



XXVIII Congreso  
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
**MICROBIOLOGÍA**

---

28 DE JUNIO AL 2 DE JULIO DE 2021

**Libro de  
Resúmenes**

# **XXVIII Congreso Nacional de Microbiología**

28 de Junio al 2 de Julio de 2021

# PRESENTACIÓN

Bienvenidos al XXVIII Congreso de la Sociedad Española de Microbiología (SEM), que se celebrará en formato virtual, durante los días 28 de junio a 2 de julio de 2021. Este congreso coincide con unas fechas muy relevantes para la SEM, pues justamente hace 75 años, un 19 de junio de 1946, se firmó el acta de constitución de nuestra sociedad por parte de su primera Junta Directiva, tras una iniciativa de un grupo de microbiólogos españoles. Con motivo de esta conmemoración de nuestro 75 aniversario durante el presente año, hemos venido trabajando en una serie de actos y teníamos previsto que este congreso nacional fuera un evento muy especial, como principal foro de discusión y encuentro entre todos los microbiólogos de nuestro país. Paradójicamente, un pequeño virus ha cambiado el curso de nuestras vidas y la pandemia que todavía estamos sufriendo no ha posibilitado que podamos celebrar como desearíamos, de forma presencial, nuestro congreso de microbiología.

Ha sido una decisión muy difícil la que tuvimos que tomar desde la Junta Directiva de la SEM organizando este congreso de forma virtual, recayendo dicha organización en la propia Junta Directiva. No obstante, no hemos querido renunciar a organizar un congreso que refleje el excelente nivel científico de nuestros investigadores, así como de algunos microbiólogos extranjeros de gran prestigio. El programa científico de este congreso se vertebra en tres grandes ejes temáticos: Salud global, Microbiología ambiental y Biotecnología microbiana, de manera que cada día se celebrarán tres sesiones simultáneas, en las que se tratarán temas muy diversos encuadrados en simposia, a primera hora de la mañana, seguidos de sesiones de comunicaciones orales seleccionadas por los diferentes grupos especializados y, por último, una sesión conjunta con dos conferencias plenarios con las que finalizará cada día.

Para la elaboración de este programa científico debemos agradecer la dedicación y excelente trabajo de los miembros de la Junta Directiva de la SEM, de los diez grupos especializados y de aquellos socios que nos han hecho llegar iniciativas y propuestas, como la realizada por el grupo de jóvenes investigadores de la SEM (JISEM), organizando las sesiones de mentorías que tendrán lugar durante las tardes del martes 29 y miércoles 30 de junio. También debemos destacar el trabajo realizado por el grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología, y la organización de una mesa redonda, titulada "Comunicación y Microbiología (La visión de los medios)", en la que intervendrán destacados expertos en comunicación científica de prensa, radio y televisión.

Agradecemos la inestimable ayuda que hemos recibido de la Federación Europea de Sociedades de Microbiología (FEMS), que nos ha permitido conceder ayudas económicas a 100 investigadores jóvenes, que podrán asistir de forma gratuita a las sesiones de este congreso, además de recibir el correspondiente certificado acreditativo. También debemos agradecer a la empresa Bionet el patrocinio del simposio Microorganismos y procesos industriales, así como el trabajo realizado por 4ID, empresa con la que estamos organizando este congreso virtual y muy especialmente a Isabel Perdiguero, nuestra secretaria administrativa, a la que nunca le agradeceremos suficientemente su labor y dedicación por nuestra sociedad.

La excelente acogida de este congreso ya ha sido el primer éxito del mismo. Además de la respuesta positiva de los ponentes invitados, a los que agradecemos su disposición y trabajo adicional para realizar las grabaciones de sus conferencias, la participación de los investigadores ha superado con creces nuestras expectativas. Son más de 900 participantes los inscritos en este congreso y un total de 530 las presentaciones que hemos recibido en sus diferentes formatos, todas ellas orales (pregrabadas), como e-posters, presentaciones flash, ponencias y conferencias plenarias. Además, debemos indicar que, como ya viene siendo tradicional en nuestros congresos, la conferencia de clausura será impartida por nuestro más reciente Premio Jaime Ferrán de Microbiología 2021, Álvaro San Millán, del que podemos decir que se trata de un joven investigador con un gran futuro, pero que ya posee una dilatada trayectoria, siendo actualmente un referente en su campo de investigación. Estamos seguros que este será un excelente colofón con el que clausuraremos nuestro congreso y que no debemos perdernos.

Confiamos en que disfruten de este congreso y en que contribuyan al éxito del mismo con sus presentaciones, comentarios y debates. Desgraciadamente no nos será posible saludarnos presencialmente, pero nos gustaría mandar a todos nuestros mejores deseos y que disfruten de las diferentes sesiones de nuestro congreso de la SEM, que con tanto cariño hemos organizado.

### El comité organizador

- **Presidente:** Antonio Ventosa Ucero
- **Vicepresidente:** Rafael Giraldo Suárez
- **Tesorero:** Víctor Jiménez Cid
- **Secretaria:** Alicia María Prieto Orzanco
- Inés Arana Basabe
- Ignacio Belda Aguilar
- Montserrat Llagostera Casas
- María José Figueras Salvat
- Inmaculada Llamas Company
- Manuel Sánchez Angulo
- José Berenguer Carlos
- Jordi Urmeneta Masó
- Gonzalo García de Fernando Minguillón (Microbiología de los Alimentos)
- José Antonio Gil Santos (Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana)
- Adela González de la Campa (Microbiología Molecular)
- M<sup>a</sup> Ángeles de la Torre Ruiz (Hongos Filamentosos y Levaduras)
- Óscar Zaragoza Hernández (Biología de los Microorganismos Patógenos)
- Emilia López Solanilla (Microbiología de Plantas)
- Jesús López Romalde (Taxonomía, Filogenia y Diversidad)
- Rosa Aznar Novella (Directora de la CECT)
- Alicia Estévez Toranzo (Microbiología del Medio Acuático)
- Ana María García Ruiz (Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación)
- Ignacio López Goñi (Docencia y Difusión de la Microbiología)
- Diego Alejandro Moreno Gómez (Responsable Cursos on-line)

# PROGRAMA CONGRESO



## LUNES 28 DE JUNIO

9:45 - 10:00 **INAUGURACIÓN DEL XXVIII CONGRESO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA**

- Antonio Ventosa - Presidente de la Sociedad Española de Microbiología
- Rafael Giraldo - Vicepresidente y Presidente Electo de la Sociedad Española de Microbiología

10:00 - 11:00 **ZONOSIS Y ENFERMEDADES EMERGENTES**  
MODERADOR: Óscar Zaragoza (CNM, ISCIII, Madrid)**Richard Williams (UCM, Madrid)**

- Distribución intercontinental de la viruela aviar detectada en milanos reales migratorios

**Patricia López-Barona (UAH, Madrid)**

- Actividad amebicida de compuestos dendríticos frente a *Acanthamoeba polyphaga* y *Acanthamoeba griffini*

**Ana del Cerro Arrieta (SERIDA, Gijón)**

- Genotipos de *Coxiella burnetii* presentes en muestras ambientales de explotaciones ganaderas de Asturias y su distribución geográfica

## DESCANSO

11:30 - 12:30 **David Rodríguez Lázaro (U. Burgos)**

- De animales y/a humanos: el virus de la Hepatitis E como agente zoonótico de transmisión alimentaria

**Carmen Amaro (U. Valencia)**

- *Vibrio vulnificus*, un subestimado patógeno zoonótico ligado a piscifactorías

10:00 - 11:00 **MICROORGANISMOS EN MEDIOS ACUÁTICOS**  
MODERADORA: Alicia Estévez Toranzo (U. Santiago Compostela)**David Pérez Pascual (I. Pasteur)**

- Modelo de trucha arcoíris gnotobiótico para la identificación de bacterias que protegen frente a la infección de *Flavobacterium columnare*

**Marina Vila-Nistal (U. Alicante)**

- Pesca submarina: buscando virus de ARN a 4.000 m de profundidad

**Laura Sánchez-García (CAB-INTA/CSIC, Madrid)**

- Efecto de la temperatura en la microbiología de biofilms en surgencias hidrotermales de la región de El Tatio (Atacama, Chile)

## DESCANSO

11:30 - 12:30 **Albert Bosch (U. Barcelona)**

- La vigilancia del SARS-CoV-2 en aguas residuales ha venido para quedarse

**Josefa Antón (U. Alicante)**

- Salinas, bacterias y virus: evolución en acción

10:00 - 11:00 **BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

**MODERADOR: Gonzalo García de Fernando (UCM, Madrid)**

**Alberto Garre (U. Wageningen, Países Bajos)**

- Implementar modelos de crecimiento microbiano es ahora más fácil gracias a *biogrowth*

**Víctor Freire (U. Zaragoza)**

- Estudio de la salida de componentes tras la exposición de *Staphylococcus aureus* a pulsos eléctricos de alto voltaje

**Marina Ruiz-Muñoz (U. Cádiz)**

- Vinos amontillados con una segunda crianza biológica

## DESCANSO

11:30 - 12:30 **Vicente Monedero García (IATA-CSIC, Valencia)**

- Bacterias lácticas para aliviar la toxicidad de metales

**Mercedes Tamame (IBFG-CSIC/U. Salamanca)**

- Microbiología innovadora para la industria alimentaria



12:30- 13:30

**MICROBIOLOGÍA MOLECULAR – 1**

MODERADOR: José Antonio Escudero (UCM, Madrid)

**Montserrat Grifé (U. Málaga)**

- *Bacillus amyloliquefaciens* UMAF6639 como agente de biocontrol

**Jorge Guío (U. Zaragoza)**

- Control del estado redox del regulador transcripcional FurA de *Anabaena* sp. PCC7120 mediado por tiorredoxina A

**Margarita López Fernández (U. Granada)**

- Identificación de microorganismos en bentonitas compactadas sometidas a altas temperaturas: avances para el almacenamiento de residuos nucleares

**Alba Blesa (U. Francisco de Vitoria)**

- Papel de CptB, un homólogo a FtsK en *Thermus thermophilus*, en transjugación

**Elisabet Frutos Grilo (UAB, Barcelona)**

- Caracterización del complejo quimiorreceptor de señalización de la quimiotaxis de *Enterobacter cloacae*

**Susana Ruiz Ruiz (FISABIO, Valencia)**

- Determinación de los taxones bacterianos intestinales involucrados en la pérdida de metabolitos asociados a fragilidad humana

**Joaquin Bernal Bayard (U. Sevilla/I. Pasteur)**

- Interacciones patógeno-hospedador en el modelo del pez cebra

**Pedro Dorado-Morales (IdAB-CSIC, Navarra)**

- Evolución del coste asociado a plásmidos naturales de *Staphylococcus aureus*

12:30- 13:30

**MICROBIOLOGÍA MEDIO ACUÁTICO**

MODERADOR: Manuel Lemos (Univ. Santiago Compostela)

**Clara Martínez (U. Santiago Compostela)**

- Estudio de las metaloproteasas en el patógeno de bivalvos *V. europaeus*

**Manuel Martinez Garcia (U. Alicante)**

- *DNA viral quasispecies in the oceans and beyond: the tale of one of the most abundant virus in our oceans*

**Marta A. Lages (U. Santiago Compostela)**

- AraC1 es el principal activador transcripcional que modula la expresión dependiente de la temperatura del sideróforo piscibactina en *Vibrio anguillarum*

**Álvaro Morón García (UCM, Madrid)**

- Autofagia como mecanismo de defensa frente a nanotubos de cobre en el microorganismo modelo *Tetrahymena thermophila*

**Esteban Bustos Caparrós (IMEDEA-UIB-CSIC, Mallorca)**

- Dinámica y selección de comunidades halófilas extremas sometidas a estrés osmótico cíclico

**Naiara Abad Trueba (UPV-EHU)**

- Dinámicas temporales de los parámetros cinéticos de las actividades enzimáticas leucina aminopeptidasa,  $\beta$ - y  $\alpha$ -glucosidasa en aguas superficiales costeras

**Diego Rey-Varela (U. Santiago Compostela)**

- Diseño de sondas fluorescentes basadas en sideróforos para el estudio y detección de *Aeromonas salmonicida*

**Carmen Rioboo (U. Coruña)**

- Impacto citotóxico de dos filtros UV sobre la microalga *Chlamydomonas reinhardtii*: de un panel de biomarcadores a una evaluación integrada del estrés

12:30- 13:30

**MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL**

MODERADOR: Ángel Manteca (Univ. Oviedo)

**Lucía Gandarias (UPV-EHU)**

- Bacterias magnetotácticas como agentes de hipertermia magnética

**Carolina Cano Prieto (U. Tübingen, Alemania)**

- Ferrocinas, un nuevo antibiótico frente a las bacterias multirresistentes: biosíntesis y bioactividad

**Sara Baldanta Callejo (CIB-CSIC, Madrid)**

- Desarrollo de un consorcio sintético *Synechococcus elongatus* -*Azohydromonas lata* para la producción de bioplásticos a partir de luz y CO<sub>2</sub>

**Sandra Galea-Outón (CIB-CSIC, Madrid)**

- Consorcios hongo-bacteria para la producción de ácido láctico como precursor de PLA

**Ramón Santamaría (IBFG-CSIC/U. Salamanca)**

- Estudio de cepas de actinomicetos aisladas del tracto intestinal y heces de las larvas del cerambícido *Cerambyx welensii*

**María Hernández Fernández (U. Cádiz)**

- Potencial biotecnológico de levaduras como promotoras del crecimiento en cultivos

**Baltasar Mayo (IPLA-CSIC, Villaviciosa)**

- Clonación y expresión heteróloga de los genes de producción de equol de *Adlercreutzia equolifaciens*

**Ignacio Montero Ordóñez (U. Oviedo)**

- Identificación y caracterización de agrupamientos de genes biosíntesis de compuestos derivados de 3-amino-4-hidroxibenzoato en *Streptomyces*

## DESCANSO

14:00 - 15:30 **SESIÓN CONJUNTA - 1**  
**TRENDS IN MICROBIAL PATHOGENESIS**  
 MODERADOR: José Berenguer (CBM-CSIC)

**Josep Casadesús (U. Sevilla)**

- Heterogeneidad fenotípica en poblaciones bacterianas

**Jörg Overmann (Leibniz I./DSMZ)**

- *What can Omics tell us about the adaptations and functions of bacteria?*

## MARTES 29 DE JUNIO

09:30 - 10:30 **MECANISMOS DE PATOGÉNESIS**  
 MODERADORA: Adela G. de la Campa (CNM-ISCI, Madrid)

**Ariadna Fernández Calvet (IdAB-CSIC, Navarra)**

- Identificación de amiloides tipo BAP en la microbiota intestinal y evaluación de su papel en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas

**Carmen Gómez Arrebol (UPNA, Navarra)**

- El regulador de respuesta ArIR induce la formación de biofilm de *Staphylococcus aureus* en su estado no fosforilado

**Carlos J. Jiménez Moreno (UB, Barcelona)**

- La presencia de plásmidos conjugativos modula la expresión de factores decolonización y virulencia de codificación cromosómica

10:30 - 11:00 **Junkal Garmendia (IdAB, CSIC, Navarra)**

- El reto de la pato-adaptación: estrategias de patógenos bacterianos oportunistas para "ir de incógnito" en el sistema respiratorio humano

## DESCANSO

11:30 - 12:30 **Miguel A. Peñalva (CIB-CSIC, Madrid)**

- A-TRAPP-ados en el sem foro del Golgi: la salida de vesículas exocíticas (o el secreto de la polaridad del Cambio climático y nuevos retos en el control de enfermedades emergentes y reemergentes de las Consorcios microbianos en aplicaciones industriales 11:30- crecimiento hifal)

**Francisco García del Portillo (CNB-CSIC, Madrid)**

- Patógenos bacterianos intracelulares: un desafío intelectual y metodológico

09:30 - 10:30 **MICROORGANISMOS Y CAMBIO CLIMÁTICO**  
MODERADORA: Inés Arana (UPV-EHU)

**Blanca Vera-Gargallo (U. Sevilla)**

- Ecología microbiana de suelos hipersalinos: una aproximación mediante  $H_2^{18}O$ -DNA-SIP

**Maite Ortúzar (U. Salamanca)**

- Cambios estacionales en el microbioma asociado a *Lupinus angustifolius*

**Irene Martín-Rodríguez (URJC, Madrid)**

- *The role of endophytes in the seed persistence to fire*

10:30 - 11:00 **Pablo García-Palacios (ICA-CSIC, Madrid)**

- *Evidence for large microbial-mediated losses of soil carbon under anthropogenic warming*

DESCANSO

11:30 - 12:30 **Emili Montesinos (U. Gerona)**

- Cambio climático y nuevos retos en el control de enfermedades emergentes y reemergentes de las plantas

**Carlos Pedrós (CNB-CSIC, Madrid)**

- Microorganismos y cambio global

09:30 - 10:30 **MICROORGANISMOS Y PROCESOS INDUSTRIALES**  
(Sesión patrocinada por Bionet)  
MODERADOR: José Antonio Gil (U. León)

**Gonzalo Molpeceres (CIB-CSIC, Madrid)**

- Diseño de un péptido señal mejorado para la producción de enzimas recombinantes en levadura

**Manuel Santiago Godoy (CIB-CSIC, Madrid)**

- Desafiando el metabolismo de *Rhodospirillum rubrum* con monóxido de carbono: crecimiento a altas concentraciones de un gas tóxico.

**Alicia Gascon Gubieda (UPV-EHU)**

- Desarrollo de un modelo de cultivo celular en 3D para el estudio de bacterias magnetotácticas y magnetosomas en biomedicina

10:30 - 11:00 **Elizabeth Aranda (U. Granada)**

- Diversidad microbiana de contaminantes emergentes con microorganismos nativos de ambientes contaminados

DESCANSO

- 11:30 - 12:30 **Jorge Barriuso (CIB-CSIC, Madrid)**
- Consorcios microbianos en aplicaciones industriales
- Olga Genillod (F. Medina, Granada)**
- Diversidad microbiana y productos naturales: nuevo paradigma en el descubrimiento de nuevas moléculas bioactivas

- 12:30- 13:30 **MICROORGANISMOS PATÓGENOS**  
MODERADORA: Ma Luisa Gil (Univ. Valencia)

**Jessica Comín Polo (IACS, Zaragoza)**

- Actividad de la IS6110 en *Mycobacterium tuberculosis* in vitro e in vivo

**Núria Blanco-Cabra (IBEC, Barcelona)**

- *Dextran-based single-chain nanoparticles improve the tobramycin and DNase I activity against mature biofilms by interacting with the extracellular matrix*

**Carlos Gomis Olcina (U. Valencia)**

- Infecciones favorables de linajes de *Mycobacterium tuberculosis* con macrófagos de sus hospedadores favoritos inducen un nivel elevado de necrosis

**Melani Mariscal Gómez (U. Córdoba)**

- Papel de la H<sup>+</sup>-ATPasa Pma1 en la homeostasis de pH, señalización y virulencia del hongo patógeno *Fusarium oxysporum*

**Estéfani García Ríos (ISCIII, Madrid)**

- Análisis del potencial antiviral frente a Citomegalovirus de componentes de aceites esenciales

**Alfonso Santos Lopez (HRyC, Madrid)**

- Historia, azar y selección natural en la evolución de la resistencia a antibióticos

**Sonia Prieto-Martin Gil (ISCIII, Madrid)**

- Concentraciones subinhibitorias de antimicrobianos modulan la actividad de los promotores de genes de la Resistance-Nodulation-Division en *Acinetobacter baumannii*

**Javier de la Fuente (CNB-CSIC, Madrid)**

- Estudio sobre la transmisión del plásmido pOXA-48 presente en el intestino de pacientes hospitalizados

- 12:30- 13:30 **TAXONOMÍA, FILOGENIA Y DIVERSIDAD**  
MODERADOR: José Luis Copa Patiño (Univ. Alcalá, Madrid)

**Rebeca Domínguez-Santos (U. Valencia)**

- ¿Existe la comunicación cruzada entre el endosimbionte *Blattabacterium* y la microbiota intestinal en la cucaracha alemana?

**Pau Obregon (IRTA-UAB, Barcelona)**

- El tiempo de contacto con las madres es un factor clave en el desarrollo de la microbiota nasal de lechones

**Ilargi Martinez Ballesteros (UPV-EHU)**

- Aislamiento de bacterias halófilas y halotolerantes en el Valle Salado de Añana (Álava)

**Borja Aldeguer Riquelme (U. Alicante)**

- El DNA disuelto como fuente de información sobre la dinámica microbiana

**Ángela Velapatiño Gamarra (UCM, Madrid)**

- Disbiosis ecológica como factor etiológico de la caries: cambios del microbioma y metaboloma en un modelo *in vitro* supragingival

**Tomeu Viver (IMEDEA-UIB-CSIC, Mallorca)**

- ¿Qué es una "cepa" y cuántas de la misma especie coexistirían en un sistema natural?

**Daniel Torres-Garcia (U. Rovira i Virgili)**

- Diversidad y filogenia de levaduras negras (*Chaetothyriales*) en sedimentos fluviales de Cataluña

**Antonio Busquets Bisbal (U. Islas Baleares)**

- Estudio de la microbiota xilemática de *Vitis vinifera* en plantas infectadas y no infectadas por *Xylella fastidiosa* por MALDI-TOF MS

12:30- 13:30

**MICROBIOLOGIA ALIMENTOS - 1**

MODERADORA: Beatriz Martínez Fernández (IPLA, CSIC, Asturias)

**Adrián Pedreira (IIM-CSIC, Vigo)**

- Morbidostato: un sistema de cultivo continuo para el estudio evolutivo de poblaciones bacterianas sometidas a estrés por compuestos antimicrobianos

**Nuria Salazar (IPLA-CSIC, Villaviciosa)**

- Impacto de la obesidad severa y la pérdida de peso sobre la microbiota y el metaboloma fecal

**María Micaela Álvarez Rubio (U. Extremadura)**

- Efecto antiocratotóxico de *Debaryomyces hansenii* y romero sobre *Penicillium nordicum* en embutidos curado-madurados: estudio proteómico

**Leire Astráin Redín (U. Zaragoza)**

- Mejora de la uniformidad de la aplicación de tratamientos térmicos en matrices sólidas mediante Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEAV)

**Inés Maria Ramos Monge (U. Castilla-La Mancha)**

- Producción de compuestos bioactivos por cepas del género *Leuconostoc* aisladas de queso

**Pilar Fernández-Pacheco (U. Castilla-La Mancha)**

- Levaduras aisladas de pistacho (*Pistacia vera*): carácter probiótico y papel de protección



## DESCANSO

14:00 - 15:30 **SESIÓN CONJUNTA - 2**  
**LIVING IN A MICROBIAL WORLD**  
 MODERADOR: Víctor Jiménez Cid (UCM, Madrid)

**Leo Eberl (U. Zurich, Suiza)**

- *An update on bacterial quorum sensing: new molecules, new mechanisms*

**Philippe Corvini (I. Ecopreneurship, Suiza)**

- *Bacteria feeding on antibiotics – eating the poisonous*

16:00 - 18:00 **SESIÓN DE MENTORÍA - 1**

## MIÉRCOLES 30 DE JUNIO

09:30 - 10:30 **VACUNAS Y RESPUESTA INMUNITARIA**  
 MODERADORA: Montserrat Llagostera (UAB, Barcelona)

**Melibea Berzosa Suñer (U. Navarra)**

- Vacuna no-parenteral frente a infecciones por *Escherichia coli* enterotoxigénica

**Damián Lobato Márquez (CNM-ISCI, Madrid)**

- Mecanismos moleculares de la inmunidad celular mediada por septinas durante la infección por *Shigella flexneri*

**Cristina Bono (U. Valencia)**

- La estimulación de células madre y progenitores hematopoyéticos vía dectina-1 promueve su diferenciación hacia macrófagos entrenados por un mecanismo indirecto

10:30 - 11:00 **Carlos Martín (U. Zaragoza)**

- MTBVAC, una nueva vacuna contra la tuberculosis iniciando los ensayos clínicos de eficacia en países endémicos

## DESCANSO

11:30 - 12:30 **Michael McConnell (CNM-ISCI, Madrid)**  
 • *Precision vaccines for emerging antibiotic resistant infections*

**Vicente Larraga (CIB-CSIC, Madrid)**

- Desarrollo de una vacuna de ADN frente a la infección por el virus SARS-CoV-2

## 09:30 - 10:30 **DIVERSIDAD MICROBIANA**

**MODERADOR:** Jesús L. Romalde (U. Santiago Compostela)

### **Maria Dolores Ramos Barbero (U. Alicante)**

- Metagenómica de una salina ancestral: monitorización de los cambios de las comunidades microbianas desde el subsuelo hasta la superficie

### **Álvaro Rodríguez del Río (CBGP-INIA, Madrid)**

- Distribución ecológica e importancia funcional de familias génicas inferidas a partir de datos metagenómicos

### **Margarita Aguilera (U. Granada)**

- Toxicomicrobiómica, rol metabólico de los taxones de la microbiota intestinal humana y las disbiosis o enfermedades metabólicas

## 10:30 - 11:00 **Alex Mira (CSICP, Valencia)**

- Microbioma: el último órgano del cuerpo humano

## DESCANSO

## 11:30 - 12:30 **Jaime Huerta (CBGP, Madrid)**

- Aproximaciones metagenómicas al estudio de biodiversidad y novedad funcional en comunidades microbianas

### **Margarita Gomila (U. Islas Baleares)**

- Genómica en la taxonomía bacteriana: Impacto en el género *Pseudomonas*

## 09:30 - 10:30 **MICROORGANISMOS Y NUEVOS MATERIALES**

**MODERADORA:** Ana M. García Ruiz (Presidenta grupo BBB)

### **Carlos Murgulondo (CIB-CSIC, Madrid)**

- Lipasas: biocatalizadores para la síntesis e hidrólisis de ácido poliláctico

### **Carolina Buruaga (U. Barcelona)**

- Obtención y caracterización de nanocristales de celulosa bacteriana mediante tratamiento enzimático

### **Carlos Pernas (UAM, Madrid)**

- Nanopartículas de plata biogénicas muestran actividad antibacteriana, capacidad como sensores de metales pesados y catalizan la degradación de colorantes.

