

cess of adaptation to an endophytic life style? PLoS One 9(9): e108522.

Trujillo ME, Kroppenstedt RM, Fernandez-Moliner C, Schumann P y Martinez-Molina E (2007)

Micromonospora lupini sp. nov. and *Micromonospora saelicesensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Lupinus angustifolius*. Int J Syst Evol Microbiol 57:2799–2804.

Trujillo, ME, Riesco, R, Benito, P, and Carro, L. (2015). Endophytic actinobacteria and the interaction of *Micromonospora* and nitrogen fixing plants. Front Microbiol 6, 1–15.

Diversidad procariota en ambientes hipersalinos

Cristina Sánchez-Porro, Rafael Ruiz de la Haba y Antonio Ventosa

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.

sanpor@us.es
rrh@us.es
ventosa@us.es



De izquierda a derecha: Blanca Vera Gargallo, Antonio Ventosa, María José León, Cristina Sánchez-Porro, Clara López Hermoso, Carmen Infante Domínguez, Ana Durán Viseras y Rafael Ruiz de la Haba.

Nuestro grupo de investigación lleva activo desde hace más de 35 años; durante este tiempo hemos centrado nuestros estudios en aspectos relacionados con la diversidad y taxonomía de bacterias y arqueas halófilas, es decir, aquellas que habitan en ambientes con elevadas concentraciones de sales. Hasta la fecha nuestro grupo ha dado nombre a más de 130 especies de bacterias y arqueas, 34 géneros, varias nuevas familias y una clase. Recientemente hemos participado en la actualización del Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, con 19 capítulos dedicados a las haloarqueas, que incluyen 10 géneros, 6 familias, 2 órdenes y una clase. Aunque nuestros estudios se han centrado en el estudio taxonómico y de biodiversidad de procariotas de ambientes acuáticos hipersalinos, también hemos realizado importantes aportaciones en otros

campos tales como la genómica y la metagenómica, los mecanismos de adaptación a los ambientes extremos y las aplicaciones biotecnológicas de estos microorganismos, especialmente con relación a la producción de enzimas extracelulares por bacterias halófilas moderadas.

EL NUEVO GÉNERO *SPIRIBACTER*

En los últimos años, hemos incorporado las nuevas tecnologías de secuenciación masiva a nuestros estudios de diversidad procariota y hemos obtenido los metagenomas de varios estanques de las salinas de Santa Pola (Alicante) y de Isla Cristina (Huelva). Su análisis nos ha permitido conocer en profundidad tanto la diversidad filogenómica como metabólica de estos ambien-

tes hipersalinos. Estos estudios pusieron de manifiesto, entre otros muchos datos interesantes, la presencia de un nuevo grupo perteneciente a la clase *Gammaproteobacteria*, muy abundante en los estanques de salinidad intermedia, que no había sido ni aislado ni caracterizado hasta la fecha. Tras un meticoloso trabajo de aislamiento y caracterización describimos un nuevo género bacteriano, al que denominamos *Spiribacter*, debido a su peculiar morfología celular en forma de espiral. Hasta la fecha el género consta de cuatro especies: *S. salinus*, *S. curvatus*, *S. roseus* y *S. aquaticus*, todas ellas descritas por nuestro equipo. En la actualidad estamos estudiando aspectos relacionados con la biología de este nuevo grupo bacteriano, como son su peculiar morfología, sus mecanismos de osmorregulación y su distribución geográfica.

