

- Howell KJ, Weinert LA, Luan SL, Peters SE, Chaudhuri RR, Harris D, Angen O, Aragon V, Parkhill J, Langford PR, Rycroft AN, Wren BW, Tucker AW y Maskell DJ; BRaDP1T Consortium. (2013). Gene Content and Diversity of the Loci Encoding Biosynthesis of Capsular Polysaccharides of the 15 Serovar Reference Strains of *Haemophilus parasuis*. J Bacteriol 195:4264-4273.
- Martínez-Moliner V, Soler-Llorens P, Moleres J, Garmendia J, Aragon V. (2012). Distribution of genes involved in sialic acid utilization in strains of *Haemophilus parasuis*. Microbiology 158:2117-2124.
- Mullins MA, Register KB, Brunelle BW, Aragon V, Galofré-Milà N, Bayles DO, Jolley KA. (2013). A curated public database for multilocus sequence typing (MLST) and analysis of *Haemophilus parasuis* based on an optimized typing scheme. Vet Microbiol 162:899-906.
- Olvera A, Ballester M, Nofrías M, Sibila M, Aragon V. (2009). Differences in phagocytosis susceptibility in *Haemophilus parasuis* strains. Vet Res 40:24.
- Olvera A, Martínez-Moliner V, Pina-Pedrero S, Pérez-Simó M, Galofré-Milà N, Costa-Hurtado M, Aragon V, Bensaid A. (2013). Serum cross-reaction among virulence-associated trimeric autotransporters (VtaA) of *Haemophilus parasuis*. Vet Microbiol 164:387-391.
- Olvera A, Pina S, Macedo N, Oliveira S, Aragon V, Bensaid A. (2012). Identification of potentially virulent strains of *Haemophilus parasuis* using a multiplex PCR for virulence-associated autotransporters (vtaA). Vet J 191:213-218.
- Olvera A, Pina S, Pérez-Simó M, Aragón V, Segalés J, Bensaid A. (2011). Immunogenicity and protection against *Haemophilus parasuis* infection after vaccination with recombinant virulence associated trimeric autotransporters (VtaA). Vaccine 29:2797-2802.
- Perry MB, MacLean LL, Gottschalk M, Aragon V, Vinogradov E. (2013). Structure of the capsular polysaccharides and lipopolysaccharides from *Haemophilus parasuis* strains ER-6P (serovar 15) and Nagasaki (serovar 5). Carbohydr Res 378:91-97.

Genómica evolutiva de bacterias simbiotes de insectos

Andrés Moya, Amparo Latorre, Francisco J. Silva, Rosario Gil, Juli Peretó, Carlos García Ferris, Purificación Carrasco, Ana Gutiérrez Preciado, Sergio López Madrigal, Alejandro Manzano, Vanesa Martínez, Mariana Reyes y Diego Santos García

Genética evolutiva, Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva.
Universitat de València

andres.moya@uv.es



Foto de grupo. Miembros del grupo durante la visita del Dr. Matsuura (Octubre 2014). De izquierda a derecha, Yee Ying Chang, Francisco Silva, Carlos Vargas, Mariano Collantes, Mariana Reyes, Miquel Barberá, Ana Gutiérrez, Rosario Gil, Purificación Carrasco, Amparo Latorre, Yu Matsuura, Carlos García y Andrés Moya. Delante, Diego Santos.

Los insectos constituyen el grupo animal con más especies conocidas y, con excepción de algunos hábitats extremos, han conquistado todos los espacios terrestres conocidos. Las interacciones simbióticas con microorganismos, altamente interdependientes y bien reguladas, han sido claves en este carácter adaptativo de los insectos. De hecho, se estima que prácticamente todos los insectos están implicados en algún tipo de simbiosis con bacterias. Nuestro grupo está especializado en el estudio de estas interacciones bacteria-insecto desde la doble perspectiva evolutiva y sistémica, tomando como punto de partida el análisis genómico de asociaciones simbióticas con diferente antigüedad y nivel de integración, y utilizando técnicas experimentales y computacionales.

Alrededor del 15% de los insectos mantienen simbiosis mutualistas obligadas con bacterias endosimbiontes. Estas bacterias viven en células especializadas del hospedador (bacteriocitos) que con frecuencia se agrupan formando un órgano (bacterioma) situado en la cavidad abdominal del cuerpo del insecto. Atendiendo a su relevancia para la supervivencia del hospedador, existen endosimbiontes primarios (P-endosimbiontes, esenciales) y secundarios (S-simbiontes, facultativos). Los P-endosimbiontes se transmiten exclusivamente de forma vertical, de la madre a la descendencia. El establecimiento de este tipo de relaciones permitió a los hospedadores alimentarse con dietas pobres en algunos nutrientes esenciales, que son aportados por sus endosimbiontes, y la colonización de nuevos nichos. Es el caso de insectos que se alimentan de savia vegetal (pulgones, mosca blanca, cochinillas), pobre en aminoácidos esenciales y algunas vitaminas, o de sangre de vertebrados (mosca tse-tse, piojos), pobre en vitaminas y cofactores. En otros insectos

con dietas complejas (hormigas, cucarachas), la asociación es también nutricional, permitiendo el reciclaje de nitrógeno y su aprovisionamiento en fases del desarrollo en que su aporte es escaso o nulo pero imprescindible (por ejemplo, la metamorfosis). A cambio, las bacterias se benefician de un nicho intracelular estable, con una fuente permanente de nutrientes por parte del hospedador.

