

## Bacterias halófilas: biodiversidad, *quorum sensing*, quimiotaxis y aplicaciones biotecnológicas

Victoria Béjar, Ana del Moral, Fernando Martínez-Checa, Inmaculada Sampedro, Marta Torres, José Carlos Reina, Miguel Angel Rodríguez, Esther Palacios e Inmaculada Llamas



Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. 18071 Granada. Laboratorio de Microbiología. Instituto de Biotecnología. Centro de Investigación Biomédica. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Universidad de Granada. 18100 Granada



Miembros del grupo de Exopolisacáridos Microbianos BIO 188 de la UGR. De izquierda a derecha: Esther Palacios, Inmaculada Sampedro, José Carlos Reina, Victoria Béjar, Fernando Martínez-Checa, Ana del Moral, Miguel Angel Rodríguez, Inmaculada Llamas. Más información en <http://www.ugr.es/~eps/es/index.html>

El grupo de investigación “Exopolisacáridos Microbianos” (BIO 188 Junta de Andalucía) [www.ugr.es/~eps/es/index.html](http://www.ugr.es/~eps/es/index.html) inició su andadura en los años 90 con Emilia Quesada que estuvo como IP responsable hasta su jubilación en 2016. En la actualidad está compuesto por cinco profesores, un becario posdoctoral, un becario predoctoral, un contratado predoctoral y un técnico de laboratorio. Además en él colaboran distintos alumnos de grado, realizando el TFG, y de máster, realizando el TFM. En la página web se puede hallar más información sobre sus componentes y actividades.

Nuestra línea de investigación es el estudio de bacterias halófilas, incluyendo sus potenciales aplicaciones en biotecnología, agricultura y acuicultura; los estudios de *quorum sensing* y *quorum quenching*, así como su

quimiotaxis y el análisis de la biodiversidad de ambientes salinos.

Actualmente desarrollamos tres proyectos: dos financiados por el Ministerio de Economía y Competitividad (“Alternativa ecológica y sostenible para combatir la vibriosis en acuicultura: *quorum sensing versus quorum quenching*” y “Role of intra- and inter-species signaling via small molecules in microbe-plant-interactions (infection and symbiosis)”) y otro financiado por la Universidad de Granada para la dirección de un doctorado industrial “Control biológico de *Botrytis* por la cepa XT1 e implicaciones en la producción de plantas de interés agrícola”.

El grupo tiene una potente actividad de transferencia. Ha desarrollado 3 patentes

nacionales y 2 internacionales. Una de ellas está en explotación por Xtrem Biotech S.L. y genera royalties a la Universidad de Granada desde 2017 (EP3178325A1). Asimismo y gracias a diversos contratos de transferencia de resultados, Lipotec-Lubrizol ha patentado dos de nuestros exopolisacáridos para su utilización en cosmética como agentes antiedad (CELLYNKAGE™) y como anticelulítico (NOC-TURSHAPE™). Estas patentes son la base de dos productos cosméticos comercializados y generan royalties a la universidad de Granada desde 2015.

Además, en 2013 algunos miembros del grupo impulsaron junto a profesionales de otros campos la creación de la *spin off* Xtrem Biotech ([www.xtrembiotech.com](http://www.xtrembiotech.com)) con el fin de aprovechar el potencial de estos

microorganismos extremófilos. Aunque la empresa es independiente en su gestión y funcionamiento, el grupo colabora estrechamente con ella prestando asesoramiento científico; de hecho dos de los miembros de la empresa están realizando un doctorado industrial bajo la dirección de tres profesores del grupo BIO 188.

En los últimos cinco años hemos trabajado en colaboración con equipos de investigación de las siguientes entidades: Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada (Dr. Molina), Fundación Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores de Andalucía (Fundación MEDINA), así como de las siguientes universidades: Sevilla (Dr. Ventosa), Alicante (Dra. Antón), Montpellier (Dra. Destoumieux-Garzon), Paris (Dr. Dessaux y Dra. López), Granada (Dra. Reche), Nottingham (Dr. Cámara y Dr. Heeb), Innsbruck (Dr. Siles), California (Dr. Parales), Hiroshima (Dr. Kato), y Nijmegen, Holanda (Dr. Smolinska) así como del College Dartmouth, USA (Dra. Hill). Nuestro grupo pertenece a la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos desde su fundación a principios de los noventa. La red engloba actualmente una veintena de grupos de investigación distribuidos por universidades y centros del CSIC de todo el país.