FILOGENÓMICA DEL GÉNERO *SALINIVIBRIO*

Por otro lado hemos realizado una profunda revisión del género *Salinivibrio*, habitante habitual de las salinas solares. Tras numerosos muestreos y aislamientos, a partir de diferentes ambientes hipersalinos, obtuvimos una colección de 70 cepas pertenecientes a este género. Además del estudio inicial basado en la comparación de secuencias del gen ARNr 16S de estas cepas, junto con las seis cepas tipo de las especies y subespecies del género, se llevó a cabo un estudio MLSA (*MultiLocus Sequence Analysis*), basado en las secuencias individuales y concatenadas de los genes *gyrB*, *recA*, *rpoA* y *rpoD*, que nos permitió clasificarlas en cuatro filogrupos diferentes, a excepción de la cepa tipo de la especie *Salinivibrio sharmensis*, que no pudo ser incluida en ningún filogrupo, constituyendo, por tanto, un filotipo independiente del resto. Con la finalidad de poder emplear este esquema MLSA con fines taxonómicos en la descripción de nuevas especies de *Salinivibrio*, realizamos una comparación y posterior validación de este estudio MLSA frente a los datos de hibridación ADN-ADN (DDH). En todos los casos, los valores de DDH confirmaron los filogrupos obtenidos en base al MLSA, constituyendo cada uno de ellos una especie diferente. Con estos resultados hemos propuesto una correlación entre los valores de MLSA y DDH, considerando un 97 % de semejanza entre la secuencia concatenada de los cuatro genes empleados como valor de corte para la delimitación de especies del género *Salinivibrio*. Para completar el estudio hemos secuenciado los genomas de 33 de estas cepas pertenecientes a distintos filogrupos y, según los diferentes índices de relación genómica (ANIb, ANIm, OrthoANI y DDH *in silico*) y tras un análisis filogenómico, se confirmaron nuevamente los filogrupos definidos anteriormente en base al MLSA. Estos estudios han llevado a la reclasificación de la especie *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis*, como una sinonimia de la especie *S. proteolyticus*, y a la descripción de una nueva especie, *Salinivibrio kushneri*, constituida por 10 cepas representativas. De ellas, se seleccionó la cepa tipo para obtener la secuencia completa de su genoma, que resultó poseer dos cromosomas, al igual que ocurre en algunas, sino todas, las especies de *Vibrio*. El genoma completo de esta cepa tipo de *Salinivibrio kushneri* se ha utilizado como referencia para estudiar la con-

servación del orden de los genes entre representantes de cada filogrupo, observándose un elevado nivel de sintenia entre los miembros del género *Salinivibrio*.

HALOARQUEAS: EL GÉNERO *HALORUBRUM* COMO MODELO

Con el objetivo de comprender mejor el proceso de especiación en haloarqueas y cómo podría beneficiarse la taxonomía de estudios de poblaciones, hemos examinado diferentes comunidades naturales pertenecientes al género *Halorubrum*. Para ello, partimos de cepas aisladas y cultivadas a partir de diversas salinas solares de España, Namibia e Irán, comparándolas con las cepas tipo de 30 especies descritas previamente de dicho género mediante cinco aproximaciones diferentes: i) análisis filogenético en base al gen ARNr 16S, que mostró una escasa capacidad de resolución para diferenciar adecuadamente los nuevos aislados; ii) MLSA en base a la concatenación de los genes *atpB*, *EF-2*, *glnA*, *ppsA* y *rpoB'*, que sí nos permitió agrupar las cepas en distintos clústeres; iii) perfil de lípidos polares (obtenidos mediante cromatografía en capa fina de alta resolución, HPTLC), que permitió observar pequeñas diferencias entre cepas pertenecientes al mismo filogrupo, posiblemente debidas a la adaptación al nicho ecológico; iv) identidad media de nucleótidos (ANI), que confirmó las clústeres obtenidos en base al estudio MLSA; v) estudios de hibridación ADN-ADN, mediante los que también se observó la heterogeneidad y divergencia de cepas aisladas en diferentes localizaciones geográficas a pesar de pertenecer al mismo filogrupo. Estos estudios nos han permitido delinear y describir nuevas especies del género *Halorubrum* y establecer diversas sinonimias entre especies previamente descritas. Actualmente estamos realizando el aislamiento de nuevas cepas pertenecientes al género *Halorubrum* para ampliar estos estudios mediante una aproximación genómica. Hemos secuenciado el genoma completo de un elevado número de cepas y nuestro objetivo es la secuenciación de los genomas de las 36 especies de *Halorubrum* y más de un centenar de cepas con la finalidad de determinar la organización genómica, divergencia y estructura de las poblaciones de los diferentes taxones de este género.

