictiva propuesto por esta investigación, permitió mejorar el proceso de producción de PHA en un 25%, comparado con el modelo referenciado y se convierte en una buena alternativa para el control de la alimentación de sustrato en cultivos en lote alimentado. Esta investigación constituye un gran avance en la investigación de los PHA en Colombia, ya que integra tanto la utilización de un sustrato alternativo, como el empleo de una bacteria nativa, además, del desarrollo de una estrategia de cultivo en lote alimentado que permite mejorar la productividad del proceso.

La Ciudad Romana de Baelo Claudia

(Sacado de https://es.wikipedia.org/wiki/Baelo_C)

La antigua ciudad romana de Baelo Claudia está situada en la ensenada de Bolonia, en la población de Bolonia, a unos 22 km al noroeste de la ciudad de Tarifa, en la provincia de Cádiz. Se encuentra dentro del actual Parque Natural del Estrecho. El estudio de sus restos arquitectónicos muestra su origen romano a finales del siglo II a. C., observándose ya desde esa época una gran riqueza que la convierte en un centro económico importante dentro del área del Mediterráneo.

La ciudad nació a finales del siglo II a. C., siendo la heredera de un asentamiento bástulo-púnico más antiguo (Bailo, Baelokun), y su existencia está muy relacionada con el comercio con el norte de África (era el principal puerto marítimo que enlazaba con la ciudad de Tánger en Marruecos). Es posible que Baelo Claudia tuviera algunas funciones de centro administrativo, pero la pesca, la industria de salazón y el garum (una salsa derivada del mismo) fueron las principales fuentes de riqueza. El emperador romano Claudio le concedió el rango de municipium (municipio romano).

La vida de estas poblaciones alcanzó pleno esplendor entre los siglos I a. C. y siglo II d. C., iniciándose su decadencia a partir de segunda mitad del siglo II, cuando un gran maremoto arrasó gran parte de la ciudad. A sus desastrosos efectos se sumaron la crisis del siglo III y las incursiones de hordas de piratas, fundamentalmente mauritanos y germanos. Aunque experimentó un ligero rebrote en el siglo III, la ciudad fue abandonada definitivamente en el siglo VII.

Era esta una ciudad portuaria dedicada principalmente a la pesca y a la salazón de atunes, así como a la producción de "garum". Estas actividades tenían lugar durante los meses de verano y atraían a la ciudad a numerosos trabajadores temporeros, hecho que determina en parte las características de algunos de sus edificios.

Desde finales del siglo I d. C. su prosperidad viene paulatinamente a menos coincidiendo con la crisis en la producción de sus fábricas, las invasiones del Norte de África (siglo II d. C.), los saqueos de las hordas germánicas (siglo III d. C.) y sobre todo, un movimiento sísmico que arruina los edificios levantados durante la época imperial; factor que acelera el proceso de abandono que ya venía sufriendo la ciudad, y a pesar de lo cual sus relaciones comerciales logran mantenerse hasta el siglo V d. C.

- Un palacio de justicia (basílica judicial), situado en el foro frente a los templos. Tiene planta rectangular y mide 19,5 por 35,5 metros. Estaba presidido por una estatua del emperador Trajano de más de tres metros de altura.
- Cuatro templos: tres dedicados a cada uno de los componentes de la Tríada capitolina (Júpiter, Juno y Minerva) y uno dedicado a la diosa egipcia Isis, relacionado al culto isíaco en la península, descubierto recientemente por un grupo de arqueólogos del histdeutsch. Una disposición similar sólo ha sido hallada en la ciudad de Sbeitla en Túnez.
- El mayor edificio de Baelo Claudia es el teatro, con aforo de hasta 2000 personas, donde todos los actores eran hombres, incluso en los papeles de

mujeres, que para interpretar se colocaban máscaras, según fuese el personaje que representaban.

- También pueden verse restos de las tiendas (*tabernae*), el mercado (*macellum*), recinto cerrado destinado a la venta de carne y comestible en general y formado por catorce tiendas y un patio interior, y las termas (*thermae*).

El abastecimiento de agua de la ciudad se realizaba por medio de cuatro acueductos. También puede apreciarse la zona industrial con restos de las instalaciones para la fabricación del garum, calles, acueductos, restos del sistema de alcantarillado, etc. En ningún otro yacimiento romano de la Península Ibérica es posible extraer tras la visita una visión tan completa del urbanismo romano como en Baelo Claudia. En esto radica su principal interés, destacado también por el espectacular paisaje que rodea a la ciudad.

Bien de Interés Cultural, su publicación como Monumento apareció en La Gaceta de Madrid, en el año 1925. El conjunto arqueológico está acompañado desde 2007 de un museo, incorporado en la Sede Institucional y Centro de Visitantes del Conjunto Arqueológico de Baelo Claudia, obra del arquitecto Guillermo Vázquez Consuegra.

La Junta de Andalucía ha construido un nuevo Centro de recepción de visitantes (del que es autor el arquitecto Guillermo Vázquez Consuegra) y ha llevado a cabo un Proyecto de actuación paisajística en la Ensenada de Bolonia (redactado y ejecutado por el Instituto Andaluz del Patrimonio Histórico entre 2010 y 2013). Así mismo la Universidad de Cádiz realiza estudios del yacimiento, dando lugar a nuevos descubrimientos, como la única copia del Doríforo de Policeto en Hispania.