## 10:30 - 11:00 **Auxiliadora Prieto (CIB-CSIC, Madrid)**

- *Engineering bacteria for the production of tailored bacterial polyesters*

## DESCANSO

11:30 - 12:30 **MICROORGANISMOS Y NUEVOS MATERIALES**

MODERADOR: Constantino Ruibal (UCM, Madrid)

**Tom Ellis (Imperial College, Londres, UK)**

- *Engineering microbes to grow materials with DNA-programmed functionalities*

**Margarita Dader (ICM-CSIC, Madrid)**

- Materiales híbridos funcionales con actividad antibacteriana

12:30- 13:30 **HONGOS Y LEVADURAS**

MODERADOR: Humberto Martín (UCM, Madrid)

**Francisco Ruiz-Pérez (U. Córdoba)**

- *Debaryomyces hansenii* y cationes alcalinos: de halotolerancia a toxicidad

**Elisa Gómez Gil (U. Murcia)**

- Caracterización funcional de la ruta de MAP quinzasas de integridad celular (CIP) en la levadura dimórfica *Schizosaccharomyces japonicus*

**Carolina Gómez Albarrán (UCM, Madrid)**

- Evaluación de la capacidad de detoxificación de micotoxinas por microorganismos probióticos o aislados de uvas

**María Alvarado González (U. Castilla-La Mancha)**

- Identificación de *Candida auris* y especies relacionadas mediante PCR multiplex basada en genes únicos codificantes para proteínas GPI

**Sandra Montellà Manuel (U. Lérida)**

- La limitación de hierro incrementa la vida cronológica de *Saccharomyces cerevisiae* a través de la activación de la autofagia

**Víctor Silva Alejandro (IATA-CSIC, Valencia)**

- Selección y análisis funcional de dos genes que codifican posibles efectores en *Penicillium digitatum*, principal hongo patógeno postcosecha de cítricos

**Elena Jiménez-Gutiérrez (UCM, Madrid)**

- El aminoglucósido neomicina en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*: un nuevo estímulo de la ruta de integridad de la pared celular

**Angela Sellers Moya (UCM, Madrid)**

- Características de la señalización vía MAPKs de *Saccharomyces cerevisiae* en respuesta al antifúngico clotrimazol

**Xabier Guruceaga (UPV-EHU)**

- Estudio del efecto de la fumagilina y su implicación en la infección

**Elba del Val (UCM, Madrid)**

- Expresión heteróloga de complejos de señalización dependientes de receptores de tipo Toll en *Saccharomyces cerevisiae*

12:30- 13:30

## MICROBIOLOGÍA PLANTAS

MODERADOR: José M. Palacios (UPM, Madrid-UNIA)

### David Vázquez-Arias (UAM, Madrid)

- Los sistemas de secreción tipo VI de *Pseudomonas fluorescens* F113 median la actividad bactericida y la adaptación al microbioma rizosférico

### Claudia Sanchis López (UPM, Madrid)

- Identificación a nivel genómico del perfil de quimiorreceptores asociado a la interacción con plantas

### Miguel Rodríguez (U. Granada)

- *Metabolomic and enzymatic profiling of tomato plants colonized by three halotolerant plant growth- promoting strains*

### Zaira Ma Heredia Ponce (U. Málaga)

- Papel de la matriz extracelular en la ecología de dos especies de *Pseudomonas* asociadas a plantas

### Marta Orero-Bayo (U. Valencia)

- Bacterias asociadas a plantas con actividad antagonista frente a *Erwinia amylovora* y otras especies de bacterias fitopatógenas

### Carla Ariadna Lavado Benito (U. Málaga)

- Caracterización del sistema de dos componentes GacS/GacA en *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

### Lucía Domingo Serrano (UPM, Madrid)

- Análisis funcional de la proteína de respuesta a estrés sHsp<sub>252</sub> en la simbiosis *Rhizobium-leguminosa*

### Rocío Vicentefranqueira (U. Salamanca)

- Selección, aislamiento y evaluación de microorganismos PGPR del microbioma core de plantas de mora y arándano para desarrollo de bioinoculantes

### José Antonio Gutiérrez-Barranquero (U. Málaga)

- Un Transposón tipo-Tn7 confiere hiperresistencia a cobre en *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

12:30- 13:30

## BIODETERIORO, BIODEGRADACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN

MODERADOR: Constantino Ruibal (UCM, Madrid)

### Gabriela Angeles de Paz (U. Granada)

- Optimización de sistemas de compostaje de lodos de depuradora con microorganismos nativos para eliminar contaminantes emergentes

### Antonio M. Newman-Portela (U. Granada)

- Biorremediación de aguas contaminadas: estudio multidisciplinar de la reducción microbiana de uranio (U) en aguas de mina

### Ana M. García (UPM, Madrid)

- Estudio de la biodegradación de poli(L-ácido láctico) y sus nanocompuestos con 2D-WS<sub>2</sub>

- 12:30- 13:30 **Jesús Salinas Nieto (U. Almería)**
- Desarrollo de consorcios microbianos degradadores de plásticos mediante inducción en microcosmos
- Àngela Vidal-Verdú (U. Valencia)**
- El bacterioma del depósito de combustible: microorganismos con potencial en biorremediación de hidrocarburos
- Theo Obrador-Viel (U. Islas Baleares)**
- Aislamiento de microorganismos degradadores de plástico a partir de un vertedero
- Rafael Bosch Zaragoza (U. Islas Baleares)**
- Degradación de alcanos por *Salipiger aestuarii* 357, un miembro del linaje Roseobacter
- Jorge Guío (U. Zaragoza)**
- Respuestas fisiológicas y transcripcionales de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC7120 a lindano ( $\gamma$ -HCH)

DESCANSO

- 14:00 - 15:30 **SESIÓN CONJUNTA - 3**  
**MICROBIOTA & MICROBIOMES**  
MODERADOR: Manuel Sánchez Angulo (UHM)
- Alvaro Sánchez (Yale/CNB-CSIC, Madrid)**
- Ingeniería evolutiva de consorcios microbianos
- Julian Marchesi (Imperial College, Londres, UK)**
- *Going from bench to bedside: What can we translate to the patient in microbiome research?*

- 16:00 - 18:00 **SESIÓN DE MENTORÍA - 2**

JUEVES 1 DE JULIO

09:30 - 10:30 **RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS**  
MODERADOR: Víctor Jiménez Cid (UCM, Madrid)

**Betsy V. Arévalo-Jaimes (IBEC, Barcelona)**

- Un nuevo dispositivo de microfluídica para la formación y evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de biopelículas

**Lucía Maestre Carballa (U. Alicante)**

- Hoja de ruta del resistoma humano: caracterización de genes de resistencia a antibióticos y su dispersión en ambientes prístinos

**Alberto Hipólito (UCM, Madrid)**

- Caracterización de las dinámicas evolutivas de los cassettes de resistencia en integrones

10:30 - 11:00 **Guillermo Quindós (UPV-EHU)**

- Micosis en la era Covid-19

DESCANSO

11:30 - 12:30 **Jordi Barbé (UAB, Barcelona)**

- Resistencia a las sulfamidas: un problema surgido en el siglo XX originado en el periodo Cámbrico

**Ma José Ferrándiz (CNM-ISCI, Madrid)**

- La DNA Topoisomerasa I como diana de antimicrobianos

09:30 - 10:30 **MICROORGANISMOS Y CICLOS GEOQUÍMICOS**  
MODERADORA: Ana M. García Ruiz (UPM, Madrid)

**María Ángeles Lezcano (CAB, Madrid)**

- Registros del pasado a través de biomoléculas preservadas en un tapete milenario de la plataforma de hielo McMurdo (Antártida)

**Mar Morales-Hidalgo (U. Granada)**

- El papel de los hongos en la biorremediación de Se, Te y Pb para la detoxificación de ambientes contaminados

**Cristina Povedano-Priego (U. Granada)**

- Impacto de la diversidad microbiana en bentonitas sobre el ciclo biogeoquímico del selenio: implicaciones para un futuro Almacenamiento Geológico Profundo



10:30 - 11:00 **Mohamed Merroun (U. Granada)**

- *Impact of microbes in the biogeochemical cycle of metals and radionuclides: Perspectives in Bioremediation, Nanotechnology, Biohydrometallurgy, etc.*

DESCANSO

11:30 - 12:30 **Asunción de los Rios (MNCN-CSIC, Madrid)**

- El papel de los microorganismos en la colonización de áreas polares deglaciadas

**Angeles Aguilera-Bazán (CAB-INTA/CSIC, Madrid)**

- La vida en la atmósfera

09:30 - 10:30 **MICROBIOLOGIA SINTÉTICA**

**MODERADOR: Rafael Giraldo (CNB-CSIC, Madrid)**

**Jonathan Tellechea Luzardo (U. Newcastle, UK)**

- CellRepo: un sistema de control de versiones para microbiólogos

**Aroa Rey Campa (U. Murcia)**

- Diversidad de mecanismos de resistencia contra podovirus en *Marinomonas mediterranea*

**Ander Peña (CIB-CSIC, Madrid)**

- Un enfoque multiómico permite entender cómo *Pleurotus eryngii* transforma el material lignocelulósico no leñoso

10:30 - 11:00 **Rodrigo Ledesma Amaro (Imperial College, Londres, UK)**

- Ingeniería metabólica y biología sintética como herramientas para microbiología industrial: de monocultivos a comunidades microbianas sintéticas

DESCANSO

11:30 - 12:30 **Luis Ángel Fernández (CNB-CSIC, Madrid)**

- Construyendo bacterias mediante biología sintética para actuar selectivamente frente a tumores

**María Lluç Senar (Pulmobiotics/UIC, Barcelona)**

- Ingeniería de una bacteria mínima para el tratamiento de enfermedades respiratorias

12:30- 13:30 **DOCENCIA Y DIFUSIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA**  
MODERADORA: Ma Dolores Vidal Roig (U. Castilla-La Mancha)

**Manuel Sánchez Angulo (U. Miguel Hernández)**

- Comunicar, revisar, difundir y emprender en Biotecnología. Un estudio a lo largo de ocho cursos

**Rafael Ruiz de la Haba (U. Sevilla)**

- Microbio-Juegos: ludificación para aprender Microbiología en la Universidad de Sevilla

**Jessica Gil Serna (UCM, Madrid)**

- La microbiología a debate

**Rafael Bosch Zaragoza (U. Islas Baleares)**

- Proyecto MICROBASE: elaboración de una base de datos genómicos y proteómicos para la formación de estudiantes de Microbiología

**Paula de la Huerta Bengoechea (UCM, Madrid)**

- La resistencia a los antibióticos a pie de calle

**Julio Sempere (ISCIII, Madrid)**

- Enseñando sobre la resistencia a antibióticos a través de TikTok

12:30- 13:30 **MICROBIOLOGÍA MOLECULAR - 2**  
MODERADORA: Alicia M. Muro (IBFV, CSIC-U. Sevilla)

**Fadwa Jroundi (U. Granada)**

- Microorganismos funcionales y sus adaptaciones en un acuífero con depósitos minerales de uranio de tipo rollfront

**Marta Pulido Sánchez (U. Pablo de Olavide)**

- Organización y regulación transcripcional del sistema flagelar de *Pseudomonas putida*

**Guillem Coll García (U. Islas Baleares)**

- Respuesta de *Pseudomonas stutzeri* AN10 a presión selectiva en tiempo real

**Rosa M. García-Valero (U. Sevilla)**

- Caracterización de un sistema de señalización "many to one" implicado en la osmoadaptación en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*

**Mario Mencía Caballero (CBM-CSIC, Madrid)**

- La ADN polimerasa PrimPol de *Thermus thermophilus* está implicada en defensa contra ADN exógeno

**Juan Calvet-Seral (U. Zaragoza)**

- Identificación de inhibidores del sistema PhoPR como moléculas terapéuticas anti- virulencia en *Mycobacterium tuberculosis*

**Youssef El Mouali Benomar (HIRI, U. Würzburg, Alemania)**

- *Deep mutational scanning of RNA-binding protein ProQ suggests a mechanism of quality control by protease Lon*

**Manuel Brenes-Álvarez (IBVF-CSIC, U. Sevilla)**

- Regulación postranscripcional mediada por RNAs antisentido durante la diferenciación de heterocistos en *Nostoc* sp. PCC 7120

12:30- 13:30

**MICROBIOLOGÍA ALIMENTOS - 2**

MODERADOR: Gonzalo García de Fernando (UCM, Madrid)

**Elía Roncero Benavente (U. Extremadura)**

- Evaluación del efecto sinérgico de extractos vegetales y *Debaryomyces hansenii* frente a la síntesis de ocratoxina A en *Penicillium nordicum*

**Alberto Pintor-Cora (U. León)**

- Implicación de los vegetales frescos en la transmisión de enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas

**Noelia Viveros Lizondo (U. Castilla-La Mancha)**

- Microbiología de la carne de pavo

**Marisa Gómez-Galindo (CEBAS-CSIC, Murcia)**

- Uso de tratamientos comerciales de bacteriófagos y cultivos protectores para reducir el riesgo asociado a *Listeria monocytogenes* en productos vegetales.

**Olga María Bonilla Luque (U. Córdoba)**

- Evaluación de la seguridad alimentaria del queso artesanal elaborado con leche cruda de cabra en España.

**Eva Cebrián Cabezón (U. Extremadura)**

- Efecto de agentes de biocontrol frente a *Penicillium nordicum* productor de ocratoxina A durante el procesado del salchichón.

**Juliana Mareze (U. León)**

- *Risk assessment of cyclopiazonic acid production by Penicillium commune on cheese*

**Irene Martín Tornero (U. Extremadura)**

- Efecto de *Lactobacillus sakei* seleccionado frente a *Listeria monocytogenes* en alimentos madurados tradicionales

DESCANSO

14:00 - 15:30

**SESIÓN CONJUNTA - 4****MESA REDONDA: "COMUNICACIÓN Y MICROBIOLOGÍA"  
(la visión desde los medios)**

MODERADOR: Ignacio López Goñi (U. Navarra)

Patricia Fernández de Lis (Materia - El País)

Eva Caballero (R. Euskadi)

Luis Quevedo (Youtube/TVE/RNE)

VIERNES 2 DE JULIO

09:30 - 10:30 **SEGURIDAD ALIMENTARIA**  
MODERADORA: Rosa Aznar (CECT-U. Valencia)

**Juan Carlos Pulido Pacheco (U. Extremadura)**

- Evaluación del crecimiento de *Staphylococcus aureus* y producción de enterotoxina en un modelo de jamón curado reducido en nitrito

**Leonidas Georgalis (UPCT, Cartagena)**

- Diferencias entre *Salmonella seftenberg* y *Salmonella enteritidis* en su capacidad de adaptarse al estrés durante tratamientos térmicos dinámicos

**Irene Aldea Ramos (UCM, Madrid)**

- Dinámica del gen bla<sub>cm</sub>-2 en una granja comercial de producción de huevos

10:30 - 11:00 **Teresa Aymerich (IRTA, Gerona)**  
• Macroalgas marinas y bacterias epífitas como potenciales bioconservantes naturales

DESCANSO

11:30 - 12:30 **Félix Núñez Breña (U. Extremadura)**  
• Mecanismos de acción de agentes utilizados para el biocontrol de ocratoxina A en derivados cárnicos curado-madurados  
**Juan José Córdoba Ramos (U. Extremadura)**  
• Control de *Listeria monocytogenes* en alimentos madurados listos para el consumo

09:30 - 10:30 **INTERACCIONES PLANTA-MICROORGANISMOS**  
MODERADOR: José M. Palacios (UPM, Madrid-UNIA)

**Maria Luisa Domingo-Calap (IVIA, Valencia)**

- Búsqueda y caracterización de bacteriófagos frente a *Xylella fastidiosa*

**María Illescas (U. Salamanca)**

- Efecto de *Trichoderma* en el microbioma de raíz de trigo cultivado en campo bajo alta fertilización química nitrogenada

**Manuel Anguita Maeso (IAS-CSIC, Córdoba)**

- Influencia del genotipo de olivo, factores agroambientales y estacionales en la estructura y diversidad del microbioma xilemático del olivo cultivado

10:30 - 11:00 **Antonio Di Pietro (U. Córdoba)**

- Estudio de los mecanismos de adaptación en el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* mediante evolución experimental

DESCANSO

11:30 - 12:30 **José Ma Vinardell (U. Sevilla)**

- Señales moleculares bacterianas en la simbiosis rizobio-leguminosa

**M. Trinidad Gallegos (EEZ-CSIC, Granada)**

- Particularidades de la ruta Gac-Rsm en *Pseudomonas* asociadas a plantas

09:30 - 10:30 **BIORREFINERIAS MICROBIANAS**

**MODERADORA: Alicia Prieto (CIB-CSIC, Madrid)**

**Ana García Franco (EEZ-CSIC, Granada)**

- *Synthesis of aromatic amino acids from 2G lignocellulosic substrates*

**Juan Méndez-Liter (CIB-CSIC, Madrid)**

- La LPMO del hongo *Talaromyces amestolkiae*: su potencial para mejorar la sacarificación de residuos lignocelulósicos

**Maria Gallego García (CIEMAT, Madrid)**

- Destríos como fuente de carbono para la acumulación de aceite microbiano en levaduras oleaginosas

10:30 - 11:00 **Mercedes Ballesteros (CIEMAT, Madrid)**

- Biorrefinería urbana: transformar la basura en bioproductos

DESCANSO

11:30 - 12:30 **Susana Camarero (CIB-CSIC, Madrid)**

- Nuevas enzimas extremófilas como herramientas biotecnológicas para biorrefinerías de lignocelulosa: el proyecto WoodZymes como un caso de estudio

**Manuel Porcar (I2SysBio, U. Valencia)**

- Bioprospección microbiana: del campo al mercado

DESCANSO

13:00 - 14:30

**SESIÓN DE CLAUSURA  
PREMIO JAIME FERRÁN 2021**

**MODERADOR: Antonio Ventosa (U. Sevilla)**

**Alvaro San Millán (CNB-CSIC, Madrid)**

- Plásmidos y evolución

**Presentación Exposición Museo Nacional de Ciencias Naturales (A. de los Ríos)**

**Premios SEM/Grupos Especializados**

**CLAUSURA DEL CONGRESO**



# CONFERENCIAS PLENARIAS

## Trends in Microbial Pathogenesis

### Heterogeneidad fenotípica en poblaciones bacterianas

**Josep Casadesús<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Genética, Facultad de Biología, Avenida Reina Mercedes 6, E-41012, Sevilla, España

El análisis de células individuales (citometría de flujo, microfluídica, microscopía de fluorescencia, etc.) indica que la heterogeneidad fenotípica es un fenómeno común en las poblaciones bacterianas. Las diferencias fenotípicas de célula a célula pueden ser consecuencia del ruido inherente a la expresión génica y a otros procesos celulares. Ahora bien, una diferencia estocástica entre células puede servir de señal para iniciar un lazo autocatalítico transmisible a la descendencia. Cuando ello ocurre, la señal estocástica desencadena un programa determinista y la población se fracciona en subpoblaciones produciendo biestabilidad (o, teóricamente, multiestabilidad). La biestabilidad también puede tener origen genético (reorganización del DNA, expansión o contracción de tripletes, etc.) o epigenético (metilación del DNA). La teoría de juegos predice que la heterogeneidad fenotípica puede facilitar la supervivencia en ambientes cambiantes, ya sea permitiendo la división del trabajo o produciendo tipos de células capaces de responder a desafíos futuros ("bet hedging"). Estas predicciones han sido confirmadas a nivel experimental en determinados casos. En esta presentación, la resistencia no mutacional a kanamicina y la adaptación de *Salmonella* a la vesícula biliar servirán de ejemplos de formación de linajes fenotípicos mediante señales estocásticas propagadas por lazos autocatalíticos. También se describirán brevemente dos ejemplos de biestabilidad controlada por metilación del DNA: la adquisición de resistencia a fagos por modificación de la longitud del LPS y la diferenciación de linajes de *Salmonella* especializados en infección aguda e infección crónica.

Financing: BIO2016-75235-P, FEDER US-1254118

## What can Omics tell us about the adaptations and functions of bacteria?

**Jörg Overmann<sup>1</sup>**

(1) Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH

In contrast and notwithstanding decades of cultivation and isolation attempts, only about 17,000 species of Bacteria and Archaea, representing 0.1 - 0.001% of the estimated global number of species, have so far been validly described. Even more significantly, laboratory cultivation has predominantly returned isolates from only four bacterial phyla, few isolates from 29 other bacterial and archaeal phyla, and none for the 85 remaining phyla. The composition and expression patterns of many different microbiomes are typically analyzed by high throughput genomics, transcriptomics and proteomics approaches, yet over 80% of the genes identified in a genome may have unknown functions. Novel adaptations and ecological niches of unknown bacteria can be inferred from state-of-the-art high throughput amplicon sequencing, for instance by using a recently established culture-independent niche modeling approach. Here, niche optima are modeled from the relative abundances of 16S rRNA gene transcripts for active bacterial sequence types along the gradients of environmental variables, providing information on ecological adaptations that cannot be inferred from standard taxonomic descriptions of bacterial isolates. Low abundance microbial communities such as the lung microbiome require specific pre-enrichment strategies before molecular analyses. However, the isolation of target bacteria is still required to generate the high quality, closed and complete genome sequences that permit more in-depth analysis of the adaptation, evolution, and epidemiology of bacteria, as will be exemplified for the emerging pathogen *Clostridioides difficile* and the probiotic *Phaeobacter* spp. from aquaculture.

## Living in a Microbial World

### An update on bacterial quorum sensing: new molecules, new mechanisms

**Leo Eberl<sup>1</sup>**

(1) University of Zürich, Department of Plant and Microbial Biology, Zollikerstrasse 107, 8008 Zürich, Switzerland

The term quorum sensing (QS) is generally used to describe the phenomenon that many bacteria are capable of perceiving and responding to self-generated signal molecules to coordinate their behavior according to their population size. However, over the past years evidence has accumulated that QS system can also create heterogeneity in bacterial populations. One example are hydrophobic signals molecules that have a poor solubility in water and thus it is unclear how these molecules travel in aqueous environments. Recent work has shown that such signals can be released by membrane vesicles (MVs), which also serve as vehicles for signal dispersal. Given that the signals are concentrated in MVs, which can target specific cell types, a new binary signaling mechanism has been proposed that is different from the classic diffusion-based signaling model and is characterized by an inherent heterogeneity of QS-dependent gene expression. Studies on bacterial QS have so far mainly focused on AHL-dependent systems in Gram-negative and peptide-based systems in Gram-positive bacteria. However, evidence has emerged that many other structurally unrelated molecules are used by bacteria for communication. One of the latest discoveries is valdiazin, a molecule with an unusual diazenium diolate group, which is synthesized by a gene cluster that directs the biosynthesis of the antifungal compound fragin in the opportunistic pathogen *Burkholderia cenocepacia* H111. Homologs of the valdiazin biosynthesis genes are found in various bacteria and evidence is emerging that valdiazin is only the first representative of a new bacterial signal family.