NUEVOS ESTUDIOS EN SUELOS SALINOS

Aunque los ambientes hipersalinos acuáticos han sido nuestro principal objeto de estudio, en los últimos años hemos ampliado nuestra línea de investigación incluyendo el estudio de la diversidad procariota de suelos salinos, concretamente de suelos hipersalinos localizados en las Marismas del Odiel (Huelva). Con este objetivo, inicialmente obtuvimos dos metagenomas *shotgun* de estos suelos (con una conductividad eléctrica de ~24 y 55 dS/m, respectivamente). La comparación de estos resultados con los obtenidos de los ambientes acuáticos ha puesto de manifiesto que la diversidad procariota presente en los suelos salinos es mucho mayor, pudiendo identificarse hasta 29 phyla diferentes, en contraste con los 8-9 phyla generalmente encontrados en los ambientes acuáticos estudiados. Por otra parte, a partir de estos metagenomas hemos logrado reconstruir cuatro genomas de las especies más abundantes en estos suelos, las cuales están relacionadas con los phyla *Balneolaeota* y *Bacteroidetes* y con la clase *Halobacteria*, y cuyo metabolismo y estrategias de osmoadaptación están muy relacionados con las propiedades intrínsecas de este ecosistema. Por otro lado, hemos determinado la influencia de la salinidad y de otros parámetros fisicoquímicos en la estructura de la comunidad procariota de dichos suelos salinos. Actualmente estamos trabajando en el aislamiento y caracterización de nuevos grupos de arqueas y bacterias a partir de estos ambientes salinos, que constituyen representantes de nuevos taxones no descritos hasta la fecha.

PUBLICACIONES RECIENTES SELECCIONADAS

- Amoozegar MA, Khansha J, Mehrshad M, Shahzadeh Fazeli SA, Ramezani M, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2017). *Soortia roseihalophila* gen. nov., sp. nov., a new taxon in the order *Balneolales* isolated from a travertine spring, and description of *Soortiaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 113-120.
- Amoozegar MA, Siroosi M, Atashgahi S, Smidt H y Ventosa A. (2017). Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. *Microbiology* 163: 623-645.
- Chun J, Oren A, Ventosa A, Christensen H, Arahal DR, da Costa MS, Rooney AP, Yi H, Xu XW, De Meyer S y Trujillo ME. (2018). Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol* 68: 461-466.
- León MJ, Aldeguer-Riquelme B, Antón J, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2017). *Spiribacter aquaticus* sp. nov.,

a novel member of the genus *Spiribacter* isolated from a saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 2947-2952.

León MJ, Fernández AB, Ghai R, Sánchez-Porro C, Rodríguez-Valera F y Ventosa A. (2014). From metagenomics to pure culture: isolation and characterization of the moderately halophilic bacterium *Spiribacter salinus* gen. nov., sp. nov. *Appl Environ Microbiol* 80: 3850-3857.

León MJ, Hoffmann T, Sánchez-Porro C, Heider J, Ventosa A y Bremer E. (2018). Compatible solute synthesis and import by the moderate halophile *Spiribacter salinus*: physiology and genomics. *Front Microbiol* 9: 108.

León MJ, Rodríguez-Olmos A, Sánchez-Porro C, López-Pérez M, Rodríguez-Valera F, Soliveri J, Ventosa A y Copa-Patiño JL. (2015). *Spiribacter curvatus* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 4638-4643.

León MJ, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2017). *Marinobacter aquaticus* sp. nov., a moderately halophilic bacterium from a solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 2622-2627.

León MJ, Vera-Gargallo B, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2016). *Spiribacter roseus* sp. nov., a moderately halophilic species of the genus *Spiribacter* from salterns. *Int J Syst Evol Microbiol* 66: 4218-4224.

López-Hermoso C, de la Haba RR, Sánchez-Porro C, Papke RT y Ventosa A. (2017). Assessment of Multi-Locus Sequence Analysis as a valuable tool for the classification of the genus *Salinivibrio*. *Front Microbiol* 8: 1107.

López-Hermoso C, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2017). *Salinivibrio kushneri* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from salterns. *Syst Appl Microbiol* 41: 159-166.

López-Hermoso C, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2018). Emended description of *Salinivibrio proteolyticus*, including *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis* and five new isolates. *Int J Syst Evol Microbiol* 68: 1599-1607.