Para entender la naturaleza del proceso que lleva al establecimiento de estas relaciones mutualistas obligadas, en nuestro laboratorio investigamos la evolución de genomas de endosimbiontes de insectos en varias fases del proceso de integración, desde simbiosis recientes con genomas no reducidos, hasta otras extremas con genomas tan reducidos que no cubren las necesidades nutricionales de sus hospedadores y requieren del establecimiento de consorcios microbianos (Tabla 1). Ello nos ha permitido plantear hipótesis que expliquen el ritmo, modo y consecuencias del proceso de reducción genómica que experimentan estas bacterias. Para completar este tipo de estudios, estamos llevando a cabo análisis de expresión génica global, transcriptómico y proteómico, que nos permitan comparar las distintas soluciones que diferentes sistemas adoptan en función de sus simbioses y del grado de reducción de sus genomas. Es el caso de cuatro especies de pulgones con un mismo P-endosimbionte (*Buchnera aphidicola*) que aparece junto a otro simbiote (*Serratia symbiotica*) con distintos grados de integración (desde facultativo a co-primario), o el de cepas de mosca blanca con un mismo P-endosimbionte (*Portiera aleyrodidarum*) y diferentes S-simbiontes. De particular interés es el caso de las cochinillas algodonosas de la subfamilia *Pseudococcinae*, donde se presenta una endosimbiosis anidada,

ENDOSIMBIONTE	HOSPEDADOR	GENOMA (KB)	% GC	GENES	REF.
<i>Blochmannia floridanus</i>	<i>Camponotus floridanus</i> (hormiga)	706	27.4	631	4
<i>Buchnera aphidicola</i> BBp	<i>Baizongia pistacea</i> (pulgón)	618	25.3	553	20
<i>Buchnera aphidicola</i> BCc	<i>Cinara cedri</i> (pulgón)	422	20.2	402	15
<i>Serratia symbiotica</i> SCc		1763	29.2	772	5
<i>Buchnera aphidicola</i> BCt	<i>Cinara tujaefilina</i> (pulgón)	445	23.0	405	6
<i>Serratia symbiotica</i> SCt		~2500	~52.0	~1600	11
<i>Sodalis pierantonius</i> SOPE	<i>Sytophilus oryzae</i> (gorgojo)	4513	56.1	4147	13
<i>Tremblaya princeps</i> PCVAL	<i>Planococcus citri</i> (cochinilla algodonosa)	139	58.8	155	7
<i>Moranella endobia</i> PCVAL		538	43.5	483	8
<i>Blattabacterium cuenotti</i> BBge	<i>Blattella germanica</i> (cucaracha)	641	27.1	631	9
<i>Blattabacterium cuenotti</i> BCpu	<i>Cryptocercus punctulatus</i> (cucaracha de la madera)	610	23.8	589	12
<i>Blattabacterium cuenotti</i> BBor	<i>Blatta orientalis</i> (cucaracha)	638	28.2	627	14
<i>Portiera aleyrodidarum</i> BT-QVLC	<i>Bemisia tabaci</i> (mosca blanca)	351	26.2	314	16
<i>Cardinium</i> cBtQ1		1010	36.1	915	17
<i>Evansia muelleri</i>	<i>Xenophyes cascus</i> (bicho del musgo)	357	25.0	369	18

Tabla 1. Genomas de endosimbiontes secuenciados en nuestro laboratorio.

en la que una bacteria endosimbionte (*Tremblaya princeps*) alberga en sus células un segundo endosimbionte co-primario (*Moranella endobia*).

Nuestros análisis sobre genomas reducidos han sido además el punto de partida de diversos proyectos teóricos sobre de la composición y evolución de hipotéticos genomas mínimos, así como la inferencia de sus redes metabólicas y el análisis sistémico de las mismas (FBA, variabilidad, clasificación de modos, comparación de «subconjuntos enzimáticos» con los datos de transcriptoma y proteoma...). También hemos iniciado una línea de trabajo experimental utilizando la cucaracha *Blattella germanica* como insecto modelo, para conocer la regulación de la expresión génica en endosimbiontes de insectos sometidos a dietas con distinto contenido proteico.

Además de las relaciones endosimbióticas, muchos insectos mantienen asociaciones con comunidades bacterianas ectosimbióticas, cuyo papel en la biología de los insectos empezamos a conocer. Muchos de estos ectosimbiontes colaboran en el procesado de una dieta de bajo nivel nutricional, generalmente tóxica, por lo que su potencial biotecnológico es obvio. Queremos, además, estudiar el posible papel de los ectosimbiontes que componen la microbiota intestinal de *Blattella germanica* complementando el papel de los endosimbiontes.