## Bacteria feeding on antibiotics – eating the poisonous

**Philippe Corvini<sup>1</sup>**

(1) Institute for Ecopreneurship, Switzerland

The talk is on the isolation of bacteria, which are not only resistant to sulphonamide antibiotics, but also degrade and mineralize them. One of these isolates, *Microbacterium* sp. strain BR1 is able to feed on SMX as sole carbon and energy source. The degradation of SMX and structural analogues is initiated by an ipso-substitution, catalyzed by a flavin-dependent monooxygenase acting in concert with a FMN reductase. The resulting p-aminophenol enters the central metabolism through a second monooxygenase activity. The cluster of genes involved in this degradation process was identified and the three enzymes could be heterologously expressed in *E. coli*. This gene cluster might represent an additional, yet unknown resistance mechanism for bacteria against sulfonamides. Even though the classic *sul1* gene is present as well in *Microbacterium* sp. strain BR1, its additional capacity to feed on SMX might represent a superior mechanism conferring to the bacterium clear advantages over a modified protein target especially in nutrient limited environments but also in case of human infection. Finally, we discuss the relevance of these findings addressing questions arising from this research. Is the biodegradation of sulphonamides by *Microbacterium* BR1 a single case? Can the catabolism of sulphonamides be considered as a novel resistance to sulphonamides? What is the significance of ipso-substitution during wastewater treatment? What if bacteria like *Microbacterium* infects human? Can bacteria feed on other antibiotic families? Do catabolic genes involved in the biodegradation of a given antibiotic impact the propagation of genes determining the resistance to this antibiotic and reciprocally?

## Microbiota & Microbiomes

### Ingeniería evolutiva de consorcios microbianos

**Álvaro Sánchez**<sup>1,2</sup>

(1) Yale University, Microbial Sciences Institute, Yale University West Campus,, 840 West Campus Rd., West Haven, Connecticut, Estados Unidos

(2) Yale University, Department of Ecology Evolutionary Biology, 165 Prospect St., New Haven, Connecticut, Estados Unidos

La evolución ha creado la increíble diversidad de formas de vida en nuestro planeta, así como todos los sistemas biológicos a cualquier escala de organización. Milenios antes de que entendiéramos las bases genéticas de la evolución y mucho antes de que tuviéramos una teoría de la misma, nuestros ancestros aprendieron a usar procesos evolutivos para crear los cultivos y animales domésticos que nos condujeron a la revolución neolítica. En las últimas tres décadas, la selección artificial ha dado paso a la evolución dirigida, que nos ha permitido diseñar sistemas biológicos moleculares y genéticos, como enzimas o circuitos genéticos, que carecen de sistemas reproductivos autónomos. ¿Puede la evolución dirigida ayudarnos a crear consorcios microbianos con funcionalidades deseadas? En esta charla discutiré los límites eco-evolutivos que existen para ello, y expondré las ideas que mi grupo de investigación está proponiendo para vencer estas limitaciones. La aplicación de ideas provenientes de la ecología y la teoría de la evolución a este problema nos han llevado a explicar el fracaso de anteriores intentos, y a proponer nuevos métodos que estamos actualmente probando empíricamente. Nuestros resultados hasta la fecha nos hacen optimistas, y sugieren que, más que un obstáculo, la evolución y la ecología son soluciones para la ingeniería de consorcios microbianos.

Financing: Packard Fellowship de la David and Lucille Packard Foundation. NIH Grant GM133467-01



## Going from bench to bedside: What can we translate to the patient in microbiome research?

**Julian Marchesi<sup>1</sup>**

(1) Imperial College London

Human beings are holobionts, in other words they have evolved along with the resident microbiota to a point where the host is more reliant on functions from the passengers than vice versa. The nature of the relationship is complex and in many different microbiomes we're still trying to understand the contribution that the microbiota makes to host functions. For many years one function that we know the gut microbiota provide is colonisation resistance, a function that prevents specific pathogens from causing disease. With the advent of antibiotics in the 1920s many bacterial infections became immediately treatable, however, as we now know at the cost of selecting for antibiotic resistant variants in the pathogen's pan genome. Recently we have rediscovered the ability of intestinal microbiota transplants (IMT; also known as faecal microbiota transplant) to treat *Clostridioides difficile* infections. IMT has been shown to be more efficacious than standards of care which include vancomycin, however, the mechanism of action is unclear. Using IMT also allows us to start to explore what happens when the gut microbiota and its microbiome is drastically altered by transplantation of a non-self microbial community. In this talk I will explore how we've been using IMT as a discovery tool for trying to understand the complex interaction of the host and its microbiota.

### Mesa Redonda: Comunicación y Microbiología

#### Comunicación y Microbiología: la visión desde los medios (mesa redonda)

**Ignacio López-Goñi**<sup>1</sup>, Patricia Fernández de Lis<sup>2</sup>, Eva Caballero<sup>3</sup>, Luis Quevedo<sup>4</sup>

(1) Universidad de Navarra

(2) El País (Materia)

(3) La mecánica del caracol, EITB

(4) RTVE

Durante este último año, la ciencia ha generado un cantidad inmensa de conocimiento, son más de 130.000 los artículos en PubMed sobre SARS-CoV-2 y la COVID-19, más de los que hay sobre otras enfermedades como la malaria. Algunos han denominado a 2020 el año de la ciencia. Pero la sociedad necesitaba certezas, y la ciencia gestiona incertidumbres y necesita tiempo. Tal cantidad de información científica, unido a un mundo globalizado por las redes sociales ha generado una "tormenta perfecta". La proliferación de manipulaciones, teorías conspiratorias, contenidos descontextualizados y embustes de todo tipo, llevó en febrero de 2020 a que la OMS alertara sobre una infodemia superpuesta a la pandemia: «Una sobreabundancia de información —alguna exacta y otra no— que hace difícil que la gente encuentre fuentes dignas de crédito y fiables». En esta mesa redonda se analizará cómo se comunica la ciencia, se debatirá sobre cómo los medios de comunicación han vivido su relación con los científicos, qué papel pueden jugar los investigadores en la difusión del conocimiento científico, cómo facilitar la relación entre la ciencia y los medios de comunicación, qué problemas o dificultades tienen los periodistas científicos para relacionarse con investigadores, y viceversa, por qué es necesaria la presencia de la ciencia en la prensa, le interesa realmente la ciencia a los ciudadanos, continuará la presencia de la ciencia en los medios cuando pase la pandemia, cómo está la comunicación y divulgación de la ciencia en este momento, consejos de un periodista o comunicador a un científico, etc.

# CONFERENCIA DE CLAUSURA

## Plásmidos y evolución

Álvaro San Millán<sup>1</sup>

(1) Centro Nacional de Biotecnología (CSIC), Biotecnología Microbiana

Los plásmidos son elementos genéticos extra-cromosómicos capaces de transferirse horizontalmente entre bacterias. Los plásmidos juegan un papel fundamental en la ecología y evolución microbiana, proveyendo a las bacterias de un arsenal de genes que facilitan su adaptación a nuevos ambientes. Uno de los ejemplos más evidentes de la importancia de los plásmidos en la evolución bacteriana es el papel crucial que han desempeñado en la diseminación de genes de resistencia a antibióticos entre patógenos de relevancia clínica. Pero el potencial evolutivo conferido por los plásmidos va más allá de su mero rol como elementos genéticos móviles; estudios recientes subrayan que la naturaleza multicopia de los plásmidos les permite actuar como catalizadores de la evolución de los genes que portan, suministrando un nivel extra de adaptabilidad a las bacterias hospedadoras. En los últimos años hemos sido testigos de un aumento exponencial en el interés por la biología evolutiva de las asociaciones entre plásmidos y bacterias así como por la biología de poblaciones de los plásmidos en general. En esta charla, presentaré mis contribuciones a estos fascinantes campos de investigación, dando una visión general de los aspectos más relevantes y novedosos del papel de los plásmidos en la evolución bacteriana.

# **SIMPOSIA**

## **Salud Global**

## Zoonosis y enfermedades emergentes

### Distribución intercontinental de la viruela aviar detectada en milanos reales migratorios

**Richard Williams**<sup>1</sup>, María Cruz Camacho Sánchez-Camacho<sup>2</sup>, Yolanda Ramiro<sup>2</sup>, Javier de la Puente<sup>3</sup>, Ursula Hofle<sup>2</sup>

(1) Universidad Complutense Madrid, Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Madrid, España

(2) CSIC-UCLM-JCCM, Grupo de Sanidad y Biotecnología (SaBio), Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, Ciudad Real, España

(3) SEO/Birdlife, Bird Monitoring Unit, Madrid, España

El comportamiento migratorio de las aves puede impulsar la exposición de las aves y su relación con diferentes patógenos. Es clave para comprender la epidemiología de numerosas enfermedades zoonóticas y las que contribuyen a la disminución de la población de aves silvestres. Ensayamos a 179 milanos reales (*Milvus milvus*) capturados en una zona de invernada en el noreste de España y procedentes de varias poblaciones migratorias de Centroeuropa, para un panel de patógenos aviares, incluida la viruela aviar (Avipox). En esta contribución presentamos los resultados del ensayo para Avipox. Hasta donde sabemos, esta es la primera evidencia de migración a escala continental de este patógeno infeccioso. Seis milanos invernantes con lesiones compatibles y positivos por Avipox eran hospedadores de una secuencia de virus genéticamente idéntica. Este linaje se detectó previamente en los milanos reales en España y águila culebrera chiila (*Spilornis cheela*) de Taiwán, a miles de kilómetros de distancia. Se han detectado ocho linajes de Avipox en rapaces diurnas. Estos exhiben una variedad de relaciones espaciales y de hospedadores: algunos se encuentran en un área limitada y en grupos taxonómicos específicos, mientras que otros son cosmopolitas y se sabe que infectan hospedadores de ocho órdenes de aves. Las barreras a la dispersión de patógenos pueden ser físicas, como las de larga distancia, o estar relacionadas con el sistema inmunológico específico de los individuos o especies hospedantes. Para algunos patógenos que se encuentran en especies de aves de gran movilidad, la distancia y la taxonomía no son una barrera para la distribución.

## Actividad amebicida de compuestos dendríticos frente a *Acanthamoeba polyphaga* y *Acanthamoeba griffini*

**Patricia López-Barona**<sup>1</sup>, Tania Lozano-Cruz<sup>2,3,4</sup>, Tania Martín-Pérez<sup>1</sup>, Cristina Verdú-Expósito<sup>1</sup>, Francisco Javier de la Mata<sup>2,3,4</sup>, Jorge Pérez-Serrano<sup>1</sup>, Irene Heredero-Bermejo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alcalá, Departamento de Biomedicina y Biotecnología, Facultad de Farmacia, Campus científico tecnológico. Carretera Madrid-Barcelona km 33. 100, Alcalá de Henares, España

(2) Universidad de Alcalá, Departamento de Química Orgánica e Inorgánica. Instituto de Investigación en Química, Andrés M. del Río, (IQAR), Facultad de Farmacia, Campus científico tecnológico. Carretera Madrid-Barcelona km 33. 100, Alcalá de Henares, España

(3) Centro de Investigación en Red sobre Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BNN), Madrid, España

(4) Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Carretera Colmenar Viejo, Km 9. 100, 28034, Madrid, España

Las amebas pertenecientes al género *Acanthamoeba* son protozoos ubicuos que pueden actuar como patógenos oportunistas en seres humanos, causando 2 enfermedades graves: la queratitis amebiana (QA) y la encefalitis amebiana granulomatosa (EAG). Ligado a un uso cada vez mayor de lentes de contacto, los casos de QA no han dejado de aumentar, por lo que esta enfermedad emergente se está convirtiendo en un problema de primer orden. Su ciclo de vida presenta dos formas: el trofozoíto y el quiste. A pesar de que muchos tratamientos son eficaces frente a la forma de trofozoíto, no son capaces de eliminar los quistes, por lo que la infección no desaparece. Además, la elevada citotoxicidad y la posología del tratamiento estándar dificultan la adherencia al mismo. En este contexto, la búsqueda de nuevos compuestos con actividad amebicida se ha vuelto una línea de investigación prioritaria. En nuestro estudio, se evaluó la actividad amebicida de 3 dendrones de nueva síntesis: BDTL053, BDTL056 y BDTL059. Todos ellos exhibieron actividad amebicida frente a los trofozoítos de *A. polyphaga* y *A. griffini*; y el dendrón BDTL056 también mostró actividad cisticida. Adicionalmente, al combinarlo con clorhexidina, compuesto utilizado en el tratamiento de la QA, se logró reducir las dosis efectivas de ambos compuestos hasta concentraciones con moderada citotoxicidad en células HeLa. Por ello, estos resultados dan pie a la posible utilización del dendrón BDTL056 como agente anti-*Acanthamoeba* junto a fármacos de referencia en el tratamiento de la QA.

Financing: Proyecto: CCG20/CC5-013 (Universidad de Alcalá)



### Genotipos de *Coxiella burnetii* presentes en muestras ambientales de explotaciones ganaderas de Asturias y su distribución geográfica

Ana del Cerro Arrieta<sup>1</sup>, Aitor Somoano García<sup>1</sup>, Jonathan Fernández-Suárez<sup>3</sup>, Jesús F. Barandika Iza<sup>2</sup>, Ana L. García Pérez<sup>2</sup>, Alberto Espí Felgueroso<sup>1</sup>

(1) Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Sanidad Animal, Centro de Biotecnología Animal, Camino de Rioseco 1225, 33394 Deva, Gijón, España

(2) NEIKER - Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Sanidad Animal, Parque Tecnológico de Bizkaia – C/ Berreaga, 1 - 48160, Derio, España

(3) Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Oviedo, España

*Coxiella burnetii* es una bacteria intracelular Gram-negativa causante de la fiebre Q, una zoonosis de distribución mundial. En España, esta zoonosis es endémica en algunas regiones y desde el año 2015 es de declaración obligatoria reflejándose los casos en el Sistema de Información Microbiológica (SIM). Esta bacteria se encuentra en un amplio rango de hospedadores como mamíferos, aves y artrópodos, pero los rumiantes domésticos son la principal fuente de infección para los humanos. La caracterización de *C. burnetii* mediante el genotipado de SNPs aporta una información muy útil para conocer las cepas circulantes en personas, animales domésticos y animales silvestres en un área determinada, y así poder determinar el posible origen de los brotes humanos. En el presente trabajo se investigan las cepas de *C. burnetii* circulantes en explotaciones de bovino, caprino y ovino de Asturias, mediante el genotipado de 10 SNPs a partir de muestras ambientales. De un total de 25 explotaciones muestreadas, se detectó la presencia de esporas de *C. burnetii* en 20 de ellas. Hasta el momento, se ha realizado el genotipado completo en 10 de los casos, identificándose los genotipos 2, 6 y 8. El genotipo 2 se detectó en muestras de bovino y caprino, el genotipo 6 en muestras de caprino y el genotipo 8 en caprino y ovino. Los genotipos 2 y 8 estaban asociados a brotes humanos de personas directamente vinculadas a explotaciones ganaderas. Es la primera vez que se identifican los genotipos de *C. burnetii* circulantes en esta región.

Financing: INIA - Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (RTA2017-00055-C02-02) European Regional Development Funds (ERDF) PCTI 2018–2020 (GRUPIN: IDI2018-000237)

## De animales y/a humanos: el virus de la Hepatitis E como agente zoonótico de transmisión alimentaria

**David Rodríguez Lázaro**<sup>1</sup>

(1) Universidad de Burgos, Grupo de Microbiología, Facultad de Ciencias, Plaza Misael Bañuelos s/n, Burgos, España

El virus de la hepatitis E es la principal causa de hepatitis viral aguda. En los países industrializados la principal vía de transmisión es a través de los alimentos, especialmente productos derivados del cerdo. Para su control es necesario aplicar una estrategia holística basada en el concepto «Una Salud», que englobe de una forma coordinada sus tres pilares; el control en la producción primaria (sanidad animal), en la comunidad (sanidad humana) y en el medio ambiente (sanidad ambiental). Entre las necesidades prioritarias se reflejan aspectos asociados a estos tres pilares: la dinámica del virus en la población porcina y cómo se ve afectada por las prácticas de cría, el desarrollo y validación de metodologías para su inactivación en los alimentos, y de métodos armonizados para su detección en productos cárnicos y de evaluación de su infectividad, la caracterización de su incidencia en humanos, y la relación entre las cepas en poblaciones humanas y porcinas, y alimentos. Es incuestionable que estas prioridades abarcan aspectos tanto ambientales, de producción primaria y procesado de alimentos, y de labor asistencial, pero es innegable también, que cada una de ellas, de una manera aislada no puede solucionar el problema en su conjunto. Se requiere, por tanto, su aplicación de una manera conjunta y coordinada para conocer tanto cómo controlar el foco zoonótico de la infección (el ganado porcino), la evaluación cuantitativa del riesgo asociado a los alimentos, y el efecto en la población. Esto lo subraya como un ejemplo evidente de la estrategia «Una Salud».

### Vibrio vulnificus, un subestimado patógeno zoonótico ligado a piscifactorías

**Carmen Amaro<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Valencia, Instituto de Investigación en Biotecnología y Biomedicina (BIOTECMED), Biología, Dr. Moliner 50, Burjassot, España

*Vibrio vulnificus* es un patógeno marino que se considera un barómetro microbiano del cambio climático. La especie incluye cinco linajes filogenéticos (L1 a L5), todos ellos potencialmente patógenos para el ser humano, además de una patovariedad (pv. piscis) que es patógena para peces gracias a un plásmido (pFv) que codifica resistencia a la inmunidad innata en sangre de los peces. Hasta la fecha, la relevancia de esta especie como agente zoonótico vinculado a las piscifactorías se ha subestimado, probablemente porque todos los casos zoonóticos conocidos se limitaban a un único clado dentro de L2 (L2-Serovar E o L2-clado E). En esta charla, resumiré los resultados de nuestra investigación que demuestran que los grupos zoonóticos ya están presentes en cuatro de los cinco linajes de la especie, incluido el L3 (antiguo biotipo 3) y describiré un nuevo clado zoonótico, recientemente surgido dentro del L1. También aportaré pruebas que apoyan la hipótesis de que todos estos grupos han surgido por la adquisición de una nueva versión de pFv tras sucesivos brotes de vibriosis en piscifactorías de tilapia situadas en el Mediterráneo oriental. En conclusión, nuestros resultados vinculan la transmisión de una familia de plásmidos de virulencia con la aparición de múltiples grupos zoonóticos en *V. vulnificus* y, por tanto, ponen de manifiesto la verdadera relevancia de este patógeno como agente zoonótico asociado a las piscifactorías.

Financing: Grants AGL2017-87723-P from Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Spain) plus FEDER funds, and AICO/2020/076 from Generalitat Valenciana (Spain).

## Mecanismos patogénesis

### Identificación de amiloides tipo BAP en la microbiota intestinal y evaluación de su papel en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas

**Ariadna Fernández Calvet**<sup>1</sup>, Leticia Matilla Cuenca<sup>1</sup>, Jaione Valle<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-Gobierno de Navarra), Mutilva, Navarra, España

Estudios recientes han reconocido que los amiloides bacterianos son elementos funcionales y estructurales de la matriz extracelular del biofilm de muy diversas bacterias. El biofilm formado por la microbiota del tracto intestinal es uno de los más abundantes del cuerpo humano y, como tal, produce una enorme cantidad de amiloides. En este escenario, tiene lugar una compleja interacción entre el sistema inmune del huésped y los amiloides bacterianos que, bajo condiciones específicas, pueden provocar patologías relacionadas con el mal plegamiento de determinadas proteínas. En esta investigación proponemos que la disbiosis en el amiloma (amiloides de la microbiota intestinal) causada por bacterias patobiontes (bacterias residentes de la microbiota con potencial patógeno) puede actuar como un factor desencadenante de enfermedades. Utilizando las proteínas BAP como modelo de amiloides funcionales y los trastornos neurodegenerativos relacionados con el mal plegamiento de proteínas como modelo de enfermedad, hemos estudiado la interrelación entre los amiloides bacterianos y enfermedad. Para ello, en primer lugar, se ha determinado la composición de amiloides tipo BAP del patobioma gastrointestinal. En segundo lugar, se ha analizado si los amiloides tipo BAP pueden iniciar o acelerar la polimerización de proteínas amiloides humanas utilizando modelos de agregación de  $\alpha$ -sinucleína en neuronas motoras en cultivo y en el nematodo *Caenorhabditis elegans*.

Financing: Este trabajo forma parte del proyecto AMYL-BAP, que ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (RTI2018-096011-B-I00).

### El regulador de respuesta ArlR induce la formación de biofilm de *Staphylococcus aureus* en su estado no fosforilado

**Carmen Gómez Arrebola<sup>1</sup>**, Cristina Solano Goñi<sup>1</sup>, Iñigo Lasa Uzcudun<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Patogénesis Microbiana. Navarrabiomed, Universidad Pública de Navarra (UPNA), IDISNA-Pamplona, 31008 (España)

Los sistemas de dos-componentes (TCS) son el principal sistema sensorial de una bacteria. Están formados por una histidina quinasa (HK), responsable de detectar cambios en el ambiente extracelular o intracelular y de un regulador de respuesta (RR), encargado de modificar la expresión de genes en respuesta a señales ambientales. En presencia del estímulo, la HK fosforila al RR y éste provoca cambios en la expresión de genes. En *Staphylococcus aureus*, ArlSR es un TCS que regula la expresión del operón *icaADBC* responsable de la síntesis del exopolisacárido PIA/PNAG, un componente principal del biofilm de esta bacteria. En el presente trabajo, se ha explorado cómo afectan las formas fosforilada y no fosforilada de ArlR a la expresión del operón *icaADBC* y a la del gen *icaR*, que codifica un represor del operón *icaADBC*. La complementación de una cepa de *S. aureus* mutante en *arlSR* con la forma salvaje de ArlRS, una variante que imita la forma fosforilada de ArlR y una variante no fosforilable, ha demostrado que la forma no fosforilada de ArlR participa en la represión de *icaR* mientras que la forma fosforilada induce la expresión de *icaR*. Estos resultados indican que, en ausencia de señal ambiental, ArlSR induce la síntesis de PIA/PNAG y la formación de biofilm mientras que, en presencia de la señal que provoca la activación del sistema y la fosforilación del RR, se inhibe la síntesis del exopolisacárido y la formación de biofilm en *S. aureus* en un proceso dependiente de *IcaR*.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto BIO2017-83035-R (Agencia Española de Investigación/Fondo Europeo de Desarrollo Regional, Unión Europea)

## La presencia de plásmidos conjugativos modula la expresión de factores de colonización y virulencia de codificación cromosómica.

**Carlos Jonay Jiménez Moreno**<sup>1</sup>, Carlos Balsalobre Parra<sup>1</sup>, Cristina Madrid Xufre<sup>1</sup>

(1) Universidad de Barcelona, Departamento de Genética, Microbiología y Estadística, Biología, Diagonal, 643 08028 Barcelona, Barcelona, España

El efecto de la presencia de plásmidos conjugativos en la expresión de funciones cromosómicas no está bien caracterizado. Si bien se sabe que la presencia de plásmidos de gran tamaño causa un efecto en el fitness de la célula bacteriana, no se conoce el impacto que puede tener en funciones específicas de codificación cromosómica. En este trabajo estudiamos si la presencia de plásmidos conjugativos de aislamientos clínicos de *Escherichia coli* uropatógenas portadores de resistencia a beta lactámicos tienen un efecto en la expresión de factores de colonización y virulencia cromosómicos. Diez plásmidos conjugativos fueron seleccionados y caracterizados (un *inc I1α*, un *I1α/I1γ*, dos *FII*, un *N/FII*, un *FIA/FIB/FII*, un *FIA/FII/I1α*, un *FIA/FII*, dos *FIB/FII*,). Tras ser conjugados a cepas comensales (MG1655) y UPEC (J96), el efecto de la presencia de los plásmidos en la motilidad, biofilm, agregación celular, producción de hemolisina y producción de fimbrias de tipo 1 se ha caracterizado. Nuestros resultados muestran que la adquisición de un plásmido conjugativo, no únicamente proporciona nuevas funciones codificadas en dicho elemento extracromosómico, si no que puede ejercer un importante impacto debido a "crosstalk" con genes cromosómicos. Resultados preliminares sugieren la existencia de un posible mecanismo de regulación post transcripcional de la expresión de Ag43, responsable de la autoagregación celular.

Financing: Ministerio de Ciencia e Innovación. PGC2018-096958-B-I00

### El reto de la pato-adaptación: estrategias de patógenos bacterianos oportunistas para “ir de incógnito” en el sistema respiratorio humano.

**Juncal Garmendia García**<sup>1,2</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Agrobiotecnología, Avenida Pamplona 123, Mutilva, Navarra, España

(2) Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Madrid, España

Los patógenos bacterianos oportunistas causantes de enfermedades infecciosas respiratorias presentan estrategias sofisticadas de adaptación al sistema respiratorio humano. Con frecuencia presentes en individuos sanos, son varios los factores que determinan la transición entre colonización asintomática e infección sintomática. Entre ellos, se encuentra la ocurrencia de patologías crónicas de base. Este es el caso de *Haemophilus influenzae*, que forma parte del microbioma respiratorio humano, y es también un patógeno oportunista causante de infección pulmonar persistente en pacientes que sufren enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Según la OMS, la EPOC y las infecciones de las vías respiratorias inferiores son la tercera y la cuarta causa de muerte más frecuente a nivel mundial, respectivamente, por lo que entender las bases biológicas de la infección respiratoria crónica es clave para dirigir nuevos desarrollos terapéuticos. Nuestro trabajo, dedicado a identificar claves genómicas de la evolución pato-adaptativa de *H. influenzae* en el pulmón de pacientes que sufren EPOC, ha caracterizado tres tipos de estrategias ventajosas para este patógeno durante la infección persistente, que revisaremos en esta ponencia. Entre ellas, se encuentran la pérdida de función que conlleva antagonismo pleiotrópico y resistencia al efecto bactericida de ácidos grasos pro-inflamatorios, ejemplificada en el gen *fadL*; la variabilidad alélica que determina la hiperinvasión del epitelio respiratorio, ejemplificada en el gen *hmw*; y la expresión variable por variación de fase del gen *hmw*, que favorece cambios en el estilo de vida de *H. influenzae*, transitando entre la hiperinvasión epitelial y la formación de biopelículas durante el proceso de colonización.