Moshtaghi Nikou M, Ramezani M, Harirchi S, Makzoum S, Amoozegar MA, Shahzadeh Fazeli SA, Schumann P y Ventosa A. (2017). *Salinifilum* gen. nov.,

with description of *Salinifilum proteiniolyticum* sp. nov., an extremely halophilic actinomycete isolated from Meighan wetland, Iran, and reclassification of *Saccharopolyspora aidingensis* as *Salinifilum aidingensis* comb. nov. and *Saccharopolyspora ghardaiensis* as *Salinifilum ghardaiensis* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 4221-4227.

Ventosa A, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Papke RT. (2015). Microbial diversity of hypersaline environments: a metagenomic approach. *Curr Opin Microbiol* 25: 80-87.

Vera-Gargallo B, Navarro-Sampedro L, Carballo M y Ventosa A. (2018). Metagenome sequencing of prokaryotic microbiota from two hypersaline soils of the Odiel Salt Marshes in Huelva, Southwestern Spain. *Genome Announc* 6: e00140-18.

Vera-Gargallo B y Ventosa A. (2018). Metagenomic insights into the phylogenetic and metabolic diversity of the prokaryotic community dwelling in hypersaline soils from the Odiel saltmarshes (SW Spain). *Genes (Basel)* 9: 152.

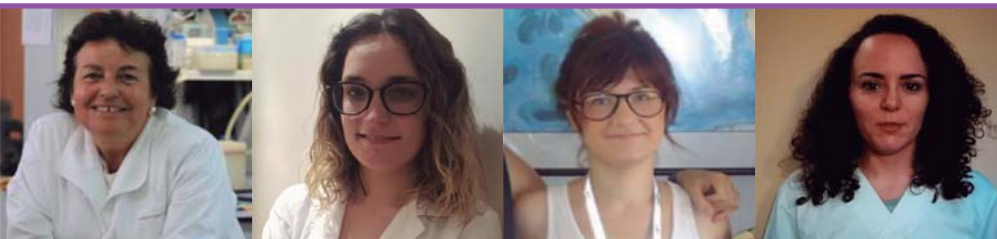
Taxonomía y epidemiología de los géneros *Aeromonas* y *Arcobacter*

María José Figueras Salvat, Alba Pérez-Cataluña, Ana Fernández-Bravo y Nuria Salas-Massó

Unidad de Biología y Microbiología, Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, IISPV. Universidad Rovira i Virgili, Sant Llorenç 21, 43201 REUS.



mariajose.figueras@urv.cat



De izquierda a derecha: María José Figueras, Ana Fernández Bravo, Nuria Salas Massó y Alba Pérez Cataluña

El papel del agua como vehículo de transmisión de enfermedades es conocido. En este ámbito hemos participado a lo largo de los años en los proyectos europeos AQUACHIP, EPIBATH, HEALTHY-WATER, AQUAVALENS y JPI-METAWATER y en el proyecto nacional NEWMICRORISK. Todos estos proyectos han permitido un significativo avance en el estudio de la calidad del agua, así como aislar numerosas cepas de los géneros *Aeromonas* y *Arcobacter* con los que venimos trabajando desde hace años.

TAXONOMÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE AEROMONAS

Aeromonas es un microorganismo autóctono del medio acuático también aislado con frecuencia en alimentos destinados al consumo humano, peces y en diversos procesos infecciosos en humanos (Figueras y Beaz-Hidalgo, 2015). Nuestros objetivos desde 1996, cuando empezamos a trabajar con este género, han sido el estudio de la taxonomía y epidemiología. Desde entonces se han realizado

6 tesis doctorales, en las cuales se ha descrito un total de 13 nuevas especies, 4 de ellas pendientes de aceptación, representando un 36% del total de especies del género (n=36).

Los estudios de taxonomía y filogenia se han realizado con cepas clínicas y ambientales utilizando una identificación basada en la secuenciación de genes "housekeeping" tales como *rpoD* o *gyrB* entre otros (Martínez-Murcia et al., 2011). Nuestro grupo ha demostrado que estos genes tienen un gran poder discrimina-