Bibliografía:

- El Housin Helal Ouriachen, 2009, La ciudad bética durante la Antigüedad Tardía. Persistencias y mutaciones locales en relación con la realidad urbana del Mediterráneo y del Atlántico, Tesis Doctoral, Universidad de Granada.
- Manuela Parra Díaz, Juan Alonso de la Sierra, Miguel A. Valencia Roldán. Baelo Claudia: Cuaderno del alumno del Gabinete Pedagógico de Bellas Artes de la Delegación de Cultura de Cádiz de la Junta de Andalucía. Año 1987.
- <http://www.juntadeandalucia.es/educacion/vscripts/wbi/w/rec/3213.pdf>

Listado de Congresistas

APELLIDOS	NOMBRE	CORREO ELECTRÓNICO
Abreu Yanes	Estefanía	esabya@gmail.com
Alcaraz Zapata	Wilman	wilman.alcaraz@udea.edu.co
Aligué Alemany	Rosa	aliguerosa@ub.edu
Arias Fernández	María Enriqueta	enriqueta.arias@uah.es
Ariño Carmona	Joaquín	joaquin.arino@uab.es
Ayté	José	jose.ayte@upf.edu
Barredo	Jose Luis	joseluis.barredo@amriglobal.com
Barreiro	Carlos	c.barreiro@unileon.es
Barriuso Maicas	Jorge	jbarriuso@cib.csic.es
Becerril García	Adriana	adrianabecerril@msn.com
Blanquez Moya	Alba	alba.blanquez@uah.es
Buruaga Ramiro	Carolina	buruaga.cbr@ub.edu
Buxeda	Rosa	rosa.buxeda@upr.edu
Cabañas Romero	Lourdes Verónica	vcabanhas@gmail.com
Ceniceros Medrano	Ana	acenicerosm@gmail.com
Chiva Tomás	Rosa Ana	rosanachiva@usal.es
Delgado Martín	Josemaría	josemariadm93@mail.com
Díaz Lucea	Pilar	pdiaz@ub.edu
Domènech Guil	Alba	alba.domenech@vitec.wine
Fernández Cantos	Maria Victoria	mvictoriaf@correo.ugr.es
García López	José Luis	jlgarcia@cib.csic.es
García Martínez	Teresa	mi2gamam@uco.es
García Mauricio	Juan Carlos	mi1gamaj@uco.es
García-Béjar Bermejo	Beatriz	beatriz.gbermejo@uclm.es
Gil	Jose Antonio	jose.a.gil@unileon.es
Gómez Malmierca	Mónica	mgomh@unileon.es
Gonzalez	Ramon	rgonzalez@icvv.es
Gonzalez Collado	Isidro	isidro.gonzalez@uca.es
Gutierrez	Santiago	s.gutierrez@unileon.es
Hernández Bolaños	Eduardo Antonio	eduardo_ahb@hotmail.com
Hernández Cutuli	Manuel	manuel.hernandez@uah.es
Hidalgo	Elena	elena.hidalgo@upf.edu
Hoya Gallego	Marta	martahg@usal.es
Jabalera Ruz	Ylenia María	yjabalera@gmail.com
Kidibule	Peter Elias	pkidibule@cbm.csic.es
López García	Maite	maite.lopez@inbiotec.com
MacCabe	Andrew	andrew@iata.csic.es
Marquès Mascarell	Ramon	ramon.marques@tervalis.es
Martínez	Josefina	jmartinez@ub.edu
Martínez Hernández	Maria Jesus	mjmartinez@cib.csic.es
Matallana	Emilia	emilia.mataallana@uv.es
Mendez Fernandez	Maria del Carmen	cmendezf@uniovi.es
Monedero García	Vicente	btcmon@iata.csic.es

APELLIDOS	NOMBRE	CORREO ELECTRÓNICO
Montero Ordóñez	Ignacio	nachomontero@gmail.com
Montesdeoca Flores	David Tomás	davidmontesdeocaflores@gmail.com
Morena Gatus	Angela Gala	galamorena@ub.edu
Mourenza Flórez	Alvaro	amouf@unileon.es
Navarro De La Torre	SALVADORA	snavarro1@us.es
Orejas	Marga	morejas@iata.csic.es
Pardo Castillo	Manuel Camilo	mcpardoc@hotmail.com
Pastor Blasco	Francisco Javier	fpastor@ub.edu
Perales	Jose Antonio	joseantonio.perales@uca.es
Perez Gonzalez	Pilar	pipecr@usal.es
Pérez Redondo	María del Rosario	r.perez.redondo@inbiotec.com
Pinto Liñán	Gilberto	gpintol1600@alumno.ipn.mx
Prado Alonso	Laura	laura.prado@outlook.com
Prieto Orzanco	Alicia	aliprieto@cib.csic.es
Ramon	Daniel	daniel.ramon@biopolis.es
Rodríguez Bullido	Juana	juana.rodriguez@uah.es
Rodríguez García	Antonio	antonio.rodriguez@inbiotec.com
Rodriguez Saiz	Marta	marta.rodriguez@amriglobal.com
Romero	Luis Isidoro	luisisidoro.romero@uca.es
Salas Fernández	Jose Antonio	jasalas@uniovi.es
Sanchez Amat	Antonio	antonio@um.es
Santamaría Sanchez	Ramón I.	santa@usal.es
Santos García	M ^a Ángeles	gemail@usal.es
Soder Walz	Jesica Maiara	jesica.soder@gmail.com
Tamame	Mercedes	tamame@usal.es
Valencia García	Francia Elena	francia.valencia@udea.edu.co
Valenzuela	Susana	susanavalenzuela@ub.edu
Vega Fernández	Soledad	u109166@usal.es
Vela Caicedo	Alejandra	Alejandra.vela@udea.edu.co
Velasco Rodriguez	Oscar	oscar.velasco@inbiotec.com
Villa Restrepo	Andrés Felipe	andres.villa@udea.edu.co