ALGUNAS PUBLICACIONES RELEVANTES DEL GRUPO

- Belda E, Silva FJ, Peretó J, Moya A.** (2012). Metabolic networks of *Sodalis glossinidius*: a systems biology approach to reductive evolution. *PLoS One* 7:e30652.
- Carrasco P, Pérez-Cobas AE, van de Pol C, et al.** (2014). Succession of the gut microbiota in the cockroach *Blattella germanica*. *Int Microbiol* 17: 99-109.
- Delaye L, González-Domenech CM, Garcillán-Barcia MP, et al.** (2011). Blueprint for a minimal photoautotrophic cell: conserved and variable genes in *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *BMC Genomics* 12:12-25.
- Gil R, Silva FJ, Zientz E et al.** (2003). The genome sequence of *Blochmannia floridanus*: comparative analysis of reduced genomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:9388-9393.
- Lamelas A, Gosalbes MJ, Manzano-Marín A, et al.** (2011a). *Serratia symbiotica* from the aphid *Cinara cedri*: a missing link from facultative to obligate insect endosymbiont. *PLoS Genet* 7: e1002357.
- Lamelas A, Gosalbes MJ, Moya A, Latorre A.** (2011b). New clues about the evolutionary history of metabolic losses in bacterial endosymbionts, provided by the genome of *Buchnera aphidicola* from the aphid *Cinara tujaefilina*. *Appl Environ Microbiol* 77:4446-4454.
- López-Madrigal S, Latorre A, Porcar M, Moya A, Gil R.** (2011). Complete genome sequence of *Candidatus Tremblaya princeps* strain PCVAL, an intriguing translational machine below the living-cell status. *J Bacteriol* 193:5587-5588.
- López-Madrigal S, Latorre A, Porcar M, Moya A, Gil R.** (2013). Mealybugs nested endosymbiosis: going into the 'matryoshka' system in *Planococcus citri* in depth. *BMC Microbiol* 13:74.
- López-Madrigal S, Beltrà A, Resurrección S, et al.** (2014). Molecular evidence for ongoing complementarity and horizontal gene transfer in endosymbiotic systems of mealybugs. *Front Microbiol* 5:449.
- López-Sánchez MJ, Neef A, Peretó J, et al.** (2009). Evolutionary convergence and nitrogen metabolism in *Blattabacterium* strain Bge, primary endosymbiont of the cockroach *Blattella germanica*. *PLoS Genet* 5:e1000721.
- Manzano-Marín A, Lamelas A, Moya A, Latorre A.** (2012). Comparative genomics of *Serratia* spp.: two paths towards endosymbiotic life. *Plos One* 7:e47274.
- Manzano-Marín A, Latorre A.** (2014). Settling down: the genome of *Serratia symbiotica* from the aphid *Cinara tujaefilina* zooms in on the process of accommodation to a cooperative intracellular life. *Genome Biol Evol* 6:1683-1698.
- Neef A, Latorre A, Peretó J, et al.** (2011). Genome economization in the endosymbiont of the wood roach *Cryptocercus punctulatus* due to drastic loss of amino acid synthesis capabilities. *Genome Biol Evol* 3:1437-1448.
- Oakeson KF*, Gil R*, Clayton AL, et al.** (2014). Genome degeneration and adaptation in a nascent stage of symbiosis. *Genome Biol Evol* 6: 6-93. (* equal contribution).
- Patiño-Navarrete R, Moya A, Latorre A, Peretó J.** (2013). Comparative genomics of *Blattabacterium cuenoti*: the frozen legacy of an ancient endosymbiont genome. *Genome Biol Evol* 5:351-361.
- Pérez-Brocal V, Gil R, Ramos S, et al.** (2006). A small microbial genome: the end of a long symbiotic relationship? *Science* 314:312-313.
- Santos-García D, Farnier PA, Beitia F, et al.** (2012). Complete genome sequence of «*Candidatus Portiera aleyrodidarum*» BT-QVLC, an obligate symbiont that supplies amino acids y carotenoids to *Bemisia tabaci*. *J Bacteriol* 194:6654-6655.
- Santos-García D, Rollat-Farnier PA, Beitia F, et al.** (2014a). The genome of *Cardinium* cBtQ1 provides insights into genome reduction, symbiont motility, and its settlement in *Bemisia tabaci*. *Genome Biol Evol* 6:1013-1030.
- Santos-García D, Latorre A, Moya A, et al.** (2014b). Small but powerful, the primary endosymbiont of moss bugs, *Candidatus Evansia muelleri*, holds a reduced genome with large biosynthetic capabilities. *Genome Biol Evol* 6:1875-1893.
- van Ham RC, Kamerbeek J, Palacios C, et al.** (2003). Reductive genome evolution in *Buchnera aphidicola*. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:581-586.