Financing: MINECO SAF2015-66520-R y RTI2018-096369-B-I00, SEPAR 875/2019, Gobierno de Navarra PC150-151-152.



## A-TRAPP-ados en el semáforo del Golgi: la salida de vesículas exocíticas (o el secreto de la polaridad del crecimiento hifal)

**Miguel A. Peñalva**<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Biología Celular y Molecular, Ramiro de Maeztu 9, Madrid 28040, España

Los hongos filamentosos, tales como el organismo modelo *Aspergillus nidulans*, crecen casi exclusivamente por extensión apical. La velocidad de crecimiento es rápida, de alrededor de una micra por minuto, lo que implica la necesidad de que el aporte de lípidos y proteínas modificadores de la pared celular sea eficiente. Por tanto, el último paso de la ruta secretora, la salida de vesículas derivadas del aparato de Golgi con destino a la membrana plasmática, es crítico para mantener la extensión apical. En el denominado Golgi tardío o trans Golgi Network (TGN) confluyen la ruta secretora procedente del retículo endoplásmico y la ruta de reciclaje endocítico procedente de la membrana plasmática. La transición entre Golgi y post-Golgi está mediada por la GTPasa RAB11, denominada Ypt31 en *Saccharomyces cerevisiae*. Cuando las membranas del TGN maduran (= adquieren un nivel suficiente de RAB11), las cisternas del TGN se deflecan en vesículas de secreción. Por tanto, el verdadero semáforo de salida del TGN es el factor de intercambio del nucleótido de guanosina (GEF) que media el reclutamiento de la RAB. Mi charla se centrará en la caracterización genética, bioquímica y subcelular de TRAPP<sup>II</sup>, el complejo de > 2 MDA que regula la salida del TGN en los eucariotas.

Financing: Agencia Estatal de Investigación RTI2018-093344-B100 Comunidad de Madrid, consorcio INGEMICs, S2017/BMD-3691

### Patógenos bacterianos intracelulares: un desafío intelectual y metodológico

**Francisco García del Portillo<sup>1</sup>**

(1) Centro Nacional de Biotecnología (CNB)-CSIC, Laboratorio de Patógenos Bacterianos Intracelulares,, Darwin, 3, Madrid

La necesidad de controlar las enfermedades infecciosas ha intensificado el estudio de los mecanismos que los microorganismos patógenos utilizan para colonizar, sobrevivir y proliferar a pesar de la defensa inmunológica del hospedador. Nuestro laboratorio estudia patógenos bacterianos que durante la infección residen en el interior de la célula eucariota. En concreto, intentamos comprender el lenguaje molecular que permite a un patógeno como *Salmonella enterica* establecer un estado de persistencia intracelular en localizaciones donde existen receptores inmunes que reconocen patrones moleculares propios de bacterias. Algunas claves de esos mecanismos de persistencia, entendidos como de "engaño y atenuación de patogenicidad", incluyen la actuación de reguladores transcripcionales del patógeno que disminuyen la tasa de crecimiento, modificaciones estructurales en la envuelta y la sustitución en respuesta a señales del ambiente intracelular de proteínas esenciales que participan en la morfogénesis y crecimiento de la pared celular del patógeno. El reemplazo de componentes inherente al estilo de vida intracelular parece, al menos en el caso de *Salmonella*, explicar su enmascaramiento a receptores inmunes intracelulares. Estos mecanismos serán expuestos conjuntamente a ejemplos de cómo nuestra metodología de aislamiento y estudio de material de bacteria intracelular ha permitido descubrir fenómenos que no son reproducibles en medios de laboratorio. Los datos acumulados en nuestras más de tres décadas de estudio nos permiten en la actualidad apostar por un ataque selectivo al patógeno exclusivamente cuando se encuentra en el ambiente intracelular, eliminándose así daños colaterales a la microbiota endógena y beneficiosa del hospedador.

## Vacunas y Respuesta Inmunitaria

### Vacuna no-parenteral frente a infecciones por *Escherichia coli* Enterotoxigénica

**Melibe Berzosa Suñer**<sup>1</sup>, Alba Calvo<sup>1</sup>, Juan Manuel Irache<sup>2</sup>, Carlos Gamazo de la Rasilla<sup>1</sup>

(1) Universidad de Navarra, Departamento de Microbiología y Parasitología, Medicina, C/Irunlarrea 1, Pamplona, España

(2) Universidad de Navarra, Química y Tecnología farmacéutica, Farmacia, Irunlarrea 1, Pamplona, España

Las infecciones producidas por *Escherichia coli* Enterotoxigénica (ETEC) constituyen la causa principal de diarrea aguda en adultos y niños en países en vías de desarrollo, provocando unas 350.000 muertes al año en niños menores de 5 años. ETEC es, además, la principal causa de la diarrea del viajero. No existen vacunas específicas, por lo que la OMS ha priorizado su desarrollo. Nuestro objetivo es desarrollar una vacuna empleando vesículas de membrana externa conteniendo antígenos inmunodominantes. Para obtener el complejo antigénico más óptimo, con el mayor rendimiento, es necesario optimizar su proceso de producción. Para ello, vesículas de la cepa de referencia ETEC H10407 fueron recogidas durante el crecimiento normal de la bacteria (OMV) o tras tratamiento con calor del cultivo bacteriano (HT). Además, se estudió el efecto de la ultracentrifugación en el proceso de purificación. Se determinaron los siguientes parámetros: i) tamaño, mediante la técnica de dispersión electroforética de la luz, sistema Zetasizer ii) concentración mínima tóxica en células Raw 264.7, utilizando el sistema xCELLigence RTCA iii) capacidad para activar macrófagos, mediante la cuantificación de marcadores de diferenciación y de las citoquinas liberadas utilizando citometría de flujo. Los resultados indicaron que las vesículas "HT no ultracentrifugadas" presentaron el mayor rendimiento con un tamaño entre 50 y 200 nm y fueron capaces de activar los macrófagos a una concentración mínima no tóxica de 1 µg/mL. Además, resultados preliminares realizados en ratones BALB/c avalan su inmunogenicidad.

Financing: Este trabajo está financiado por el Instituto de Salud Carlos III, Fondo Europeo de Desarrollo Regional (ERDF) (PI19/00146).

## Mecanismos moleculares de la inmunidad celular mediada por septinas durante la infección por *Shigella flexneri*

**Damián Lobato Márquez**<sup>1</sup>, Jingwei Xu<sup>2</sup>, Gizem Özbaykal Güler<sup>1</sup>, Adaobi Ojiakor<sup>1</sup>, Martin Pilhofer<sup>2</sup>, Serge Mostowy<sup>1</sup>

(1) London School of Hygiene and Tropical Medicine, Biología de la Infección, Enfermedades Infecciosas, Keppel street, WC1E 7HT, Londres, Reino Unido

(2) Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Biología, Biología Molecular y Biofísica, Rämistrasse 101, Zurich, Suiza

*Shigella flexneri* es un enteropatógeno humano causante de 160 millones de infecciones al año, que invade las células epiteliales del colón y provoca la destrucción del tejido intestinal. *Shigella* replica en el citosol de la célula eucariota, donde puede polimerizar la actina celular formando colas de actina que permiten su diseminación a células colindantes. La célula infectada posee mecanismos de inmunidad celular, que incluyen la degradación por autofagia y la respuesta mediada por septinas. Las septinas son proteínas del citoesqueleto que se ensamblan en hetero-oligómeros y detectan curvatura de membrana a nivel micrométrico. Durante la infección por *Shigella*, las septinas restringen la movilidad por colas de actina encapsulando las bacterias en cajas de septina que son marcadas para la degradación por autofagia. Para entender cómo las septinas reconocen a *Shigella*, hemos desarrollado un sistema de reconstitución de cajas de septina in vitro usando complejos SEPT2-SEPT6-SEPT7 purificados. Usando este sistema in vitro, demostramos que las septinas reconocen el polo celular de bacterias en crecimiento. Además, hemos identificado una alfa-hélice en la SEPT6 que detecta curvatura de membrana y promueve la encapsulación de *Shigella*. Sorprendentemente, en ausencia de un lipopolisacárido completo, *Shigella* es encapsulada más eficazmente en cajas de septina. Combinando crio-tomografía electrónica con cajas de septina reconstituidas in vitro hemos podido visualizar como las septinas se ensamblan a modo de filamentos irregularmente distribuidos en la superficie bacteriana. En conjunto, estos datos demuestran cómo la célula hospedadora reconoce a *Shigella*, y como *Shigella* puede evitar la encapsulación en cajas de septina.

## La estimulación de células madre y progenitores hematopoyéticos vía dectina-1 promueve su diferenciación hacia macrófagos entrenados por un mecanismo indirecto

**Cristina Bono**<sup>1</sup>, Paula Guerrero<sup>1</sup>, Alberto Yáñez<sup>1</sup>, María Luisa Gil<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Instituto BiotecMed, Departamento de Microbiología y Ecología, Valencia, España

Aunque hace más de una década que se sabe que los TLRs promueven la diferenciación de las células madre y progenitores hematopoyéticos (HSPCs) hacia macrófagos, los mecanismos moleculares implicados todavía no están totalmente claros. Se ha demostrado que citocinas producidas por las HSPCs, como la IL-6, actúan de manera autocrina/paracrina para inducir el desarrollo mielóide, pero la señalización por TLRs en las propias HSPCs también podría iniciar directamente su diferenciación mielóide. En este estudio, utilizando un modelo in vitro de cocultivo de HSPCs de ratones WT y KO, hemos estudiado los posibles mecanismos directos o indirectos por los que TLR2 y dectina-1 inducen la diferenciación de HSPCs y confieren un fenotipo tolerizado o entrenado, respectivamente, a las células maduras producidas. Nuestro trabajo muestra que, aunque la estimulación de las HSPCs por TLR2 promueve la diferenciación hacia macrófagos de una manera directa, tanto la adquisición de fenotipo tolerizado como la diferenciación mediada por dectina-1 a macrófagos entrenados están producidas mayoritariamente por mecanismos indirectos. Así, tras la exposición de las HSPCs a agonistas de dectina-1 se producen factores solubles que actúan de manera paracrina para inducir la diferenciación mielóide e influenciar la función de macrófagos derivados de HSPCs no respondedoras o no expuestas a  $\beta$ -glucano. En conjunto, nuestros resultados muestran que la detección de patrones moleculares asociados a patógenos, incluyendo levaduras inactivadas de *Candida albicans*, por las HSPCs define su secretoma, el cual actúa de manera paracrina y tiene un impacto en la función de los macrófagos que se producen.

Financing: Proyecto RTI2018-093426-B-100 (MCIU España y FEDER). CB es predoctoral ACIF (Generalitat Valenciana). AYB es Ramón y Cajal (RYC-2017-22895).

### MTBVAC, una nueva vacuna contra la tuberculosis iniciando los ensayos clínicos de eficacia en países endémicos

**Carlos Martín<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Zaragoza, Microbiología, Facultad de Medicina

La única vacuna hoy en uso contra la tuberculosis es BCG, derivada de *M. bovis*. BCG este año cumple 100 años siendo su protección contra las formas respiratorias de la enfermedad muy variable. MTBVAC es un nuevo candidato a vacuna contra la tuberculosis, basado en una atenuación racional por ingeniería genética de un aislado clínico de *M. tuberculosis* mediante la inactivación del factor de transcripción *phoP* y del gen *fadD26*, ambos esenciales para la virulencia de *M. tuberculosis*. MTBVAC conserva todas las regiones genómicas ausentes en BCG y, por lo tanto, expresa un mayor repertorio de epítomos reconocidos por las células T en humanos, incluidos los principales antígenos inmunodominantes de la región RD1:ESAT6/CFP10, ausentes en BCG. Actualmente nuestra investigación en el laboratorio está enfocada a descifrar los mecanismos moleculares de atenuación y protección de MTBVAC, tratando de identificar posible correlación de protección que podrían ayudar a acelerar los ensayos de eficacia, así como al estudio de los efectos no-específicos de MTBVAC contra otras enfermedades. Después de casi 20 años de descubrimiento y desarrollo preclínico, MTBVAC es la única vacuna viva atenuada basada en el patógeno humano en ensayos clínicos como vacuna preventiva contra la tuberculosis pulmonar. MTBVAC cuenta como socio industrial responsable del desarrollo industrial y clínico con la Biofarmaceutica española BIOFABRI. MTBVAC está finalizando dos ensayos clínicos de definición de dosis de Fase 2a en recién nacidos y adolescentes en SATVI en Sudáfrica y preparando los estudios Fase3 de eficacia en comparación con BCG en recién nacidos en Sudáfrica.

Financing: Ministerio Español de Ciencia e Innovacion: RETOS RTI2018-097625-B-10: The European & Developing Countries Clinical Trials Partnership EDCTP2 "RIA-2016-V-1637 MTBVAC- NEWBORNS

## Precision vaccines for emerging antibiotic resistant infections

**Michael McConnell<sup>1</sup>**

(1) Instituto de Salud Carlos III, National Centre for Microbiology, Carretera Majadahonda Pozuelo km2, Majadahonda, Spain

The global emergence and dissemination of antibiotic resistant bacteria represents an important threat to public health. However, there are currently no vaccines available for the prevention of some of the most worrisome antibiotic resistant infections. Vaccines are a promising approach for reducing the morbidity caused by antibiotic resistant infections, but there are significant challenges to the successful development of effective vaccines. Antibiotic resistant infections often occur in the hospital setting in elderly patients with pre-existing comorbidities. Additionally, multiple bacterial species can produce certain infection types, complicating the identification of antigens for effective vaccine development. For these reasons, the application of a precision vaccine approach may be well-suited for immunizing against antibiotic-resistant infections. Precision vaccination aims to employ immunization strategies that take into account individual parameters such as age, sex, comorbidities, risk factors and genetic background for optimal vaccine development and administration. These considerations are used to guide multiple aspects of vaccine design including composition (e.g. antigens, adjuvants and formulations), dose and timing of vaccination. Given the complexity of antibiotic resistant infections, achieving precision vaccines will require the use of emerging technologies and computational methods for vaccine design such as comparative genomics, transcriptomics, proteomics and immunoinformatics. In addition, vaccine technologies will need to be developed in order to facilitate precision vaccines for antibiotic resistant infections including antigens platforms, novel delivery systems and new adjuvants.

Financing: Multiple grants from the Instituto de Salud Carlos III.



### Desarrollo de una vacuna de ADN frente a la infección por el virus SARS-CoV-2.

**Vicente Larraga**<sup>1</sup>, Pedro Alcolea alcolea<sup>1</sup>, Jaime Larraga Criado<sup>1</sup>, Francisco Loayza<sup>1</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Biología celular y Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, c/Ramiro de Maeztu 9, Madrid, España

El impacto en la salud y en la economía de la pandemia Covid-19 ha llevado al rápido desarrollo de varias vacunas frente a su agente etiológico, el virus SARS-CoV-2. Estas vacunas están basadas fundamentalmente en la proteína de la corona del virus: spike (S). Un antígeno con gran tendencia a mutar, lo que hace que constantemente aparezcan distintas cepas del mismo con características variables. Nuestro equipo de trabajo ha desarrollado una vacuna de ADN sintético que inicialmente ha producido en la infección experimental, protecciones superiores al 50% en ratones transgénicos para el receptor de la enzima convertidora de angiotensina humana (KhACE2). Para mejorar los porcentajes de protección frente a la infección se han medido los efectos en la misma de la vía de administración: intramuscular, intranasal e intradérmica. Así como, la dosis introducida y la formulación, mediante la adición al plásmido inicial de moléculas cargadas positivamente que aumenten su captación por las células del huésped mamífero. Se han probado también otras proteínas más estables del virus, para obtener una vacuna efectiva frente a diversas cepas del mismo.

Financing: CCDTI, MICINN, Consejo Superior de Investigaciones Científicas

## Resistencias a antimicrobianos

### Un nuevo dispositivo de microfluídica para la formación y evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de biopelículas

Núria Blanco-Cabra<sup>1</sup>, María José López-Martínez<sup>2,3,4</sup>, **Betsy Verónica Arévalo-Jaimes**<sup>1</sup>, María Teresa Martín-Gómez<sup>5</sup>, Josep Samitier<sup>2,3,4</sup>, Eduard Torrents<sup>1,6</sup>

(1) Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Bacterial Infections and Antimicrobial Therapies Group, Baldori Reixac 15-21, 08028, Barcelona, España

(2) Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Nanobioengineering Group, Baldori Reixac 15-21, 08028, Barcelona, España

(3) Networking Biomedical Research Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Monforte de Lemos 3-5, Pabellón 11, 28029, Madrid, España

(4) University of Barcelona, Department of Electronics and Biomedical Engineering, Martí i Franquès 1, 08028, Barcelona, España

(5) Hospital Universitari Vall d'Hebron, Microbiology Department, Passeig de la Vall d'Hebron, 119, 08035, Barcelona, España

(6) University of Barcelona, Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, Avinguda Diagonal, 643, 08028, Barcelona, España

Actualmente nos encontramos con tres circunstancias de causa mayor que amenazan el manejo de las infecciones bacterianas: el aumento de la resistencia antimicrobiana, la expansión de las infecciones crónicas asociadas a biopelículas y la falta de tratamientos eficaces. Adicionalmente, aún no existen test rápidos y de fácil uso que permitan evaluar la susceptibilidad de las biopelículas a los medicamentos y desarrollar nuevas estrategias terapéuticas. El BiofilmChip es un dispositivo microfluídico que permite la cuantificación de la biomasa de una biopelícula mediante el uso de Espectroscopia de Impedancia Eléctrica (EIS por sus siglas en inglés). Esta nueva herramienta permite monitorizar el proceso de formación de biopelículas mono o polimicrobianas en un sistema de flujo continuo que no requiere el uso de Microscopia Confocal. A su vez, cambios en la biomasa asociados a un tratamiento antibiótico pueden ser detectados, permitiendo además la evaluación de su respectiva susceptibilidad antimicrobiana. La información obtenida mediante el uso de este dispositivo podría ser extremadamente valiosa en contextos clínicos, especialmente en el momento de escoger una opción terapéutica eficaz para el paciente.

Financing: MINECO/FEDER (RTI2018-098573-B-100), CERCA program, Generalitat de Catalunya (2017 SGR1079), CIBER Actions and La Caixa Foundation (CAIXAIMPULSE).

### Hoja de ruta del resistoma humano: caracterización de genes de resistencia a antibióticos y su dispersión en ambientes prístinos.

**Lucia Maestre Carballa**<sup>1</sup>, Vicente Navarro López<sup>2</sup>, Manuel Martínez García<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alicante, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Alicante, Pabellón 12, Laboratorio de Microbiología C/San Vicente s/n 03080 San Vicente del Raspeig, Alicante (Spain), Alicante, España

(2) Hospital Universitario Vinalopó, Unidad de enfermedades infecciosas y microbiología, c/ Tónico Sansano Mora, 14. 03293 Elche, Alicante, Elche, España

En respuesta a la actual crisis de los antibióticos, los esfuerzos se han centrado en entender mejor los resistomas (conjunto de genes de resistencia a antibióticos presentes en un lugar (GRA)) y la dispersión de éstos en la naturaleza. Una caracterización del resistoma del cuerpo humano puede ser clave para comprender y paliar este problema de salud global. En este estudio se analizaron 771 resistomas de cinco partes del cuerpo de sujetos sanos del Proyecto del Microbioma Humano (PMH) y caracterizamos su dispersión en 272 ambientes prístinos, donde, a priori, la influencia del hombre es baja o nula. En este estudio 40,575 proteínas de las 9.1E7 analizadas fueron clasificadas como GRA. La abundancia de GRA varió en función de la parte del cuerpo y sujeto estudiados (ej. orificios nasales  $2.18 \pm 2.64$  GRA/Mb y sistema digestivo  $0.34 \pm 0.34$  GRA/Mb). La fluoroquinolona fue la familia de antibióticos que más GRA presentaba, seguido de tetraciclina y macrólidos-lincosamidas-estreptograminas. Únicamente 34 contigs provenientes de ambientes prístinos (76 Gb analizados) presentaron genes en común con el PMH. La gran mayoría fueron housekeeping genes con mutaciones que les confería resistencia (73%), un parte importante fueron de contaminantes exógenos (24%) y fue muy poco frecuente encontrar GRA del PMH en bacterias autóctonas de ambientes prístinos. Para concluir, el presente análisis del resistoma humano podrá emplearse como base para otros estudios de larga duración. Según los datos obtenidos, la dispersión de GRA del HMP es muy poco frecuente en ambientes prístinos, lo que resulta esperanzador.

Financing: Universidad de Alicante (Vicerrectorado de Investigación) ref. UAIND18-05 Hospital Elche Crevillente Salud SL ref. HOSPITALECLHE1-18Y

## Caracterización de las Dinámicas Evolutivas de los Cassettes de Resistencia en Integrones

**Alberto Hipólito**<sup>1</sup>, Filipa Trigo da Roza<sup>1</sup>, Lucía García-Pastor<sup>1</sup>, Paula Blanco<sup>1</sup>, Javier De la Fuente<sup>3</sup>, Ester Vergara<sup>1</sup>, Thomas Jové<sup>2</sup>, Álvaro San Millán<sup>3</sup>, José Antonio Escudero<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Sanidad Animal, Veterinaria, Av. Puerta de Hierro s/n, Madrid, España

(2) Université de Limoges, Centre de Biologie et Recherche en Santé (CBRS), Rue du Pr Bernard Descottes 87, Limoges, France

(3) Centro Nacional de Biotecnología-CSIC,, Calle Darwin, 3, Madrid, España

Los integrones son una de las principales causas de multirresistencias en bacterias Gram negativas. Estas plataformas genéticas capturan, almacenan y reordenan más de 130 cassettes que codifican genes de resistencia contra 12 familias de antibióticos. El éxito evolutivo de cada cassette es variable así como su prevalencia en aislados clínicos. En este trabajo queremos cuantificar las fuerzas que rigen el éxito evolutivo de todos los cassettes de resistencia. Consideramos que estas fuerzas son: el perfil de resistencia, el coste biológico y el impacto en la expresión de la colección de cassettes posterior. Hemos clonado cada cassette en un plásmido que simula su entorno genético natural: la primera posición de un integrón de clase 1. La caracterización del perfil de resistencias frente a diversos antibióticos muestra especificidad por familias de genes pero con variaciones entre sus miembros. Asimismo, observamos grandes diferencias en coste biológico entre cassettes; siendo algunos incluso beneficiosos para la bacteria en ausencia de presión selectiva. Esto sugiere un posible rol metabólico secundario con valor adaptativo. Adicionalmente, el estudio del efecto de cada cassette en la expresión de la colección muestra una variación de más de 100x cassette-dependiente, reprimiendo o intensificando la expresión del resto de la colección de cassettes. Estos hechos podrían explicar fenómenos de co-selección durante el transcurso de tratamientos antibióticos. Nuestros datos aportan una visión general y comparable del valor adaptativo de los integrones en el entorno clínico y nativo, siendo de gran utilidad para diseñar estrategias que limiten la propagación de las multirresistencias.

Financing: Programa Atracción de Talento de la Comunidad de Madrid. European Research Council Starting Grant. Ministerio de Economía, Industria y Competitividad. Programa Excelencia.

### Micosis en la era Covid-19

**Guillermo Quindós<sup>1</sup>**

(1) Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Inmunología, Microbiología y Parasitología, Medicina y Enfermería, Barrio de Sarriena s/n, Leioa, España

Los pacientes con COVID-19 grave pueden sufrir infecciones por otros patógenos, en el momento del diagnóstico -coinfecciones- o después -sobreinfecciones-. Estos pacientes muestran concentraciones elevadas de citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-2, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa) y antiinflamatorias (IL-4 e IL-10), con menor expresión de interferón-gama y un número más bajo de linfocitos CD4 y CD8. Esta respuesta inmunitaria anómala junto con el tratamiento farmacológico empleado para mitigar sus daños, aumenta el riesgo de coinfecciones y sobreinfecciones fúngicas, como la aspergilosis pulmonar invasora, la candidiasis invasora o la neumonía por *Pneumocystis jirovecii*. Además, se han descrito mucormicosis en pacientes tratados con corticoides, sobre todo en la India. Se estima que la prevalencia conjunta de coinfecciones es del 20% y la de sobreinfecciones del 25% (4% de coinfecciones y 8% de superinfecciones fúngicas). Estos pacientes tienen mayores probabilidades de morir que los que solo padecen COVID-19, con una necesidad mayor de ventilación mecánica y una estancia media hospitalaria más prolongada. A pesar de la gravedad de la infección causada por el SARS-CoV-2, el diagnóstico de micosis invasoras es bajo, probablemente por las escasas broncoscopias y necropsias que se realizan debido al alto riesgo de producción de aerosoles y de contagios potenciales. Sin embargo, la detección de biomarcadores fúngicos, como galactomanano, betaglucano o anticuerpos antimicelio de *Candida*, en sangre, líquido cefalorraquídeo y otros fluidos habitualmente estériles, o en muestras respiratorias, con la excepción de la colonización de estas por *Candida*, debería aconsejar la instauración de un tratamiento antifúngico personalizado y temprano.