Nuestros principales logros investigadores en las diferentes líneas de investigación son los siguientes:

## TAXONOMÍA Y BIODIVERSIDAD

- Puesta a punto de la metodología necesaria para el aislamiento, identificación y estudio fisiológico y genético de bacterias halófilas moderadas, en lo que nuestro equipo fue pionero a nivel internacional.
- Descubrimiento de una veintena de especies y de varios géneros de bacterias halófilas aisladas del medio ambiente, entre las que destacamos *Halomonas maura* y *Halomonas stenophila* que tienen interés biotecnológico debido a las propiedades funcionales y biológicas de sus exopolisacáridos y diferentes especies de *Bacillus* con gran potencial para la agricultura.

- Descripción de la biodiversidad de hábitats hipersalinos utilizando técnicas de ecología molecular, técnicas clásicas de cultivo y técnicas de dilución a extinción. El ambiente que con mayor profundidad hemos investigado en los últimos cinco años ha sido Rambla Salada (Murcia) encontrando que *Halomonas* es el microorganismo más frecuentemente aislado y que, sin embargo, aguas y suelos salinos contienen una plétora de bacterias y arqueas no cultivadas hasta el presente, pertenecientes a los filos *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes*.
- Aislamiento, aplicando nuevas técnicas de dilución a extinción, de procariotas halófilos que no habían podido ser cultivados por métodos convencionales. Con dichas técnicas hemos hallado nuevas especies de microorganismos pertenecientes a los géneros *Blastomonas* y *Roseovarius* entre otros.

## EXOPOLISACÁRIDOS

- Caracterización, estudio físico-químico y funcional de una veintena de exopolisacáridos.
- Caracterización de los genes *carAB* implicados en la síntesis del exopolisacárido producido por *Halomonas eurihalina*, y del operón *epsABCJ* responsable de la síntesis del exopolisacárido en *Halomonas maura*.

## QUORUM SENSING Y QUORUM QUENCHING

- Estudios de sistemas *quorum sensing* (QS) y de regulación global en bacterias halófilas. Hemos identificado por primera vez la producción de moléculas señal del tipo *N*-acilhomoserín lactonas (AHLs) en distintas especies del género *Halomonas* y caracterizado el sistema de comunicación *hanRI/hanI* así como el sistema de regulación de dos componentes *gacS/gacA* en *Halomonas anticariensis* FP35<sup>T</sup> que regula tanto la síntesis de moléculas

AHLs como la producción del exopolisacárido.

- Selección de bacterias marinas y de enzimas que interfieren los sistemas *quorum sensing* para su utilización en el control de enfermedades infecciosas en acuicultura y agricultura. Se han seleccionado un grupo de bacterias capaces de interferir los sistemas QS de bacterias patógenas en las que los factores de virulencia están controlados por moléculas AHLs (*quorum quenching*). Asimismo, se ha identificado y caracterizado un nuevo tipo de enzima degradadora de AHLs a partir de una librería metagenómica construida a partir de un suelo salino. Dichas actividades se han ensayado con excelentes resultados *in vivo* frente a bacterias patógenas de la acuicultura y agricultura, demostrando así potenciales aplicaciones biotecnológicas.

## QUIMIOTAXIS

Estudio de la quimiotaxis de bacterias halófilas y de su influencia en la colonización de plantas. A pesar de los exhaustivos estudios de quimiotaxis hechos con bacterias modelo, tales como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* no existe, que sepamos, estudios que analicen la quimiotaxis de las bacterias halófilas. Hemos analizado el papel de la quimiotaxis en la colonización de plantas por bacterias halófilas demostrando el efecto quimioatrayente de exudados de plantas para estas bacterias. Por otro lado, también hemos podido observar la menor producción de moléculas señal del tipo AHL en bacterias mutantes en quimiotaxis respecto a la bacteria original demostrando así la relación quimiotaxis-QS.

## PUBLICACIONES SELECCIONADAS

- Amjres H, Béjar V, Quesada E, Carranza D, Abrini J, Sinquine C, Rastikole J, Collic-Jouaulte S y Llamas I.** (2015). Characterization of haloglycan, an exopolysaccharide produced by *Halomonas stenophila* HK30. *Int. J. Biol. Macromol.* 72:117 -124
- Castro DJ, Llamas I, Béjar V y Martínez-Checa F.** (2017). *Blastomonas quesadae* sp. nov., isolated from a saline soil by dilution-to-extinction cultivation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 7:2001-2007.
- D'Annibale A, Sampedro I, Federici F y Petruccioli M.** (2014). Aqueous extract from dry olive mill residue

as a possible basal medium for laccase production. *Env. Eng. Manag.* 12: 3037-3044.