Financing: Consejería de Educación, Universidades e Investigación of Gobierno Vasco-Eusko Jauriaritza [GIC15/78 IT-990-16]

## Resistencia a las Sulfamidas: un problema surgido en el siglo XX originado en el periodo cámbrico

**Jordi Barbé**<sup>1</sup>, Miquel Sánchez-Osuna<sup>1</sup>, Pilar Cortés<sup>1</sup>, Ivan Erill<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Autònoma de Barcelona, Genètica i Microbiologia, Biociències, Bellaterra, Cerdanyola del Vallés 08290, España

(2) University of Maryland, Department of Biological Sciences, Maryland, USA

La resistencia a los antibióticos y a los antibacterianos sintéticos puede adquirirse por mutaciones o captación de genes mediante transferencia lateral. Está demostrado que la resistencia a los antibióticos surgió hace millones de años en bacterias productoras de éstos o en sus competidoras. Sin embargo, no se conoce el origen de la resistencia a determinados antibacterianos sintéticos como las sulfamidas que inhiben el enzima dihidropteroato sintetasa (DHPS) que impide la síntesis del ácido paraaminobenzoico en las células bacterianas y que está codificada en el gen folP. A principios de los años 70, se identificaron varios genes sul que codifican DHPS alternativas resistentes a las sulfamidas y transportados por elementos genéticos móviles. Dado que estos productos no son de origen natural sino que se diseñaron in vitro a principios del siglo XX, su mecanismo de resistencia no puede atribuirse a ningún microorganismo productor. En este contexto, y para elucidar el origen de los genes sul, se abordó un análisis filogenético de estos genes y de los genes folP de diversos grupos bacterianos. Los datos obtenidos demuestran que los genes sul provienen de la movilización hace más de 500 millones de años de genes folP de miembros de las familias Rhodobiaceae y Leptospiraceae y cuyo producto era intrínsecamente resistente a las sulfamidas. Estos resultados refuerzan la idea que en el "pangenoma" bacteriano se encuentran genes de resistencia a antibióticos así como genes de resistencia a antibacterianos sintéticos mucho antes de que se hayan diseñado y cuya diseminación emerge tras su introducción terapéutica.



### La DNA Topoisomerasa I como diana de antimicrobianos

**María José Ferrándiz Avellano**<sup>1</sup>, Antonio Javier Martín Galiano<sup>1</sup>, María Teresa García Esteban<sup>1</sup>, Pablo Hernández Valenzuela<sup>2</sup>, Adela González de la Campa<sup>1,3</sup>

(1) Instituto de Salud Carlos III, Unidad de Genética Bacteriana, Centro Nacional de Microbiología, Carretera de Majadahonda a Pozuelo Km 2, Majadahonda, España

(2) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Biología Celular y Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, C/ Ramiro de Maeztu 9, Madrid, España

(3) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Presidencia, Madrid, España

Los procesos celulares que necesitan el desenrollamiento de la doble hélice de DNA, como transcripción, replicación y recombinación, requieren del mantenimiento de un nivel adecuado de superenrollamiento del DNA. Éste se consigue gracias a la actividad de las topoisomerasas. En el patógeno humano *Streptococcus pneumoniae* las enzimas encargadas de este mantenimiento son la girasa, que introduce superenrollamiento negativo y la topoisomerasa I (topoI) que relaja el DNA. Ambas son dianas de antibióticos, la girasa de las fluoroquinolonas y la topoI de la seconeolitsina, compuesto que inhibe el crecimiento de bacterias que poseen una única topoisomerasa de tipo I, como *S. pneumoniae* y *Mycobacterium tuberculosis*. En neumococo, topoI es la principal responsable de la regulación homeostática del nivel de superenrollamiento. Los cambios topológicos generados bien por relajación o por incremento del nivel de superenrollamiento desencadenan respuestas transcripcionales globales que ponen de manifiesto la organización del genoma en dominios topológicos. Atendiendo a la respuesta transcripcional y al contenido en AT, los genes se clasifican en las siguientes categorías: regulados por superenrollamiento (con regulación positiva y con regulación negativa) y no regulados (con posición variable, con posición conservada y ricos en AT). Además, topoI desempeña un papel esencial en la transcripción del DNA. En *S. pneumoniae*, hemos demostrado la interacción de topoI con la RNA polimerasa in vitro y en ensayos in vivo de inmunoprecipitación de cromatina hemos determinado que ambas enzimas colocalizan en la región promotora de los genes. Todos estos resultados apuntan a topoI como una nueva diana de antimicrobianos.

Financing: Financiación: Trabajo financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, BIO 2017-82951-R.



## Seguridad alimentaria

### Evaluación del crecimiento de *Staphylococcus aureus* y producción de enterotoxina en un modelo de jamón curado reducido en nitrito

Juan Carlos Pulido Pacheco<sup>1</sup>, Ana Dominguez Durante<sup>1</sup>, Irene Martín Tornero<sup>1</sup>, Francisco Manuel Gómez Polo<sup>1</sup>, María Elena Bermudez Polo<sup>1</sup>, Juan José Córdoba Ramos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Higiene y Seguridad Alimentaria, Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos (IProCar). Facultad de Veterinaria, Avenida de las Ciencias, s/n. 10003, Cáceres, España

En los derivados cárnicos curado-madurados como el jamón curado se utilizan nitritos. A pesar de la demostrada eficacia antimicrobiana y tecnológica de este aditivo la tendencia actual es a su eliminación. Es necesario evaluar la repercusión de la eliminación de nitritos en el crecimiento de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*. En este estudio se ha evaluado el crecimiento y la producción de toxina de *S. aureus* productor de enterotoxina A en un sistema modelo con distintas concentraciones de nitrito sódico, cloruro sódico y actividad de agua (aw) que simula las condiciones de maduración en el músculo Bíceps femoris del jamón curado durante el proceso de elaboración. Se han evaluado dos diferentes condiciones de temperatura 12°C (como temperatura de abuso en las primeras fases del procesado de jamón curado) y 22°C (temperatura de secado-maduración en secaderos y bodegas). A 12°C no hubo desarrollo de *S. aureus* o fue inferior a un ciclo logarítmico y en ningún caso hubo producción de enterotoxina. Sin embargo, a 22°C se observó un incremento significativo de esta bacteria patógena y se detectó producción de enterotoxina, especialmente en las condiciones en las que no se utilizó nitrito sódico. Una eventual reducción/eliminación de nitritos en el procesado del jamón curado requiere incrementar el tiempo de maduración a temperatura inferior a 12°C hasta que haya descendido la aw por debajo de valores que inhiban el crecimiento de *S. aureus*.

Financing: Trabajo financiado por proyecto INIA RTA-2017-00027-C03-03. I. Martín tiene beca FPU (16/05303) y J.C. Pulido contrato SEXPE Garantía Juvenil (TE-0053-19)

### Diferencias entre *Salmonella seftenberg* y *Salmonella enteritidis* en su capacidad de adaptarse al estrés durante tratamientos térmicos dinámicos

Leonidas Georgalis<sup>1</sup>, Pablo Fernández Escámez<sup>1</sup>, Alberto P. Garre<sup>2</sup>

(1) Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ingeniería Agronómica, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Paseo Alfonso XIII, 48, 30203, Cartagena, Región de Murcia, España

(2) Wageningen University; Research, Food Microbiology, P.O. Box 17, 6700 AA, Wageningen, the Netherlands

Las células microbianas son sistemas dinámicos capaces de responder a cambios en su entorno. Esto es de gran relevancia para la seguridad alimentaria, algunos de estos cambios fisiológicos pueden incrementar la resistencia de las células al estrés. Por lo tanto, un tratamiento que en principio inactivaría a una población microbiana, puede dejar de ser efectivo si ésta hubiera desarrollado previamente adaptación. Por ejemplo, varios estudios han demostrado que tratamientos térmicos similares a los industriales pueden inducir adaptación al estrés en células microbianas si el calentamiento no es lo suficientemente rápido. Este estudio evaluó la adaptación al estrés térmico de *Salmonella* spp. y si ésta varía entre serovares. Para ello, se realizaron tratamientos térmicos isotermos y dinámicos utilizando un termoresistómetro Mastia. Bajo condiciones isotermas, *S. seftenberg* demostró una resistencia térmica ( $D_{60}=3.9\pm 0.3\text{min}$ ) mucho mayor que la de *S. enteritidis* ( $D_{60}=0.07\pm 0.005\text{min}$ ). Bajo condiciones dinámicas, este serovar no mostró adaptación en ninguno de los experimentos. *S. enteritidis* mostró un comportamiento diferente. Mientras que para perfiles con calentamiento rápido ( $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) prácticamente no hubo diferencia entre las predicciones en base a datos isotermos y las observaciones, en los experimentos con calentamiento más lento el número de supervivientes fue entre 2 y 3 log UFC/g mayor que el esperado. Este resultado es consistente con la hipótesis de que *S. enteritidis*, a diferencia de *S. seftenberg*, es capaz de desarrollar adaptación durante la fase de calentamiento del tratamiento dinámico, que puede ser relevante para el análisis del riesgo microbiológico.

## Dinámica del gen **BLACMY-2** en una granja comercial de producción de huevos

**Irene Aldea Ramos**<sup>1</sup>, Alicia Gibello Prieto<sup>2</sup>, Marta Hernández Pérez<sup>3</sup>, Miguel Ángel Moreno Romo<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria, Veterinaria, Avda Puerta de Hierro s/n, Madrid, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad Animal, Veterinaria, Avda Puerta de Hierro s/n, Madrid, España

(3) Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), Laboratorio de Biología Molecular, Ctra. Burgos km.119, Valladolid, España

En una colección de 137 aislados de *Escherichia coli* obtenidos en una granja comercial de producción de huevos por siembra de muestras fecales en agar MacConkey con cefotaxima (1 mg/L) se ha identificado la presencia de diversos fenotipos de resistencia frente a antibióticos betaláctamicos. El estudio incluyó el seguimiento de cuatro lotes comerciales desde las pollitas de un día hasta gallinas ponedoras de 23-24 semanas de edad. El análisis bioinformático de los datos de secuenciación del genoma completo de una selección de 43 aislados ha permitido constatar la persistencia del gen *blacmy-2* en la granja durante al menos 16 meses, generalmente localizado en un plásmido de tipo IncK2 (detectado en un clon de aislados ST 4243) y con menor frecuencia en un plásmido IncI1-12 (detectado en otro clon de aislados ST4038). La detección del gen *blacmy-2* en al menos un muestreo en cada uno de los cuatro lotes de producción investigados y su presencia en dos clones y en un plásmido diferente en cada uno indican que su persistencia en esta granja está mediada fundamentalmente por dos binomios clon-plásmido y no ligada a presión selectiva por el uso de antibióticos en la granja. Además, su detección en un aislado procedente de pollitas de un día en el tercer lote indica una entrada adicional en la granja a través de esta vía. Por último, esta es la primera vez que se detecta el gen *blacmy-2* en gallinas ponedoras, pollitas en crecimiento y pollitas de un día en España.

Financing: - One Health European Joint Programme- Ministerio de Economía y Competitividad (RTA2014-00012-C03-03)

### Macroalgas marinas y bacterias epífitas como potenciales bioconservantes naturales

**Teresa Aymerich<sup>1</sup>**, Susana Rubiño<sup>1</sup>, César Peteiro<sup>2</sup>, Maria Hortós<sup>1</sup>

(1) IRTA. Programa de Funcionalidad y Seguridad Alimentaria

(2) IEO (CSIC). Centro Oceanográfico de Santander, Unidad de Cultivos Marinos, El Bocal, Planta de Algas

La resistencia a antibióticos es actualmente un tema preocupante a nivel mundial y, en consecuencia, la investigación sobre nuevas fuentes de antimicrobianos en nuevos hábitats es de gran relevancia. El mundo marino ofrece una gran diversidad de especies que habitan en un ecosistema muy competitivo y agreste que, a efecto de asegurar su supervivencia frente a la alteración de los factores medioambientales y los ataques de distintas especies, induce la producción y presencia en los organismos marinos, de un amplio abanico de compuestos con estructuras químicas diferentes a las observadas en el hábitat terrestre. España ofrece en sus costas una gran diversidad de macroalgas marinas que, además de ser una reconocida fuente de hidrocoloides alimentarios, presentan un potencial que aún no ha sido explorado en profundidad. Las macroalgas marinas son ricas en polifenoles y compuestos con potencial efecto antimicrobiano que podrían ser de utilidad como bioconservantes. Su aplicación en la industria alimentaria, como antioxidantes o como antimicrobianos para combatir patógenos alimentarios o agentes deteriorantes de los alimentos, permitiría mejorar la calidad y seguridad de los alimentos. Además de generar productos más sostenibles con una vida útil más larga, que a su vez favorecería la minimización del desperdicio alimentario. Esta ponencia presenta el potencial antimicrobiano de diferentes extractos obtenidos a partir de macroalgas marinas pardas, rojas y verdes procedentes de las costas atlánticas y de la microbiota asociada a su superficie, así como el resultado de potenciales aplicaciones en la industria alimentaria.

## Mecanismos de acción de agentes utilizados para el biocontrol de ocratoxina A en derivados cárnicos curado-madurados

Josué Delgado Perón<sup>1</sup>, Micaela Álvarez Rubio<sup>1</sup>, Eva Cebrián Cabezón<sup>1</sup>, Elia Roncero Benavente<sup>1</sup>, Mar Rodríguez Jovita<sup>1</sup>, María Jesús Andrade Gracia<sup>1</sup>, Miguel Ángel Asensio Pérez<sup>1</sup>, **Félix Núñez Breña<sup>1</sup>**

(1) Higiene y Seguridad Alimentaria, Instituto Universitario de la Carne y Productos Cárnicos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura, Cáceres

Los mohos contribuyen al desarrollo de las características sensoriales de los derivados cárnicos curado-madurados, pero pueden producir micotoxinas. Según la EFSA, la carne y sus derivados están entre los alimentos principales responsables de la ingesta de ocratoxina A (OTA) en Europa. La utilización de cultivos protectores es una estrategia prometedora para controlar este peligro. *Penicillium chrysogenum* CECT 20922 y de *Debaryomyces hansenii* FHSCC Dh253H son eficaces reduciendo la OTA en jamón y embutidos. Sus mecanismos de acción se han investigado mediante estudios de competición, actividad metabólica, expresión génica y proteómica comparativa. La actividad de *P. chrysogenum* puede atribuirse a la competencia por nutrientes, la alteración de la integridad de la pared celular (CWI) y la represión de genes implicados en la síntesis de OTA. Además, esta cepa produce la proteína PgAFP, que provoca en mohos el descenso de proteínas de la CWI, reduce su actividad metabólica y aumenta el estrés oxidativo, conduciendo a la muerte celular. El efecto de *D. hansenii* se debe a la competición por sustratos y a la producción de compuestos volátiles y solubles, provocando la represión de genes implicados en la síntesis de OTA y la disminución de proteínas de la CWI y de las relacionadas con la síntesis de metabolitos secundarios. Las cepas evaluadas reducen el crecimiento de mohos toxigénicos y la producción de micotoxinas, afectando al metabolismo energético, a la integridad de la pared y a la expresión génica y su utilización puede ser eficaz para minimizar el peligro de OTA en derivados cárnicos.

Financing: Trabajo financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, la Junta de Extremadura y FEDER (AGL2016-80209-P, GR18056)

### Control de *Listeria monocytogenes* en alimentos madurados listos para el consumo

Irene Martín Tornero<sup>1</sup>, Alicia Rodríguez Jiménez<sup>1</sup>, Alberto Alía Muñoz<sup>1</sup>, Francisco Gómez Polo<sup>1</sup>, Juan Carlos Pulido Pacheco<sup>1</sup>, Elena Bermúdez Polo<sup>1</sup>, **Juan José Córdoba Ramos<sup>1</sup>**

(1) Higiene y Seguridad Alimentaria, Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos (IProCar), Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura, Avda. de las Ciencias s/n, 10003-Cáceres, España

*Listeria monocytogenes* es un patógeno preocupante en alimentos madurados listos para el consumo (RTE) como derivados cárnicos curado-madurados y quesos madurados, debido a su gran ubicuidad y adaptación a las condiciones de procesado de estos productos. El control de *L. monocytogenes* en alimentos madurados RTE requiere desarrollo de métodos para detectar fuentes de contaminación de este patógeno, además de la utilización de procedimientos combinados para su eliminación. El reciente desarrollo de métodos de PCR en tiempo real múltiple (qPCR) para el serotipado de *L. monocytogenes* combinado con la caracterización de pulstotipos mediante el análisis de restricción del ADN en campos pulsados permite diferenciar cepas en productos, equipos y utensilios durante el procesado, identificando así de forma sensible y rápida fuentes de contaminación de este patógeno, lo cual resulta de gran utilidad para la adopción de medidas preventivas o correctoras. En la eliminación de este patógeno en alimentos madurados RTE se han desarrollado protocolos eficaces de tecnologías no térmicas basadas en la utilización de altas presiones y electrones acelerados. Además, la utilización combinada de la reducción de actividad de agua y/o pH durante el procesado de productos madurados RTE y de bacterias lácticas seleccionadas provocan reducciones de 2-3 ciclos logarítmicos de esta bacteria patógena. Estos métodos reducen además la expresión de los genes de virulencia de *L. monocytogenes* cuantificada por qPCR. La utilización conjunta de medidas preventivas y protocolos de reducción/eliminación de *L. monocytogenes* en alimentos madurados RTE son eficaces para conseguir en estos productos el objetivo de seguridad alimentaria.

Financing: Trabajo financiado por proyectos INIA RTA-2013-00070-C03-03, INIA RTA-2017-00027-C03-03 y Junta de Extremadura IB16149.

# **SIMPOSIA**

## **Microbiología Ambiental**



## Microorganismos en medios acuáticos

### Modelo de trucha arcoíris gnotobiótico para la identificación de bacterias que protegen frente a la infección de *Flavobacterium columnare*

David Pérez Pascual<sup>1</sup>, Bianca Audrain<sup>1</sup>, Rafael Patiño-Navarrete<sup>1</sup>, Dimitri Rigaudeau<sup>2</sup>, Jean-Marc Ghigo<sup>1</sup>, Joaquin Bernal Bayard<sup>1</sup>

(1) Institut Pasteur, Genetic of Biofilms Unit, Microbiology Department, 25-28 Rue du Docteur Roux, 75015, Paris, Francia

(2) Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement, Experimental Unit of Rodents and fish, Domaine de Vilvert, 234 building, 78350, Jouy-en-Josas, Francia

El uso de probióticos para el control de infecciones en acuicultura responde a la creciente demanda de un uso racional de los antibióticos. Actualmente, la identificación de probióticos se realiza en condiciones microbiológicamente poco controladas, dificultades pueden solventarse parcialmente utilizando modelos gnotobióticos que poseen una microbiota conocida. En nuestro estudio hemos desarrollado un nuevo modelo gnotobiótico de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), para analizar las interacciones hospedador-microbiota-patógeno. Si bien las larvas axénicas criadas en condiciones estériles no mostraron ninguna diferencia significativa en el crecimiento y desarrollo frente a las convencionales, estas se mostraron mucho más sensibles a la infección por *Flavobacterium columnare*, un patógeno común de peces de agua dulce. Con el fin de analizar el rol de la microbiota en la protección contra la infección, las larvas axénicas fueron expuestas a un consorcio bacteriano formado por 11 especies aisladas de la microbiota convencional de la trucha que confirió protección total contra la infección. Entre estos microorganismos, identificamos una cepa comensal, identificada como *Flavobacterium* sp. con actividad antibacteriana contra *F. columnare* in vitro, que confería protección total contra la infección de manera individual. Estos resultados demuestran la eficacia de nuestro modelo de trucha arcoíris gnotobiótico en la identificación de microorganismos con potencial probiótico frente a las infecciones por *F. columnare*. Por tanto, este estudio establece un modelo gnotobiótico ecológicamente relevante para el estudio de las interacciones hospedador-patógeno y la resistencia a la colonización en acuicultura.

## **Pesca submarina: buscando virus de ARN a 4.000 m de profundidad**

**Marina Vila-Nistal<sup>1</sup>**, Lucía Maestre-Carballa<sup>1</sup>, Francisco Martínez-Hernández<sup>1</sup>, Manuel Martínez-García<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alicante, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Facultad de Ciencias, Carretera San Vicente del Raspeig s/n, San Vicente del Raspeig, Alicante, Spain

Los virus son de los organismos más abundantes y diversos del planeta. En ambientes acuáticos estos contribuyen al ciclo del carbono al influir sobre la composición, abundancia y evolución del plancton. Normalmente los estudios se centran en los virus de DNA, ya que el menor genoma y mayor variabilidad de los virus de ARN añaden complejidad a su estudio. Esto ha dejado incógnitas sin resolver sobre su distribución y la composición de sus poblaciones, pese a que estudios recientes sugieren que la abundancia de los virus de ARN es incluso mayor a la de los de ADN. Para profundizar en el conocimiento de la composición de las comunidades acuáticas virales de ARN, hemos llevado a cabo un estudio extensivo en el que se muestreó agua en diferentes puntos de la costa de las Islas Canarias hasta una profundidad de 4.000 m, se calculó la cantidad de virus de ARN en comparación con los de ADN obtenidos y se secuenció el metaviroma de ARN. A continuación se hizo una búsqueda por HMM con el gen de la ARN polimerasa dependiente de ARN como marcador para identificar los genomas de virus de ARN. Gracias a esto hemos logrado identificar nuevas secuencias que pertenecen a virus de ARN aún sin clasificar y descubrir que la composición de las poblaciones virales es muy parecida en todas las muestras. Además hemos visto que el número de virus de ARN hallados es independiente de los parámetros de producción primaria y de la profundidad de la muestra.

Financing: Generalitat Valenciana (ACIF-2020)

### Efecto de la temperatura en la microbiología de biofilms en surgencias hidrotermales de la región de El Tatio (Atacama, Chile)

Laura Sánchez-García<sup>1</sup>, María Ángeles Lezcano Vega<sup>1</sup>, Víctor Parro García<sup>1</sup>, Valentine Megevand<sup>2</sup>, Mercedes Moreno Paz<sup>1</sup>, Daniel Carrizo<sup>1</sup>

(1) Centro de Astrobiología (INTA-CSIC), Evolución Molecular, Carretera de Ajalvir km 4, 28850 (Torrejón de Ardoz), Madrid, España

(2) École normale supérieure de Lyon, Géosciences, Lyon, Francia

La ecología microbiana en ambientes hidrotermales está muy condicionada por factores como elevadas temperaturas, alto contenido en elementos como el azufre, pH extremos o, como en el caso de la elevada región de El Tatio (4290 masl), en el altiplano chileno, elevados niveles de radiación UV. En este ambiente extremo, investigamos la composición microbiológica (molecular, taxonómica y metabólica) de tapetes microbianos en surgencias hidrotermales a lo largo de un gradiente de temperatura (29.7-72.0 °C). Primero, extraemos la materia orgánica soluble en disolventes orgánicos y, tras hidrolizarla para romper enlaces éster, la separamos en tres fracciones de distinta polaridad (hidrocarburos, ácidos grasos y alcoholes-esteros), que analizamos por GC-MS (biomarcadores lipídicos) y por GC-IRMS (análisis isotópico específico de compuestos). Esta doble caracterización molecular-isotópica de los compuestos lipídicos de membrana nos permite 1) identificar fuentes biológicas abundantes en los biofilms (e.g. Cyanobacteria, Chloroflexi, algas, purple sulfur bacteria, green sulfur bacteria); 2) obtener información ambiental (e.g. redox, temperatura, pH o nivel de "frescura"); 3) identificar las principales vías de fijación de carbono inorgánico (i.e. autotrofia). Segundo, extraemos y secuenciamos el ADN (genes ARNr 16S y 18S) de los biofilms para 4) caracterizar las muestras a nivel filogenético e identificar diferencias composicionales entre ellas en función de la temperatura. Finalmente, realizamos inmunoensayos tipo sándwich con anticuerpos específicos frente a células y/o biopolímeros procedentes de microorganismos de diversos ambientes extremos. Así, 5) recabamos información acerca de procesos metabólicos relacionados con ciclos del nitrógeno, hierro, azufre o perclorato, así como estrés hídrico u oxidativo.

## La vigilancia del SARS-CoV-2 en aguas residuales ha venido para quedarse

**Albert Bosch**<sup>1</sup>, Ana Allende<sup>2</sup>, Jesús López Romalde<sup>3</sup>, Susana Guix<sup>1</sup>, Gloria Sánchez<sup>4</sup>, Rosa M Pintó<sup>1</sup>

(1) Universidad de Barcelona, Genética, Microbiología y Estadística, Biología, Diagonal 643, Barcelona, España

(2) Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), Microbiología y Calidad de Frutas y Hortalizas, Campus Universitario de Espinardo. Espinardo, Murcia, España

(3) Universidad de Santiago de Compostela, Microbiología y Parasitología, Biología, Campus Vida s/n, Santiago de Compostela, España

(4) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), VISAFELAB, Catedrático Agustín Escardino 7, Paterna, España

La excreción fecal del SARS-CoV-2 permite llevar a cabo una vigilancia de la circulación del virus entre la población a través de su presencia en las aguas residuales. Con este abordaje no invasivo se puede estimar el total de portadores de la infección, incluyendo no solo los individuos sintomáticos, sino también los asintomáticos, presintomáticos o mal diagnosticados. Dicha aproximación ha permitido comprobar la validez de medidas, a menudo impopulares, como el confinamiento domiciliario, para reducir la transmisión del virus entre la población. La vigilancia de la presencia del virus en colectores específicos permite detectar "puntos calientes" de la infección vírica y de esta forma la adopción de medidas tales como la realización de tests masivos de PCR entre la población. El proyecto VATar (Vigilancia de Alerta Temprana basada en aguas residuales) es un estudio a nivel nacional de vigilancia virológica de las aguas residuales como indicador epidemiológico para un sistema de alerta temprana para la detección precoz de SARS-CoV-2 en España. De forma similar, se evalúa la circulación del virus en aguas residuales de estaciones de depuración de Cataluña. Con la aparición de variantes del SARS-CoV-2 se hace imprescindible disponer de un sistema de detección precoz de la circulación de dichas variantes que pueden presentar diferencias en cuanto a la transmisibilidad, patogenicidad o escape a las vacunas administradas para frenar la COVID-19 con el fin de anticipar la detección de las mismas en muestras clínicas, permitiendo de esta la rápida adopción de medidas para mitigar los efectos de las nuevas variantes.

Financing: Proyecto VATar (MITERD), Proyecto SARSAigües (ACA), Proyecto REVEAL (Suez)

### Salinas, bacterias y virus: evolución en acción

María Dolores Ramos-Barbero<sup>1</sup>, Tomeu Viver<sup>2</sup>, Judith Villamor<sup>1</sup>, Fernando Santos<sup>1</sup>, Miryam Carrillo Bautista<sup>1</sup>, Manuel Martínez-García<sup>1</sup>, Kostantinos Kostantinidis<sup>3</sup>, Ramon Rossello-Mora<sup>2</sup>, **Pepa Antón<sup>1</sup>**

(1) Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante, 03690 San Vicent del Raspeig, Alicante

(2) Grupo de Microbiología Marina, Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA; CSIC-UIB), 07190 Esporles, Islas Baleares

(3) School of Civil Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia 30332, USA

¿Qué ocurre cuando una comunidad microbiana es "invadida" por una cepa de una bacteria autóctona que ya no está en el sistema? ¿Sobrevive la cepa invasora o se elimina del sistema? ¿Cuáles son los principales agentes bióticos de control de este cambio: los virus o los otros microorganismos que componen la comunidad? ¿Cuál es el papel de la competencia intraespecífica? ¿Se cumple la predicción de "kill-the-winner" y son los virus los que eliminan a la cepa invasora? ¿En ese caso, cuáles la fuente de estos virus? ¿Qué huella deja la invasión en el sistema? ¿Se recuperan las comunidades celulares y víricas? Para contestar a estas y otras preguntas, hemos estudiado durante un mes los cambios en la comunidad microbiana de un cristalizador de una salina solar al que le añadimos un cultivo puro de una cepa de la bacteria halófila extrema *Salinibacter ruber* M8. Esta cepa se había aislado de la misma salina 15 años atrás, pero estaba ausente del cristalizador en el momento de la inoculación. Los cambios de virus y microorganismos celulares se analizaron mediante recuentos al microscopio, metagenómica, metatranscriptómica, y aislamiento y caracterización de cientos de nuevos virus de *S. ruber* M8 y nuevas cepas de la bacteria. La combinación de estos resultados nos ha permitido no solo empezar a conocer las respuestas sino también monitorizar en directo la sorprendente velocidad y los mecanismos de evolución de la comunidad vírica del sistema.

Financing: Proyecto MICROMATES (subproyectos PGC2018-096956-B-C41 y C44) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades

## Microorganismos y Cambio Climático

### Ecología microbiana de suelos hipersalinos: una aproximación mediante H218O-DNA-SIP

**Blanca Vera-Gargallo**<sup>1</sup>, Marc G. Dumont<sup>2</sup>, Marcela Hernández<sup>2,3</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, c/ Profesor García González, 2, Sevilla, España

(2) University of Southampton, School of Biological Sciences, University Road, SO17 1BJ, Southampton, Reino Unido

(3) University of East Anglia, School of Environmental Sciences, Norwich Research Park, NR4 7TJ, Norwich, Reino Unido

La elevada concentración de sal en suelos hipersalinos limita la diversidad y el funcionamiento microbianos, comprometiendo así la fertilidad de los mismos o su capacidad para consumir CO<sub>2</sub> atmosférico. En este contexto, urge comprender el desarrollo de la vida microbiana en estos hábitats. En este estudio, utilizamos marcaje de ADN con agua pesada (H218O-DNA-SIP) junto a secuenciación de amplicones para determinar patrones de crecimiento específicos de taxón en suelos hipersalinos incubados en condiciones de luz y oscuridad, con y sin inhibición de la fotosíntesis. Las arqueas superaron a las bacterias en cuanto a la proporción de filotipos que se marcaron, el número de secuencias afiliadas a ellos y los niveles de isótopo incorporados. Aunque la comunidad en crecimiento estaba ampliamente dominada por haloarqueas, la bacteria halófila extrema *Salinibacter* y taxones con diversas tolerancias a la sal (*Nanohaloarchaeaeota*, *Bradymonadaceae*, *Balneolaceae*, *Staphylococcaceae*, *Thermoanaerobacterales*) también incorporaron el isótopo en diferentes grados. Los incorporadores poseían rasgos relacionados con la conservación de energía: una estrategia eficiente de osmoadaptación (salt-in), producción de EPS, u otros aspectos nutricionales y metabólicos, lo cual podría ser esencial para desarrollarse en este hábitat salino, de baja humedad y limitado en carbono. Ningún filotipo fotosintético resultó marcado en las condiciones ensayadas. En cambio, la luz exacerbó la ventaja de las arqueas sobre las bacterias. Este estudio profundiza sobre los principales factores que restringen la vida procariota en suelos hipersalinos y sobre el papel de la luz solar, un activo omnipresente en estos sistemas, en el funcionamiento de la comunidad.

Financing: Financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (CGL2017-83385-P) y Junta de Andalucía (BIO-213 y US-1263771), incluyendo fondos FEDER.



### Cambios estacionales en el microbioma asociado a *Lupinus angustifolius*

**Maite Ortúzar**<sup>1</sup>, Jairo Niño-Ramírez<sup>1</sup>, David Sequeros<sup>1</sup>, Martha E Trujillo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Salamanca, Departamento de Microbiología y Genética, Edificio Departamental, laboratorio 214, Salamanca, España

*Lupinus angustifolius* es una leguminosa de gran interés en agricultura debido a su elevado valor en nutrición animal y humana. Para desarrollar una agricultura sostenible, es esencial describir y comprender el papel del microbioma asociado a la planta huésped. Por ello, este trabajo tiene como objetivo analizar el microbioma circundante de *Lupinus angustifolius* en distintas estaciones. Se recogieron muestras de suelo y rizosfera de *Lupinus angustifolius* en dos localidades de la provincia de Salamanca, España (Cabrerizos 40° 58' 38,9" N; 5° 35' 47,7" W y Salamanca 40° 57' 38,7 " ; N 5° 41' 34,8" W); en distintas estaciones (primavera y otoño). El ADN se extrajo con el FastDNA® Spin Kit for soil y se secuenció con la plataforma Illumina MiSeq para la identificación de Bacterias (gen ARNr 16S, región V3-V4) y Eukarya (región ITS2). En otoño se hicieron aislamientos de rizosfera y suelo para ver la diversidad de bacterias cultivables. El microbioma circundante de *Lupinus angustifolius* varía enormemente en función del tipo de suelo y de la estación en la que se recogen las muestras. En ambas localidades los géneros bacterianos más dominantes son *Massilia*, *Mucilaginibacter*, *Pseudomonas* y *Sphingomonas*. En Cabrerizos, *Streptomyces* es bastante abundante, mientras que en Salamanca el género más abundante es *Bradyrhizobium*; siendo lo esperado porque son los responsables de la fijación de nitrógeno en simbiosis con *Lupinus*. La diversidad de eucariotas es muy diferente; en Cabrerizos destacan los géneros *Penicillium*, Pleosporales y *Fusarium*; mientras que en Salamanca se encuentran en mayor proporción *Entoloma*, *Gelidatrema* y Helotiales.

Financing: MO, contrato predoctoral Junta de Castilla y León. JNR, beca doctorado Relaciones Internacionales (USAL). MT financiación PGC2018-096185-B-I00.



## The role of endophytes in the seed persistence to fire

**Irene Martín-Rodríguez<sup>1</sup>**, Carmen Molina<sup>1</sup>, Natalia González-Benítez<sup>1</sup>

(1) Universidad Rey Juan Carlos, Área de Conservación y Biodiversidad, Departamento de Biología, Geología, Física y Química Inorgánica, Escuela Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología, Calle Tulipán s/n, Móstoles, España

Fire is one of the most widespread disturbances, being the most dominant and predictable in Mediterranean regions, acting as an evolutionary force. Apart from adaptive traits, if do plant establish symbiosis with some microorganisms which provide an evolutionary advantage? Endophytes are microorganisms which have a mutualist relationship with plants, living inside plants tissues. It is shown endophytes help plants to bear better biotic and abiotic stress. Therefore, species of fire-prone habitat must have symbiosis with endophytes that can bear high temperatures. Nonetheless, there is hardly previous information. Here, we explored endophytes associated to *Cistus ladanifer* seeds and seedlings and their role in fire-persistence of seeds. Our objectives are to: i) study the differences in germination rate and development among treatments; ii) identify seed endophyte biodiversity iii) find out temperature resistance endophytes. To study the germination rate and plant development, seeds were sterilized and exposed to heat-shock treatment (100°C /120°C). Seeds were cultivated in a growth-chamber and in a greenhouse. Functional traits were measured. To identify endophytes diversity, DNA from seeds and seedling were analysed by next generation sequencing technologies (NGS-illumina). Seeds culturome from heat-shock at 120°C was identified, isolating cultivable seeds endophytes with which we did phenotypic proofs in vitro to check the potential plant growth promoting. Preliminary results showed that seeds have a higher germination rate on heat-shock treatment, although seedling development is quite similar. Also, we have isolated some endophytic for culturome. Dominant endophytic bacteria associated to pyrophytic plants are Protobacteria and Actinobacteria.

## Evidence for large microbial-mediated losses of soil carbon under anthropogenic warming

**Pablo García Palacios<sup>1</sup>**

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Ciencias Agrarias, Calle Serrano 116 bis, Madrid, España

Anthropogenic warming is expected to accelerate global soil organic carbon (SOC) losses via microbial decomposition, yet there is still no consensus on the loss magnitude. In this Perspective, we argue that despite the mechanistic uncertainty underlying these losses, there is confidence that a strong, positive land carbon-climate feedback can be expected. Two major lines of evidence support net global SOC losses with warming via increases in soil microbial metabolic activity: the increase in soil respiration with temperature and the accumulation of SOC in low mean annual temperature (MAT) regions. Warming-induced SOC losses are likely to be of a magnitude relevant for emission negotiations, and necessitate more aggressive emission reduction targets to limit climate change to 1.5°C by 2100. We suggest microbial community-temperature interactions, and how they are influenced by substrate availability, are promising research areas to improve the accuracy and precision of the magnitude estimates of projected SOC losses.

Financing: Ramón y Cajal grant from the Spanish Ministry of Science and Innovation (RYC2018-024766-I)

## Cambio climático y nuevos retos en el control de enfermedades emergentes y reemergentes de las plantas

**Emilio Montesinos Montesinos<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Girona, Patología Vegetal- CIDSAV, Instituto de Tecnología Agroalimentaria, Campus Montilivi, Girona, España

Las pérdidas de productividad de los cultivos debidas a enfermedades causadas por bacterias, hongos, nematodos y virus representan una media del 13%, aún con las medidas de control y avances tecnológicos que se aplican para su control. La globalización de los mercados de los productos agrícolas, constituye un riesgo de transporte de patógenos de las plantas, y en especial los considerados de cuarentena. Ante el escenario del cambio climático global, la agricultura tiene que enfrentarse a fenómenos climáticos extremos, y a un incremento de la temperatura y disminución de la pluviometría. Este escenario facilita el aumento o establecimiento de enfermedades emergentes y reemergentes o la reactivación de otras presentes en un territorio. La Unión Europea dispone de una normativa para prevenir la introducción y diseminación de patógenos de cuarentena, basada en la categorización realizada por la EFSA y la EPPO. Varias enfermedades emergentes y reemergentes, presentes en territorio español y europeo, afectan a cultivos de clima mediterráneo y bosques, como son el fuego bacteriano de las rosáceas (manzano y peral) causado por *Erwinia amylovora*, y el síndrome de seca y muerte de cultivos leñosos (olivo, almendro, vid, cítricos) causada por *Xylella fastidiosa*. Varios sistemas permiten simular los niveles de riesgo de estas enfermedades y su distribución en diversos escenarios de cambio climático. Se esperan efectos importantes del cambio climático en la epidemiología y estrategias de control de estas enfermedades, y en la producción y protección de cultivos, lo que está teniendo un profundo impacto en la investigación científica.

## Microorganismos y cambio global

**Carlos Pedrós Alió<sup>1</sup>**

(1) Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Biología de Sistemas, Darwin 3, Cantoblanco, Madrid, España

Todavía existe una incertidumbre considerable respecto a la forma en que la biosfera responderá al cambio climático. En el caso de los microorganismos, las predicciones son particularmente difíciles. Esto se debe a la enorme diversidad y gran adaptabilidad a las condiciones cambiantes de las comunidades microbianas. Consideraré primero lo que el cambio climático puede hacer a las bacterias, en particular si es probable la extinción de especies bacterianas. Esto requerirá un examen de la visión actual de la diversidad microbiana según lo revelado por la genómica y la metagenómica y la exploración de distintos ambientes. Finalmente, examinaré qué pueden hacer las bacterias al cambio climático y exploraré qué tipo de predicciones son posibles.

Financing: CTM2016-80095-C2-1-R, "TRAITS" STUDYING THE STRUCTURE OF GUILDS BEYOND THE SPECIES RANK. DEVELOPMENT OF METHODS FOR THE FAST ANALYSIS OF MICROBIOMES.

## Diversidad Microbiana

### Metagenómica de una salina ancestral: monitorización de los cambios de las comunidades microbianas desde el subsuelo hasta la superficie

**Maria Dolores Ramos Barbero**<sup>1</sup>, Tomeu Viver<sup>2</sup>, Ane Zabaleta<sup>3</sup>, Ece Senel<sup>4</sup>, María Gomariz<sup>1</sup>, Iñaki Antigüedad<sup>3</sup>, Fernando Santos<sup>1</sup>, Manuel Martínez-García<sup>1</sup>, Ramon Rosselló-Móra<sup>2</sup>, Josefa Antón<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Alicante, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Facultad de Ciencias, Carretera de San Vicente s/n, Pabellón 12, 03690, San Vicente del Raspeig, España  
(2) Instituto de estudios avanzados (IMEDEA; CSIC-UIB), Departamento diversidad microbiana y animal, Carrer de Miquel Marquès, 21, 07190, Esporles, España  
(3) Universidad del País Vasco UPV/EHU, Departamento de Geología, Ciencias y Tecnología, Barrio Sarriena s/n, 48940, Leioa, España  
(4) Universidad técnica de Eskisehir, Departamento de Biología, Campus de Yunusemre 6, 26470, Eskisehir, Turquía

Los biomas de aguas subterráneas constituyen una parte considerable de la biomasa y diversidad microbiana global, sin embargo, los estudios sobre las comunidades microbianas de estos sistemas son escasos. En este trabajo hemos caracterizado la comunidad microbiana (virus y células) de tres manantiales hipersalinos del sistema de aguas subterráneas de las Salinas de Añana (Álava, País Vasco) y se han monitorizados sus cambios antes y después de su exposición al exterior. En este trabajo no solo se han descubierto microorganismos desconocidos hasta el momento, sino que, además, se ha visto que el cambio en las comunidades microbianas en ambientes extremos puede ser muy rápido. Para este estudio se han utilizado cuatro muestras de salmuera con diferentes niveles de exposición al exterior, que han sido analizadas utilizando microscopía y metagenómica. Las células y los virus del agua subterránea presentaron una concentración menor a la encontrada en otros ambientes hipersalinos (104 células/ml y 105 VLP/ml) y una actividad muy baja según los resultados de FISH. Tras la exposición al aire libre, tanto los virus como las células aumentaron su actividad y en se produjo una selección de filotipos. Se recuperaron un total de 35 genomas víricos con tamaños genómicos entre 15 y 104 Kb. Sus cambios evolutivos se monitorizaron en el sistema mediante la detección de polimorfismos (SNPs) e islas metagenómicas. En general, tanto las poblaciones procariotas como víricas mostraron cambios en un periodo de tiempo corto (horas), mostrando que las comunidades microbianas halófilas extremas podrían cambiar muy rápidamente en la naturaleza

Financing: Ministerio de ciencia e innovación Gobierno de España (MICROMATES PGC2018-096956-B-C44), incluyendo fondos (FEDER), y Generalitat Valenciana PROMETEO /2017/2019.

### Distribución ecológica e importancia funcional de familias génicas inferidas a partir de datos metagenómicos

Álvaro Rodríguez del Río<sup>1</sup>, Joaquín Giner Lamia<sup>1</sup>, Carlos Pérez Cantalapiedra<sup>1</sup>, Luis Pedro Coelho<sup>2,3</sup>, Peer Bork<sup>2</sup>, Jaime Huerta Cepas<sup>1,2</sup>

(1) Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas UPM – INIA Parque Científico y Tecnológico de la U.P.M., Campus de Montegancedo. Autopista M-40, Km 38 - 28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid)

(2) Structural and Computational Biology, European Molecular Biology Laboratory, Meyerhofstrasse 1, 69117, Heidelberg, Germany

(3) Institute of Science and Technology for Brain-Inspired Intelligence, Fudan University, Shanghai, China

Los genes microbianos codifican la mayor parte del repertorio funcional en la biosfera. Sin embargo, a pesar de los numerosos estudios metagenómicos existentes, se sabe poco sobre la distribución ecológica y funcional de dichos genes. En este trabajo, se presentan los resultados obtenidos del análisis filogenómico y evolutivo de un amplio catálogo metagenómico que abarca 303 millones de genes, 14 biomas y 13,174 de muestras metagenómicas. Mediante la agrupación de secuencias en familias génicas y su posterior análisis evolutivo, descubrimos que la mayor parte de la variación genética observada no se encuentra bajo selección positiva y se concentra en una pequeña fracción de familias (<1%). Asimismo, caracterizamos de forma sistemática la fracción de familias génicas desconocidas (sin homólogos en bases de datos) y analizamos su papel en el desarrollo de nuevas funciones moleculares. Para ello, reconstruimos el contexto genómico de cientos de miles de familias y proporcionamos una base de datos de predicciones funcionales y distribución ecológica. Los resultados presentados pertenecen a un manuscrito actualmente en revisión (1) y otro en preparación. Towards the biogeography of prokaryotic genes. Luis Pedro Coelho, Renato Alves, Álvaro Rodríguez del Río, Pernille Neve Myers, Carlos P. Cantalapiedra, Joaquín Giner-Lamia, Thomas Sebastian Schmidt, Daniel Mende, Askarbek Orakov, Ivica Letunic, Falk Hildebrand, Thea Van Rossum, Sofia K. Forslund, Supriya Khedkar, Oleksandr M. Maistrenko, Shaojun Pan, Longhao Jia, Pamela Ferretti, Shinichi Sunagawa, Xing-Ming Zhao, Henrik Bjørn Nielsen, Jaime Huerta-Cepas, and Peer Bork (in review, 2021)

## Toxicomicrobiómica, rol metabólico de los taxones de la microbiota intestinal humana y las disbiosis o enfermedades metabólicas

**Margarita Aguilera<sup>1</sup>**, Alfonso Torres-Sánchez<sup>1</sup>, Jesús Pardo<sup>1</sup>, Ángel Ruiz-Moreno<sup>1</sup>, Klara Cerk<sup>1</sup>, Ana López-Moreno<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Microbiología, Farmacia, Campus de Cartuja S/N, Granada, España

La toxicomicrobiómica estudia las influencias mutuas entre el microbioma humano en constante cambio y los compuestos xenobióticos de la dieta, con especial atención, los compuestos obesógenos. El arsenal enzimático de los taxones microbianos de la microbiota intestinal humana interindividual puede determinar un papel diferencial clave en la metabolización de compuestos contaminantes de la dieta tanto de origen natural, como procesados o artificiales. Así, la composición taxonómica de la microbiota variable determina que: i) La microbiota intestinal pueda proteger contra las sustancias cancerígenas y genotóxicas degradándolas o biotransformando a compuestos menos tóxicos y/o facilitando su excreción. ii) La microbiota intestinal pueda desintoxicar xenobióticos, por ejemplo, en genotoxinas, o revertir la desintoxicación implicada por el metabolismo del hospedador. iii) La microbiota intestinal pueda transformar xenobióticos en sustancias menos tóxicas o mutagénicas, por lo que puede reducir las posibilidades de disbiosis e incluso cáncer. iv) El microbioma intestinal individual pueda verse afectado negativamente por los contaminantes o xenobióticos dietéticos como los obesógenos o disruptores endocrinos tipo bisfenoles. Dichas sustancias obesógenas pueden desencadenar disbiosis de la composición de la microbiota, y consecuentemente alteraciones fisiopatológicas, como epitelio dañado, desequilibrio en mucosas y alteración de la permeabilidad de la barrera epitelial. Además, el resultado de dichas disbiosis del microbioma por exposición a xenobióticos varía de persona a persona y deben ser analizados de forma integrativa con metodologías complementarias.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por GP/EFSA/ENCO/380 2018/03/G04 OBEMIRISK, FEDER Infrastructure: IE\_2019-198, Plan Propio-UGR y EU-FORA Programme



### Microbioma: El último órgano del cuerpo humano

**Alejandro Mira Obrador<sup>1</sup>**

(1) Fundación FISABIO, Valencia

Las técnicas metagenómicas y de secuenciación masiva han revolucionado el estudio de los microorganismos que conviven con el ser humano, conocidos de forma global como microbioma. En nuestro laboratorio hemos desarrollado distintas técnicas "ómicas" para estudiar las comunidades microbianas en la boca, el estómago, las vías respiratorias, la leche materna o el intestino, tanto en salud como en enfermedad. Estos estudios nos han permitido, por un lado, determinar la etiología de enfermedades como la caries dental o la periodontitis, y por otro identificar bacterias que funcionan como biomarcadores de cáncer colorrectal, así como seleccionar bacterias que puedan funcionar como probióticos frente a distintas enfermedades. Además, la combinación de la citometría de flujo con la secuenciación masiva nos ha permitido identificar las bacterias reconocidas por anticuerpos, y aquellas que son capaces de evadir el sistema inmune. La aplicación de esta técnica a muestras fecales de niños de un mes permite predecir, por ejemplo, el desarrollo de asma, que se producirá años más tarde. Otro ejemplo de aplicación clínica es el estudio comparado del ADN de muestras orales de personas con y sin caries, que reveló una alta frecuencia de una nueva especie, bautizada como *Streptococcus dentisani*, que neutraliza el ácido y está siendo testada como probiótico anti-caries en ensayos clínicos. En los últimos años estamos investigando los efectos del microbioma en la salud sistémica, como es el caso de bacterias productoras de óxido nítrico y su papel en la salud cardiovascular o metabólica.

Financiación: Proyecto BIO2015-68711-R del Ministerio de Ciencia e Innovación.