**León-Palmero E, Joglar V, Alvarez PA, Martín-Platero A, Llamas I y Reche I.** (2018). Diversity and antimicrobial potential in sea anemone and holothurian microbiomes. *PLoS One* (13 e0196178).

**Lluque R, Béjar V, Quesada E y Llamas I.** (2014). Diversity of halophilic bacteria isolated from Rambla Salada, Murcia (Spain) *Can. J. Microbiol* 60:1-8.

**Queriaghli N, Bejar V, Quesada E y Martínez-Checa F.** (2013). Molecular ecology techniques reveal both spatial and temporal variations in the diversity of archaeal communities within the athalassohaline environment of Rambla Salada, Spain. 2013. *Microb. Ecol.* 66: 297-311.

**Queriaghli N, González-Domenech C, Martínez-Checa F, Muyzer G, Ventosa A y Quesada E, Béjar V.** (2014). Diversity and distribution of *Halomonas* in Rambla Salada, a hypersaline environment

in the Southeast of Spain. *FEMS Microbiol. Ecol.* 87:460-474.

**Quesada E, Tahrioui A y Llamas I.** (2013). Genetic and phenotypic analysis of the *gacS/gacA* system in the moderate halophile *Halomonas anticariensis*. 2013. *Microbiology SGM* 159:462-474.

**Siles JA, Pérez-Mendoza D, Ibañez JA, Scervino JM, Ocampo JA, García-Romera I y Sampedro I.** (2014). Assessing the impact of biotransformed dry olive residue application to soil: Effects on enzyme activities and fungal community. *Int. Biod. Biodeg.* 89: 15-22.

**Tahrioui A, Quesada E y Llamas I.** (2013). Draft genome sequence of the moderately halophilic gamma proteobacterium *Halomonas anticariensis* FP35<sup>T</sup> *Genome A* doi:10.1128/genomeA.00497-13

**Tahrioui A, Schwab M, Quesada E y Llamas I.** (2013). Quorum sensing in some representative species of *Halomonadaceae*. *Life* 3:260-275.

**Torres M, Reina JC, Fuentes-Monteverde JC, Fernández G, Rodríguez J, Jiménez C y Llamas, I.** (2018). AHL-lactonase expression in three marine emerging pathogenic *Vibrio* spp. reduces virulence and mortality in brine shrimp (*Artemia salina*) and manila clam (*Venerupis philippinarum*). *PLoS ONE* 13: e0195176.

**Torres M, Romero M, Prado S, Dubert J, Tahrioui A, Otero A y Llamas I.** (2013). N-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from hatchery bivalve larval cultures. *Microb. Res.* 66: 297-311.

**Torres M, Rubio Portillo E, Antón J, Ramos-Esplá AA, Quesada E y Llamas I.** (2016). Selection of the n-acylhomoserine lactone-degrading bacterium *Alioteromonas stellipolaris* PQQ-42 and its potential for biocontrol in aquaculture. *Front. Microbiol.* 7:1-13.

**Torres M, Uroz S, Salto R, Fauchery L, Quesada E y Llamas I.** (2017). Hqja, a novel quorum-quenching enzyme which expands the AHL lactonase family. *Sci. Rep.* 7:1-15.

## Filogenia molecular y procesos de diversificación en *Aeromonas*

Maribel Farfán, Vicenta Albarral, José Gaspar Lorén y M<sup>a</sup> Carmen Fusté



Grupo de Genética de Poblaciones Bacterianas y Filogenia Molecular. Departamento de Biología, Sanidad y Medio Ambiente, Sección de Microbiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona



Miembros del grupo de investigación (de izquierda a derecha): José Gaspar Lorén, Vicenta Albarral, M<sup>a</sup> Carmen Fusté, Maribel Farfán y Ariadna Sanglas.

Nuestro grupo de investigación se formó en el año 1996, basándose en la experiencia adquirida por los doctores Lorén y Fusté

en el estudio de la estructura genética de poblaciones bacterianas de *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* y *Neisseria meningitidis*.

Mediante la aplicación de la técnica de electroforesis de enzimas multilocus (MLEE) y, más tarde, de la secuenciación de genes