## Aproximaciones metagenómicas al estudio de biodiversidad y novedad funcional en comunidades microbianas

**Jaime Huerta-Cepas<sup>1</sup>**

(1) Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), Universidad Politécnica de Madrid (UPM) - Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-CSIC), Campus de Montegancedo-UPM, 28223, Pozuelo de Alarcón, Madrid, Spain

La biodiversidad microbiana está dominada por una enorme cantidad de microorganismos que, debido a su poca abundancia y/o novedad filogenética, apenas han podido ser caracterizados desde un punto de vista genómico. Las estimaciones más recientes indican que entre un 20% y un 40% de los genes ensamblados a partir de muestras metagenómicas carecen de homólogos en organismos conocidos, por lo que son sistemáticamente ignorados en la mayoría de análisis. Por otro lado, hoy sabemos que la secuenciación masiva de muestras ambientales sólo permite estudiar la fracción de microorganismos más abundante en un momento dado, impidiendo profundizar en la biodiversidad latente en distintos ecosistemas. En esta charla, hablaré sobre nuestro trabajo en el desarrollo de aproximaciones genómicas y computacionales para la caracterización funcional y ecológica de la biodiversidad microbiana desconocida. Nuestros métodos combinan estrategias de secuenciación dirigida, análisis de divergencia funcional mediante enfoques filogenéticos, así como la predicción funcional de secuencias desconocidas basada en técnicas de genómica comparada. Mediante dichos métodos, trabajamos en el estudio de perfiles de quimiorrección de organismos asociados a la filosfera, la identificación de variantes enzimáticas relacionadas con el ciclo de nutrientes, y la predicción de nuevos genes de resistencia.

Financing: PGC2018-098073-A-I00 MCIU/AEI/FEDER, UE

### Genómica en la taxonomía bacteriana: Impacto en el género *Pseudomonas*

**Margarita Gomila Ribas<sup>1</sup>**

(1) Universidad de las Islas Baleares, Biología (Microbiología), Facultad de Ciencias, Ctra. Valldemossa, km. 7.5 - 07122, Palma de Mallorca, España

El género *Pseudomonas* es uno de los géneros bacterianos mejor estudiados y es el género con mayor número de especies entre las bacterias Gram negativas. Es un género complejo y diverso, cuyas especies se distribuyen ampliamente en distintos nichos, desempeñando funciones ecológicas importantes y en el cual, varias especies son patógenas para los seres humanos, los animales y las plantas. La taxonomía de este género ha evolucionado en paralelo con el desarrollo de la taxonomía bacteriana desde la descripción del género en el año 1984. La implementación sucesiva de nuevas metodologías, como la genómica, ha influenciado en los estudios taxonómicos de este género. De hecho, los actuales estudios filogenómicos nos han proporcionado métodos precisos para delimitar especies y nos han permitido inferir la filogenia de los rangos taxonómicos más altos, así como aquellos a nivel de subespecies. El análisis filogenómico de la familia Pseudomonadaceae basado en el análisis filogenético de genes y en la comparación de genomas mediante distintos algoritmos muestra un aumento sustancial en el número de especies de este género y permite prever una reorganización del género en varios géneros o subgéneros ya que un considerable número de especies de *Pseudomonas* no son monofiléticas con *P. aeruginosa*, especie tipo del género. Idealmente, estas clasificaciones deben estar respaldadas por un enfoque taxonómico polifásico. Para realizar este análisis se han analizado los genomas de más de 200 especies del género *Pseudomonas*, así como cepas de géneros hermanos *Azotobacter*, *Azomonas*, *Enteromonas*, *Oblitimonas*, *Thiopseudomonas* y *Ventosimonas*.

## Microorganismos y ciclos geoquímicos

### Registros del pasado a través de biomoléculas preservadas en un tapete milenario de la plataforma de hielo McMurdo (Antártida)

**María Ángeles Lezcano**<sup>1</sup>, Laura Sánchez García<sup>1</sup>, Antonio Quesada<sup>2</sup>, Daniel Carrizo<sup>1</sup>, Miguel Ángel Fernández-Martínez<sup>3</sup>, Erika Cavalcante-Silva<sup>2</sup>, Víctor Parro<sup>1</sup>

(1) Centro de Astrobiología, Evolución Molecular, Carretera de Ajalvir, km. 4. 28850, Torrejón de Ardoz, Madrid, España

(2) Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de Biología, Calle Darwin, 2. 28049, Cantoblanco, Madrid, España

(3) McGill University, Department of Natural Resource Sciences, Quebec, Canadá

Los tapetes microbianos antiguos son estructuras verticales de comunidades de microorganismos que se han conservado durante cientos o miles de años, archivando información sobre su composición y condiciones ambientales del pasado. En este estudio analizamos el ADN, proteínas y biomarcadores lipídicos de un tapete microbiano milenario de la plataforma de hielo McMurdo (MIS) (Antártida) para reconstruir su escenario ecológico pasado. El análisis de la secuenciación de los genes del ARNr 16S y 18S, metaproteómica y análisis de lípidos mostró diferentes perfiles en la composición de la comunidad microbiana, sugiriendo una diferente preservación de los tres tipos de biomoléculas a lo largo del tiempo. El ADN mostró una composición de la comunidad compuesta mayoritariamente por microorganismos formadores de esporas. Por el contrario, las proteínas y los lípidos permitieron identificar otros microorganismos que no se identificaron con el ADN, como cianobacterias. Los hidrocarburos lipídicos también revelaron restos de plantas vasculares en el tapete microbiano, sugiriendo su origen en una época en la que el clima en la Antártida era más cálido. Los tres tipos de biomoléculas, junto con la composición isotópica específica de los ácidos alcanoicos, también permitieron definir los metabolismos que operaron en el tapete microbiano hace ~1,000 años, incluyendo fotosíntesis oxigénica y anoxigénica, fijación de nitrógeno, nitrificación, desnitrificación, reducción y oxidación de azufre y metanogénesis. Por tanto, el análisis combinado del ADN, proteínas y lípidos permitió mejorar la reconstrucción paleoecológica del tapete microbiano antiguo superando las limitaciones de cada tipo de biomolécula por separado.

Financing: FJC2018-037246-I (Juan de la Cierva-Formación), PEJD-2017-POST/TIC-4119 (UE), RTI2018-094368-B-I0, RYC2018-023943-I (Ramón y Cajal), CTM2016-79741-R, RYC-2014-19446 (Ramón y Cajal), MDM-2017-0737.

### El papel de los hongos en la biorremediación de Se, Te y Pb para la detoxificación de ambientes contaminados

**Mar Morales-Hidalgo**<sup>1</sup>, Cristina Povedano-Priego<sup>1</sup>, Mónica Cano-Cano<sup>1</sup>, Fadwa Jroundi<sup>1</sup>, Javier Hidalgo-Iruela<sup>1</sup>, Inés Martín-Sánchez<sup>1</sup>, Mohamed Larbi Merroun<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus Fuentenueva, 18071, Granada, España

Los hongos juegan un papel importante en los ciclos biogeoquímicos de metales no esenciales como selenio, telurio y plomo. Existen mecanismos de interacción hongo-metal que se han investigado en el campo de la biotecnología ambiental para su uso en biorremediación de metales contaminantes (biorreducción, biomineralización). Los oxianiones de selenio y telurio presentan un efecto tóxico en el medio ambiente debido a su solubilidad y movilidad. El plomo metálico puede ser solubilizado y afectar a aguas subterráneas y al suelo subyacente. Se han estudiado hongos, como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, para caracterizar su capacidad de interacción con Se(IV), Te(IV) y Pb(0) y su potencial en la biorremediación. Los estudios de tolerancia indicaron variabilidad dependiendo del hongo y del metal, siendo generalmente mayor para el Te. Se han realizado análisis microscópicos (STEM/HAADF, FESEM) y espectroscópicos (EDX, Raman) para caracterizar los mecanismos de interacción con estos elementos. En el caso de Se y Te, se observaron depósitos extra e intracelulares y productos de la biorreducción enzimática del Se(IV) y Te(IV) a Se(0) y Te(0), respectivamente, en forma de nanopartículas. En el caso del Pb, se identificó la formación de piromorfita (fosfatos de plomo) como resultado de un proceso de biomineralización. Tanto las nanopartículas de Se(0) y Te(0) como la piromorfita corresponden a fases menos solubles y altamente estables y, por tanto, menos tóxicas. Estos resultados demuestran el potencial de los hongos como agentes de biorremedio frente a metales pesados como el plomo y metaloides como el selenio y telurio.

## Impacto de la diversidad microbiana en bentonitas sobre el ciclo biogeoquímico del selenio: implicaciones para un futuro Almacenamiento Geológico Profundo

**Cristina Povedano-Priego**<sup>1</sup>, Fadwa Jroundi<sup>1</sup>, Mar Morales Hidalgo<sup>1</sup>, Ramiro Vilchez-Vargas<sup>2</sup>, Isabel Guerra Tschuschke<sup>3</sup>, Maria del Mar Abad Ortega<sup>3</sup>, Inés Martín-Sánchez<sup>1</sup>, Mohamed L. Merroun<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Av. Fuentenueva s/n, Granada, España

(2) University of Magdeburg, Department of Gastroenterology, Hepatology and Infectious Diseases, Leipziger Str. 44.39120, Magdeburg, Alemania

(3) Centro de Instrumentación Científica (CIC), Campus Universitario de Fuentenueva, Paseo Prof. Juan Ossorio s/n, Granada, España

El Almacenamiento Geológico Profundo (AGP) es un sistema multibarrera en el que los residuos nucleares almacenados en contenedores metálicos quedan rodeados de bentonitas compactadas (barrera artificial). El radioisótopo Se79 es uno de los elementos críticos presentes en estos residuos. Puesto que los microorganismos presentes en la bentonita pueden tener la capacidad de interactuar con diferentes metales, es de gran importancia el estudio de la diversidad bacteriana con potencial para reducir los oxianiones de selenio a nanopartículas Se(0). Los microcosmos de bentonitas saturados de agua se trataron con selenito [Se(IV)], acetato, y glicerol-2-fosfato, y se inocularon con un consorcio bacteriano (*Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Amycolatopsis*, y *Shewanella*). Tras seis meses de incubación en condiciones anóxicas, los análisis por Next Generation Sequencing del gen ARNr 16S revelaron la presencia de bacterias (principalmente Firmicutes y Proteobacteria) y arqueas (principalmente Methanosarcina). *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Desulfosporosinus* y géneros no-clasificados afiliados a Desulfuromonadaceae, Clostridia y Firmicutes se encontraron altamente enriquecidos en los tratamientos con Se(IV) pudiendo tener un papel importante en su reducción a Se(0). Además, se observaron precipitados de color naranja y negro en los diferentes microcosmos tratados con Se(IV). Su análisis mediante técnicas microscópicas (STEM, SEM) y espectroscópicas (EDX, Raman), indicó nanoestructuras cristalinas de Se(0), tanto en fase monoclinica como trigonal. Estos resultados ponen de manifiesto el impacto de la microbiota natural de la bentonita sobre la toxicidad del Se(IV), mediante un proceso de reducción y su posterior biotransformación de nanoesferas de Se amorfo/monoclinico, una fase inestable, a Se trigonal, más estable y menos tóxico.

Financing: Proyecto CGL2014-59616-R del Ministerio de Ciencia e Innovación y el contrato FPU14/04263 por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte



### Impact of microbes in the biogeochemical cycle of metals and radionuclides: Perspectives in Bioremediation, Nanotechnology, Biohydrometallurgy, etc.

**Mohamed L. Merroun<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Granada, Microbiología, Ciencias, Campus Fuentenueva s/n, 18071, Granada, España

Microorganisms, widely distributed in nature, interact efficiently with heavy metals and radionuclides through different mechanisms including biosorption at the cell surface, intracellular accumulation, biomineralisation, oxidation/reduction, and chelation. These metal microbial interactions processes, affect the behaviour and fate of these inorganic contaminants, and presented different industrial applications. For instance, microorganisms are used as heavy metals/radionuclide bioremediation agents for mining waters through their metal biomineralization ability where phosphatase activity is involved. In addition, using different electron donors, microbes are able to reduce precious ionic metals (Pd, Pt, Au, Ru, Se) producing monometallic/bimetallic nanoparticles (NPs) with different size, shape and atomic structures. These biogenic nanostructures could be used as catalysts for different chemical reactions (Pd, Ru, Pt, Au NPs), as antimicrobial activity (antibiotic alternatives against infectious diseases, SeNPs, AgNPs, etc.), in electronic industries, etc. Microbes are able also to leach precious metals from electronic wastes by siderophores and organic acids, and to recuperate these metals by enzymatic reduction contributing to the recycle of these scraps. The focus of this talk is to explore recent advances in the use of microbiology, biogeochemistry, geomicrobiology, microscopy, and spectroscopy to investigate the microbial interactions with metals and radionuclides and their industrial applications in the field of Bioremediation of metal contaminated environments, Nanotechnology; fabrications of metallic nanoparticles, biohydrometallurgy (recovery of metals from electronics and mining wastes).

Financing: This work was supported by the grant RTI2018.101548.B.I00 (Ministerio de Ciencia e Innovación, Spain)



## El papel de los microorganismos en la colonización de áreas polares deglaciadas

### Asunción de los Ríos<sup>1</sup>

(1) Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC, Biogeoquímica y ecología microbiana, Serrano 115 dpdo, Madrid, España

Cuando, por efecto del cambio climático, retroceden los glaciares, se produce la colonización de suelos y rocas que habían permanecido cubiertos por una densa capa de hielo durante largos periodos de tiempo. Estos procesos de colonización responden a procesos de sucesión primaria en que los microorganismos son los primeros colonizadores tras la retirada del hielo. La actividad de estos microorganismos pioneros en regiones polares es fundamental para el posterior establecimiento de comunidades más complejas que inducen en la zona característicos incrementos de cobertura vegetal. Es también muy importante el papel de los microorganismos que colonizan las rocas, ya que a través de las interacciones microorganismo-mineral establecidas se generan nutrientes esenciales para el establecimiento de distintas formas de vida en áreas deglaciadas. La composición y diversidad de estas comunidades microbianas litobióticas difiere drásticamente de las presentes en los suelos. La contribución de los microorganismos a la colonización de áreas deglaciadas polares no se limita a las etapas iniciales de la sucesión, sino que hay un reemplazo de taxones microbianos que favorece el desarrollo de distintas funciones a lo largo de la cronosecuencias establecidas. De hecho, los primeros signos visibles de la colonización son la aparición de cubiertas criptogámicas, estructuras biosedimentarias formadas por líquenes y musgos, las cuales contienen comunidades microbianas muy diversas que favorecen el reciclado de nutrientes y el desarrollo del suelo. Asimismo, a medida que la sucesión avanza y se forman comunidades microbianas más estables y estructuradas en las rocas, su contribución a la sucesión es más significativa.

Financing: PID2019-105469RB-C22 (AEI, MICINN)

## La vida en la atmósfera

**Ángeles Aguilera-Bazán<sup>1</sup>**

(1) Centro de Astrobiología (INTA-CSIC), Departamento de Evolución Molecular, Carretera de Ajalvir Km4, Torrejón de Ardoz, 28850 Madrid, España

Los microorganismos están presentes en todos los lugares de la biosfera. Estos hábitats incluyen medios como suelos, agua, animales o plantas, así como prácticamente cualquier estructura hecha por el hombre. En este sentido, la atmósfera no resulta muy diferente a otros ambientes habiéndose demostrado en ella la presencia de agua y de microorganismos desde hace décadas. La aerobiología como disciplina surgió alrededor de 1930 y que se encarga de estudiar el transporte de los microorganismos, su caracterización e identificación, así como su comportamiento, movimiento y supervivencia. Se trata de un campo multidisciplinar donde se combinan conocimientos de microbiología, meteorología, física y química de la atmósfera. Gran variedad de organismos a lo largo de su ciclo vital, cambian su localización geográfica a través de la atmósfera (por transporte de masas de aire, por intrusiones saharianas, por transporte de cenizas de incendios, etc.). Las partículas biológicas están siempre presentes en la atmósfera, aunque su número y viabilidad cambien con las horas del día, las condiciones meteorológicas, las estaciones del año o la ubicación geográfica. Aunque, habitualmente los microorganismos son más numerosos en las capas más cercanas al suelo, así como en la troposfera, se han detectado microorganismos también a grandes alturas, como en la estratosfera. En esta comunicación, discutiremos los recientes avances en el estudio de la ecología y diversidad microbiana presente a grandes altitudes.

Financing: Proyectos del Plan Nacional de I+D+i: CGL2015-69758-P, CSIC i-LINK-1151, CGL2017-92086-EXP, PID2019-104205GB-C22

## Interacciones planta-microorganismo

### Búsqueda y caracterización de bacteriófagos frente a *Xylella fastidiosa*

**María Luisa Domingo-Calap**<sup>1,2</sup>, Cristina M. Aure<sup>2</sup>, Felix Morán<sup>2</sup>, Mireia Bernabeu-Gimeno<sup>2</sup>, Inma Navarro-Herrero<sup>2</sup>, Pilar Domingo-Calap<sup>3</sup>, Ester Marco-Noales<sup>2</sup>

(1) Tragsa, Empresa de Transformación Agraria, Delegación de Valencia, España

(2) IVIA, Instituto de Investigaciones Agrarias, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, España

(3) I2SysBio, Instituto de Biología Integrativa de Sistemas-Universitat de València-CSIC, España

*Xylella fastidiosa* (Xf) es una bacteria de la familia Xanthomonadaceae que vive en el xilema de la planta hospedadora, donde puede obstruir el flujo de savia bruta, y en el tracto digestivo de insectos que se alimentan de xilema y actúan como vectores. Está considerada una bacteria fitopatógena de gran relevancia, ya que afecta a numerosas especies vegetales. El objetivo de este trabajo es la búsqueda, aislamiento, selección y caracterización de bacteriófagos como herramienta de biocontrol de esta bacteria fitopatógena. Debido a la dificultad inherente al cultivo de Xf en condiciones de laboratorio, se han empleado cepas de *Xanthomonas* spp. para llevar a cabo el aislamiento de bacteriófagos en muestras vegetales, de agua y suelo procedentes de zonas con brotes activos de Xf, y en aguas residuales. Hasta el momento, se han aislado y amplificado un total de 22 bacteriófagos. Se ha testado su actividad lítica frente a más de 25 cepas de *Xanthomonas* spp. y los resultados sugieren diferencias en el rango de infección del huésped. En ningún caso se ha observado actividad lítica frente a cepas de bacterias fitopatógenas de géneros diferentes a *Xanthomonas* spp. Se están llevando a cabo ensayos para evaluar su efecto frente a diferentes cepas de Xf. Los primeros resultados indican que al menos cinco de ellos son capaces de reducir el crecimiento de las cepas europeas testadas de Xf subsp. *fastidiosa*, en algunos casos incluso hasta la inhibición total. Todos los bacteriófagos están siendo caracterizados fenotípicamente y genómicamente.

Financing: Proyecto XF-ACTORS, grant 727987, European Union's Horizon 2020 Framework Research Programme Ministerio Ciencia e Innovación, Ramón y Cajal call 2019

### Efecto de *Trichoderma* en el microbioma de raíz de trigo cultivado en campo bajo alta fertilización química nitrogenada.

**María Illescas<sup>1</sup>**, M. Belén Rubio<sup>1</sup>, Enrique Monte<sup>1</sup>, Rosa Hermosa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Salamanca, Departamento de Microbiología y Genética, Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Salamanca, España

*Trichoderma* es un género de hongos filamentosos cosmopolita, que incluye especies utilizadas como agentes de biocontrol en agricultura. Además, algunas cepas han demostrado causar efectos beneficiosos en las plantas tales como el incremento de defensas frente a estreses bióticos y abióticos. El objetivo de este trabajo fue explorar cómo la aplicación de *T. harzianum* T34 afecta a la composición de las comunidades bacterianas y fúngicas de la raíz de trigo cultivado bajo prácticas agronómicas convencionales. Para ello, se llevó a cabo un ensayo de campo que incluyó los siguientes tratamientos (Illescas et al. 2020): 1) control, 2) fertilización nitrogenada de cobertera, 3) aplicación de T34 a la semilla y 4) combinación de ambas. Se analizaron, después de secuenciar por Illumina, parámetros como riqueza y diversidad microbiana (bacteriana y fúngica) en tres compartimentos: suelo no rizosférico, rizosfera y endosfera. El análisis estadístico de los resultados mostró que el nitrógeno juega un papel decisivo en el microbioma bacteriano de trigo, afectando negativamente a los niveles de varios géneros bacterianos beneficiosos para las plantas, los cuales se veían incrementados al aplicar T34. Además, la aplicación de T34 aumentó los niveles de la micorriza *Claroideoglomus* en la rizosfera de las plantas de trigo. Illescas, M. et al. (2020). Effect of inorganic N top dressing and *Trichoderma harzianum* seed-inoculation on crop yield and the shaping of root microbial communities of wheat plants cultivated under high basal N fertilization. *Front Plant Sci.* 11:575861.

Financing: Ministerio de Ciencia e Innovación (RTI2018-099986-B-I00) y Junta Castilla y León (beca predoctoral María Illescas y proyecto Escalera Excelencia CLU-2018-04).

## Influencia del genotipo de olivo, factores agroambientales y estacionales en la estructura y diversidad del microbioma xilemático del olivo cultivado

**Manuel Anguita Maeso**<sup>1</sup>, Guillermo León Roperó<sup>1</sup>, Juan A. Navas Cortés<sup>1</sup>, Blanca B. Landa del Castillo<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Córdoba, España

Los microorganismos endófitos pueden actuar como una defensa natural innata para hacer frente a la infección por organismos fitopatógenos que habitan el xilema como son *Verticillium dahliae* y *Xylella fastidiosa*. Hoy en día, se desconoce la gran mayoría de los microorganismos que residen en el xilema del olivo. Por lo tanto, este trabajo se centra en la caracterización de las comunidades bacterianas y fúngicas presentes en la savia y vasos xilemáticos del olivo mediante el uso de técnicas metagenómicas, y determinar el efecto del genotipo de olivo (Picual, Arbequina y Frantoio), variables agro-ambientales (fincas en Úbeda, Baena y Antequera, Andalucía) y estacional (otoño y primavera). Se determinaron un total de 993 ASVs bacterianos y 692 ASVs fúngicos que variaron principalmente en función del componente ambiental (localización geográfica), estacionalidad, y genotipo, en este orden. Se identificó una mayor riqueza en diversidad de bacterias en primavera y de hongos en otoño. Las muestras de xilema del tallo del cv. Picual creciendo en la finca de Úbeda mostraron la mayor riqueza fúngica. Globalmente, *Cutibacterium* (17.11%), *Pseudomonas* (7.00%) y *Anoxybacillus* (4.56%) fueron los géneros bacterianos más representativos mientras que un Ascomycota no cultivable fue el hongo más abundante (42.85%), seguido de *Aureobasidium* (28.96%) y *Phaeococcomyces* (6.99%). Nuestros resultados contribuyen a mejorar la caracterización del microbioma xilemático de olivo determinando los principales factores diferenciadores, lo que puede ser de gran utilidad en la búsqueda de microorganismos habitantes del xilema para un manejo más eficiente de las enfermedades vasculares del olivo.

Financing: Estudio financiado por los proyectos XF-ACTORS 727987 (EU-H2020), AGL2016-75606-R (MICINN y FEDER-EU) y 2020AEP125 (CSIC)

### Estudio de los mecanismos de adaptación en el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* mediante evolución experimental

**Antonio Di Pietro**<sup>1</sup>, Cristina López Díaz<sup>1</sup>, Dilay Hazal Ayhan<sup>2</sup>, Lucía Gómez Gil<sup>1</sup>, Li-Jun Ma<sup>2</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Departamento de Genética, Campus de Rabanales, Córdoba, España

(2) University of Massachusetts, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Amherst, MA, EEUU

El hongo patógeno *Fusarium oxysporum* provoca pérdidas devastadoras en más de un centenar de especies vegetales cultivadas e infecciones diseminadas en humanos inmunodeprimidos. El genoma de *F. oxysporum* contiene regiones accesorias ricas en transposones (TEs), que están asociadas a la capacidad de infectar determinadas especies vegetales. Sin embargo, el papel de los TEs en la adaptación no ha sido determinado experimentalmente. Aquí hemos utilizado un abordaje de evolución experimental, sometiendo un aislado clonal del hongo a 10 pasajes sucesivos a través de plantas de tomate o de placas con distintos medios. Las líneas evolucionadas mostraron alteraciones fenotípicas y estaban mejor adaptadas a las respectivas condiciones de selección. La re-secuenciación de estas líneas reveló que >60% de los cambios detectados corresponden a inserciones de TEs. Además, se identificaron mutaciones recurrentes en múltiples líneas evolucionadas de forma independiente bajo una determinada condición. Por ejemplo, 4 de las 5 líneas sometidas a pasajes por placas de medio completo portaban una inserción del TE Hormin en el mismo gen de función desconocida, y 3 de estas líneas acabaron adquiriendo una segunda mutación en *velvetB*, un gen regulador del desarrollo. Dichas mutaciones aumentaron drásticamente la competitividad en condiciones de placa, aunque también causaron una reducción significativa en el crecimiento invasivo y en la virulencia. Nuestros resultados demuestran el papel clave de los TEs en la capacidad de adaptación de *F. oxysporum* e identifican trayectorias evolutivas recurrentes que potencian la proliferación frente a la invasión y la patogénesis.

Financing: Esta investigación está financiada por el proyecto PID2019-108045RB-I00 del MICINN y el proyecto 27374-R del Programa Operativo FEDER Andalucía.



## Señales moleculares bacterianas en la simbiosis rizobio-leguminosa.

**Jose-Maria María Vinardell Vinardell<sup>1</sup>**, Sebastián Acosta-Jurado<sup>1</sup>, Pilar Navarro-Gómez<sup>1</sup>, Francisco Fuentes-Romero<sup>1</sup>, Cynthia Alias-Villegas<sup>1</sup>, Paula Ayala-García<sup>1</sup>, Irene Jiménez-Guerrero<sup>1</sup>, Pablo del Cerro<sup>1</sup>, Carlos Medina-Morillas<sup>1</sup>, José-Enrique Ruiz-Sainz<sup>1</sup>, Francisco-Javier Ollero-Márquez<sup>1</sup>, Francisco Pérez-Montaño<sup>1</sup>, Francisco-Javier López-Baena<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Microbiología, Biología, Avda. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, España

Los rizobios son proteobacterias del suelo capaces de establecer una simbiosis fijadora de nitrógeno con las leguminosas. Los rizobios infectan las raíces de estas plantas e inducen la formación de nuevos órganos llamados nódulos, que colonizan intracelularmente. Dentro de las células del nódulo, los rizobios se diferencian a bacteroides capaces de fijar N<sub>2</sub> y suministrar nitrógeno combinado a la planta, recibiendo a cambio compuestos orgánicos que le sirven de fuente de energía y C. El establecimiento de esta interacción requiere un complejo dialogo molecular entre ambos simbiontes, que comienza con la exudación de flavonoides por parte de la planta. Estos activan al regulador transcripcional NodD bacteriano, principal regulador positivo de un grupo de genes bacterianos relacionados con la simbiosis y que conforman el llamado regulón nod, responsable de, entre otros procesos, la producción de ciertas señales moleculares bacterianas implicadas en la interacción como los factores Nod y proteínas efectoras liberadas al interior de las células hospedadoras mediante un sistema de secreción de tipo 3. La modulación de la expresión del regulón nod es compleja y en ella pueden participar varias copias de NodD, así como otros reguladores transcripcionales positivos y/o negativos. Otras señales bacterianas implicadas en diversas fases de la interacción son diversos polisacáridos superficiales. En esta charla comentaremos estudios recientes de la regulación de la producción de señales moleculares rizobianas llevados a cabo en dos rizobios de que interaccionan con leguminosas de interés agronómico: *Sinorhizobium fredii* y *Rhizobium tropici*, simbiontes de soja y judía respectivamente.

Financing: Ministerio de Ciencia e Innovación (proyecto PID2019-107634RB-I00)



### Particularidades de la ruta Gac-Rsm en *Pseudomonas* asociadas a plantas

**María Trinidad Gallegos<sup>1</sup>**, María Dolores Ferreiro<sup>1</sup>

(1) Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC), Departamento de Microbiología del suelo y sistemas simbióticos, Profesor Albareda, 1, Granada, España

Las interacciones productivas entre plantas y bacterias, ya sean beneficiosas o patogénicas, requieren que las bacterias detecten, integren y respondan con éxito a los diferentes estímulos provenientes del ambiente y de las plantas. Para ello utilizan complejos sistemas de transducción de señales que controlan una amplia variedad de genes y funciones. Uno de ellos es la ruta reguladora global Gac-Rsm, que juega un papel clave en el control de los aparentemente diferentes estilos de vida de *Pseudomonas* beneficiosas y patogénicas de plantas, ya que coordina la adaptación y la supervivencia al tiempo que promueve la salud de las plantas (cepas de biocontrol) o la enfermedad (cepas patógenas). Las *Pseudomonas* que interactúan con plantas se caracterizan por poseer múltiples proteínas y ARNs Rsm. Además, se observa que, aunque los componentes de la ruta Gac-Rsm y los genes/rutas controlados sean similares, el resultado de su regulación puede ser opuesto. Por tanto, la identificación de los ARNm diana unidos por las proteínas Rsm y su modo de acción (represión o activación) es fundamental para explicar el fenotipo resultante. En general, varias características importantes de la cascada Gac-Rsm se conocen ahora a nivel molecular, particularmente en *P. protegens* CHA0, pero aún quedan muchas preguntas por resolver en otras *Pseudomonas* que interactúan con plantas, particularmente en las patógenas como *P. syringae* pv. *tomato*.

Financing: Proyectos BIO2014-55075-P y BIO2017-83533-P del FEDER/Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España - Agencia Estatal de Investigación.

# **SIMPOSIA**

## **Biotecnología Microbiana**

## Biotecnología alimentaria

### Implementar modelos de crecimiento microbiano es ahora más fácil gracias a biogrowth

**Alberto Garre**<sup>1</sup>, Jeroen Koomen<sup>1</sup>, Heidy den Besten<sup>1</sup>, Marcel Zwietering<sup>1</sup>

(1) Food Microbiology, Wageningen University, Research, P.O. Box 17, 6700 AA, Wageningen, the Netherlands

El estudio del crecimiento microbiano es una parte crucial de la microbiología de alimentos. Aunque existen diversos modelos de crecimiento microbiano, su implementación requiere de avanzados métodos estadísticos para el ajuste o la simulación. Estos problemas se ven acentuados bajo condiciones dinámicas, debido a la necesidad de simular o ajustar modelos basados en ecuaciones diferenciales. Esto puede ser una barrera difícilmente salvable para algunos científicos. Esta presentación describe el software biogrowth. El objetivo de este software es servir de herramienta para facilitar la implementación de modelos de crecimiento. Puede utilizarse para simular el crecimiento microbiano bajo condiciones estáticas o dinámicas. Estas predicciones pueden ser determinísticas (curvas de crecimiento) o incluir variabilidad/incertidumbre (intervalos de predicción). Además, permite el ajuste de modelos a diferentes tipos de datos (crecimiento isoterma o dinámico, ratios de crecimiento). El usuario puede elegir entre varios modelos comúnmente utilizados en microbiología predictiva (Baranyi, Gompertz, cardinal...). El software se ofrece en dos formatos: un paquete de R que puede servir para modelizar crecimiento dentro de workflows complejos (<https://cran.r-project.org/package=biogrowth>) y una aplicación web que sirve de interfaz amigable a las funciones incluidas en el paquete (<https://foodmicrowur.shinyapps.io/biogrowth/>). Ambos formatos están disponibles gratuitamente y el código está disponible en GitHub. Teniendo en cuenta la relevancia de los modelos de crecimiento en diferentes ámbitos de la microbiología de alimentos, creemos que biogrowth puede ser una herramienta de interés para un amplio grupo de científicos en el campo.

Financing: European Union's Horizon 2020 research and innovation programme; Marie Skłodowska-Curie Individual Fellowship grant No 844423 (FANTASTICAL).

## Estudio de la salida de componentes tras la exposición de *Staphylococcus aureus* a Pulsos eléctricos de alto voltaje.

**Víctor Freire**<sup>1</sup>, Giuseppe Lattanzio<sup>2</sup>, Irene Orera<sup>2</sup>, Pilar Mañas<sup>1</sup>, Guillermo Cebrián<sup>1</sup>

(1) Universidad de Zaragoza, Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2, Facultad de Veterinaria, Zaragoza, España

(2) Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Unidad de proteómica, Centro de Investigaciones Biomédicas Aragón (CIBA), Zaragoza, España

Aunque el calor es una tecnología adecuada para la obtención de alimentos seguros, su aplicación conlleva una serie de inconvenientes tales como pérdidas de calidad organoléptica y nutricional. Por ello, desde hace ya algunas décadas se vienen estudiando tecnologías alternativas de conservación que causen un menor impacto en dichas propiedades. Entre ellas, se encuentran los Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEAV), el objetivo de este trabajo fue ampliar el conocimiento existente sobre los mecanismos de inactivación bacteriana causados por los PEAV, a través del estudio de la salida de componentes intracelulares tras exponer células de *Staphylococcus aureus* a tratamientos de PEAV de diferente intensidad. La salida de la mayoría de componentes intracelulares fue prácticamente instantánea tras el tratamiento, pero la cantidad relativa liberada dependía de la molécula estudiada. Se observó una buena correlación entre la salida de todos los componentes estudiados (iones, RNA y proteínas) y la permeabilización de membrana, pero no así con la inactivación celular. El examen de los perfiles electroforéticos de las proteínas liberadas reveló una correlación entre la salida de proteínas citoplasmáticas de un peso molecular aproximado de entre 6 y 10 kDa y la inactivación celular. Los resultados obtenidos sugieren que el nivel de inactivación causado por tratamientos más largos a un campo eléctrico más bajo puede estar relacionado con la formación de poros de mayor tamaño. Ese trabajo contribuirá a diseñar tratamientos más efectivos para la inactivación microbiana por PEAV y, por tanto, facilitar su implementación a nivel industrial.

### Vinos Amontillados con una segunda crianza biológica

**Marina Ruiz-Muñoz**<sup>1</sup>, Gustavo Cordero-Bueso<sup>1</sup>, María Hernández-Fernández<sup>1</sup>, Jesús Manuel Cantoral-Fernández<sup>1</sup>

(1) Universidad de Cádiz, Área de Microbiología, Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, CASEM, Av. República Saharaui, s/n, Puerto Real, España

El Amontillado es uno de los vinos generosos más aclamados debido a su compleja y singular forma de elaboración. Esta comienza con una crianza biológica bajo velo de flor del vino base, con un contenido alcohólico de 15-15,5°. Cuando el enólogo lo considera, el vino resultante se encabeza hasta obtener una graduación entre 16-22°, perdiéndose el velo de flor y comenzando la segunda etapa de este proceso: la crianza oxidativa. El aumento paulatino de las temperaturas está provocando cambios sustanciales en el sector vitivinícola. En este sentido, a pesar del aumento de la toxicidad del etanol con la temperatura, hay evidencias de que las levaduras de velo de flor están siendo capaces de adaptarse a condiciones cada vez más hostiles. Recientemente se han encontrado barriles que contienen vino Amontillado ya evolucionado oxidativamente durante algunos años, con niveles de etanol por encima de 18°, en los que ha comenzado a formarse de nuevo un velo de flor, algo que hasta ahora no había sido descrito en la región. Se han analizado diversas muestras mediante técnicas tanto de microbiología clásica como de biología molecular, obteniendo que la mayoría de los aislados de levaduras de velo de flor son resistentes a concentraciones de etanol de hasta 19° y pertenecientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae*, como cabría esperar. Además, se ha observado una proporción de levaduras no-*Saccharomyces* mayor que en los velos de flor de vinos Fino y Manzanilla previamente analizados en las mismas bodegas.

Financing: Este trabajo está financiado por el proyecto FEDER-UCA18-106947.

## Bacterias lácticas para aliviar la toxicidad de metales

**Vicente Monedero García<sup>1</sup>**

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Biotecnología de Alimentos, Av. Agustín Escardino 7, Paterna (Valencia), España

La exposición aguda o crónica a metales tiene un importante impacto sobre la salud humana y afecta a millones de personas a nivel mundial. Aunque la principal vía de exposición para los metales/metaloides tóxicos más relevantes (por ejemplo, el mercurio y el arsénico) es la dieta, existen pocos datos sobre su toxicidad a nivel intestinal. Diversos estudios han demostrado que diferentes cepas de lactobacilos probióticos son capaces de capturar metales, por lo que podrían ser utilizadas como herramientas para reducir la biodisponibilidad de estos tóxicos en el intestino. Por otra parte, los probióticos podrían revertir algunos de los efectos nocivos de la exposición a nivel de la mucosa intestinal, como la disrupción de la integridad de la barrera y la disbiosis. Hemos caracterizado la interacción de cepas de lactobacilos con mercurio y arsénico, estudiando qué componentes bacterianos y mecanismos intervienen en el proceso. Mediante modelos *in vitro* con alimentos reales contaminados hemos determinado cómo la matriz alimentaria y el proceso digestivo afectan a la interacción bacteria-metal y empleando modelos de células epiteliales intestinales hemos comprobado el efecto protector de algunos probióticos frente a la toxicidad. El empleo de modelos animales de exposición aguda o crónica nos está ayudando a comprender mejor el efecto tóxico de los metales a nivel intestinal y a evaluar el uso de probióticos para paliarlos, con el objetivo de diseñar estrategias basadas en ellos para reducir el riesgo en poblaciones expuestas.

Financing: Este trabajo se ha financiado mediante los proyectos AGL2015-68920-R y RTI2018-098071-B-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación de España

## Microbiología innovadora para la industria alimentaria

### Mercedes Tamame<sup>1</sup>

(1) Instituto de Biología Funcional y Genómica, IBFG. CSIC-Universidad de Salamanca, Regulación Génica y Diferenciación Celular, C/ Zacarías González, 2. Campus Unamuno,, 37007 Salamanca, España

Numerosas especies de levaduras, bacterias lácticas o asociaciones simbióticas de las mismas fermentan diversas materias primas, confiriendo a los alimentos y bebidas de cada país una serie de características nutricionales, organolépticas y sensoriales distintivas. Los inóculos puros o cepas comerciales que se emplean en procesos biotecnológicos estandarizados para elaborar panes y vinos a gran escala garantizan las fermentaciones y la reproducibilidad de esos productos. Sin embargo, los panes de fermentación rápida con levadura comercial tienen baja calidad nutricional y corta vida media. Los vinos de una misma región geográfica y variedades de uva tienden a ser menos diferenciados empleando levaduras similares. Así, existe una demanda para la selección de cepas nuevas para fermentar materias primas tradicionales o innovadoras. El interés por las masas madre tradicionales de calidad ha adquirido renovado interés debido a las ventajas que éstas pueden conferir al pan. Sin embargo, el uso de masa madre viva a escala industrial tiene una serie de inconvenientes. Con el objetivo de contribuir a satisfacer la necesidad de nuevos inóculos para procesos fermentativos innovadores, hemos desarrollado proyectos recientes en colaboración con empresas de panificación y enológicas. Hemos explorado la biodiversidad y el potencial biotecnológico de algunas cepas seleccionadas entre las 433 levaduras y 762 bacterias lácticas aisladas de granos, harinas y masas madre españolas. Se han obtenido estirpes optimizadas y nuevos híbridos entre levaduras de panificación y enológicas aptos para alimentación (no OMG). Finalmente se han formulado inóculos mixtos de levaduras y bacterias lácticas para masas madre inoculadas modernas

Financing: RTC-2015-4391 (2015-2018) INNOSTARPAN; RTC-2017-6361-2 (2017-2021) INNOMICROVIN. Acción COST-CA18101 "Sourdomics" (2019-2024); Escalera de Excelencia CLU 2017 03, P.O. FEDER de Castilla y León 14 20; IES007P17).



## Microorganismos y procesos industriales

### Diseño de un péptido señal mejorado para la producción de enzimas recombinantes en levadura

**Gonzalo Molpeceres García<sup>1</sup>**, Pablo Aza Toca<sup>1</sup>, Felipe de Salas de la Cuadra<sup>1</sup>, Susana Camarero Fernández<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Biotecnología Microbiana y de Plantas, Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, España

*Saccharomyces cerevisiae* desempeña un papel importante como sistema de expresión heteróloga de proteínas debido a su fácil manipulación, bajos requerimientos y capacidad para realizar las modificaciones postraduccionales en las proteínas. Una de las estrategias más utilizadas para incrementar la secreción es el uso de péptidos señal que determinan la vía de secreción. Históricamente, la secuencia pre-prolíder de la feromona factor  $\alpha$  de *S. cerevisiae* ha jugado un papel importante en la producción de proteínas recombinantes. El uso de este péptido señal en combinación con la evolución dirigida de enzimas ha permitido conseguir la difícil expresión de lacasas fúngicas en *S. cerevisiae*, obteniendo diferentes secuencias señales evolucionadas. Sin embargo, el diseño de un péptido señal optimizado, de carácter universal, que incremente la producción de diversas enzimas es un desafío pendiente. En este estudio, se aplicaron dos estrategias paralelas de ingeniería del pre-prolíder del factor  $\alpha$  para mejorar la producción de enzimas analizando el efecto de mutaciones acumuladas en dicha secuencia a lo largo de sucesivas rondas de evolución dirigida y sus posibles interacciones epistáticas. Ambos enfoques coincidieron en el efecto sinérgico de cuatro mutaciones contenidas en el péptido señal optimizado final, que mejoraron notablemente la secreción de varias oxidorreductasas e hidrolasas fúngicas. Además, se proporcionan directrices adicionales para mejorar aún más la producción heteróloga de una enzima en particular mediante la mutagénesis saturada combinatorial de dos posiciones del péptido señal fusionado a la proteína de interés. Los resultados obtenidos ofrecen un importante avance para la producción de biocatalizadores de interés industrial.

Financing: Spanish project BIO2017-86559-R. WoodZymes project funded by the BioBased Industries Joint Undertaking (JU) under grant agreement No 792070

### Desafiando el metabolismo de *Rhodospirillum rubrum* con monóxido de carbono: crecimiento a altas concentraciones de un gas tóxico.

**Manuel Santiago Godoy**<sup>1</sup>, Santiago Roque de Miguel Sanz<sup>1</sup>, María Auxiliadora Prieto Jimenéz<sup>1</sup>  
(1) Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas - CSIC, Biotecnología Microbiana y de Plantas, Ramiro de Maeztu 9, Madrid, España

La bacteria púrpura no del azufre *Rhodospirillum rubrum*, ha sido ampliamente estudiada por su gran versatilidad metabólica, pudiendo consumir una amplia gama de sustratos como el gas de síntesis (syngas) y ácidos grasos volátiles (VGA), como el acetato. Además, su complejo metabolismo les permite sintetizar bioplásticos (PHB), derivados del licopeno y combustibles (hidrógeno). En el presente trabajo se estudia el crecimiento anaeróbico de esta bacteria en diferentes concentraciones de monóxido de carbono (CO, principal componente del syngas) con acetato como fuente secundaria de carbono, en presencia o ausencia de luz. Como resultado, se observó un crecimiento en luz óptimo entre presiones parciales de CO (ppCO)= 0,2-0,6 bar. Sin embargo, una vez que el CO se consumió completamente, las células entraron en lisis después de unos días. Este fenómeno no se observó a altas concentraciones de CO en las que el mismo no se consumió completamente (ppCO inicial > 0,8 bar). La duración de la fase de adaptación aumentó a mayor ppCO inicial, demostrando los efectos tóxicos del CO. Si bien el acetato se consumió completamente en luz, en oscuridad su concentración final fue inversamente proporcional al CO consumido, demostrando la dependencia de CO como fuente de energía en ausencia de luz y con fuentes de carbono cuyo nivel de reducción es similar al de la biomasa. Estos resultados sugieren que es posible el crecimiento de *R. rubrum* (y concomitantemente la producción de PHB o licopeno) a altas concentraciones de CO, aunque mejorar la adaptación inicial es crucial para acelerar el proceso.

Financing: Proyecto Mix Up - Grant agreement No 870294.

## Aplicaciones en biomedicina de las bacterias magnetotácticas y sus magnetosomas, y su estudio en modelos 3D

**Alicia Gascon Gubieda**<sup>1</sup>, Lucia Gandarias<sup>1</sup>, Ana García Prieto<sup>2</sup>, Ana Abad<sup>1</sup>, Maria Luisa Fernández-Gubieda<sup>3</sup>, Alicia Muela<sup>1</sup>

(1) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Dpto. Inmunología, Microbiología y Parasitología, 48940 Leioa, España

(2) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Dpto. Física Aplicada I, 48013 Bilbao, España

(3) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Dpto. Electricidad y Electrónica, 48940 Leioa, España

Las bacterias magnetotácticas (MTB) son un grupo de bacterias capaces de alinearse con el campo magnético terrestre gracias a unos orgánulos llamados magnetosomas que se organizan en cadena. Los magnetosomas son nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) o greigita ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ), con una morfología y tamaños muy uniformes. Estas propiedades, además de su baja toxicidad y biocompatibilidad, hacen que estos sean buenos candidatos para aplicaciones biomédicas. Algunas de las aplicaciones de MTB [1] y magnetosomas [2] en investigación para cáncer incluyen: su uso como generadores de calor en tratamiento de hipertermia magnética, como portadores de medicamentos para su liberación localizada, y como sondas para resonancia magnética. Para investigar estas aplicaciones, se requiere hacer estudios *in vitro* y *in vivo*, y hasta ahora, la mayoría de los estudios se han llevado a cabo en cultivos 2D tradicionales o en ratones. Nuestro grupo está desarrollando un nuevo método para estudiar las aplicaciones biomédicas de las MTB y sus magnetosomas en esferoides. Los esferoides son un modelo 3D muy utilizado, en los que las células generan matriz extracelular y se adhieren unas a otras, creando gradientes de nutrientes y proliferación típicos de los tumores sólidos. Por tanto, analizar las propiedades y los efectos de MTB y magnetosomas en esferoides nos permitirá entender sus propiedades en un modelo de tumor 3D biomimético, acortando la distancia entre los cultivos 2D tradicionales y los ensayos en animales. [1] Gandia, et al., *Small*, 15(41):1902626, 2019. [2] Muela, et al., *J. Phys. Chem. C.*, 120(42):24437-48, 2016.

### Biorremediación de contaminantes emergentes con microorganismos nativos de ambientes contaminados

**Elisabet Aranda**<sup>1,2</sup>, Gabriela Ángeles de Paz<sup>2</sup>, Ulises Conejo-Saucedo<sup>2</sup>, Tatiana Robledo-Mahón<sup>3</sup>, Alejandro Ledezma-Villanueva<sup>4</sup>, Rym Mitbaá<sup>5</sup>, Dario R. Olicón-Hernández<sup>6</sup>, Jessica Purswani<sup>2,7</sup>, Clementina Pozo<sup>2,7</sup>, Maximino Manzanera<sup>1,2</sup>, Jesús González López<sup>1,2</sup>, Concepción Calvo<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Granada, Microbiología, Farmacia, Campus de Cartuja s/n, Granada, España

(2) Instituto Universitario de Investigación del Agua. Universidad de Granada, Microbiología Ambiental, C/ Ramón y Cajal, n4 Edificio Fray Luis, 18071, Granada, España

(3) Czech University of Life Sciences, Department of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources, Kamýcká 129, 16500, Prague 6-Suchbát, Czech Republic

(4) Universidad Autónoma de Nuevo León, Laboratorio de Micología y Fitopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Universidad, S/N Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, CP 66451, Nuevo León, Mexico

(5) University of Sfax, Laboratory of Enzyme Engineering and Microbiology, National School of Engineers of Sfax, BP 1173, 3038, Sfax, Túnez

(6) Universidad Iberoamericana, Ciudad de México., Departamento de Ingeniería química, industrial y de alimentos., Prolongación Paseo de Reforma 880. Lomas de Santa Fe. Alvaro Obregon. CP 01219., Ciudad de México, México

(7) Universidad de Granada, Microbiología, Ciencias, Campus Fuentenueva, s/n 18071, Granada, España

Los contaminantes emergentes representan un grupo de sustancias ampliamente distribuidas en el ambiente y la mayoría de ellas no están reguladas. Se sabe que la mayoría de ellas resisten la degradación microbiana y sus efectos en los organismos vivos son aún desconocidos. Los hongos representan la biomasa más abundante en los suelos y poseen capacidades de biorremediación muy versátiles. Además de ser unos de los impulsores clave en los ecosistemas, su contribución a la descomposición y el reciclaje de nutrientes, y su bien documentada capacidad para transformar gran cantidad de compuestos xenobióticos, los convierten en microorganismos muy adecuados para la recuperación de suelos y aguas contaminadas. En el ámbito de esta línea de investigación, se han abordado distintas investigaciones en las que se han aislado, seleccionado e identificado comunidades de hongos de diferentes ambientes con técnicas cultivables y de secuenciación masiva, incluidos suelos áridos, así como comunidades de hongos y bacterias durante procesos de enriquecimiento con fármacos procedentes de lodos de depuradora. Además, se han seleccionado e identificado diferentes especies con capacidad para biodegradar/biotransformar contaminantes emergentes, y se ha profundizado en el estudio de combinaciones de hongos y bacterias para la formulación de comunidades sintéticas con capacidades degradativas óptimas. Estos aislados se han empleado con éxito como inoculantes en procesos de bioaumento de compostaje de lodos de depuradora y en biorreactores para el tratamiento de aguas hospitalarias. Los resultados obtenidos indican un alto potencial de estos microorganismos nativos de ambientes contaminados para su uso en procesos reales de biorremediación.

Financing: CTM 2017-84332-R (MINECO/AEI/FEDER/UE)]

## Consortios microbianos en aplicaciones industriales

**Jorge Barriuso<sup>1</sup>**

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

La actividad humana en el planeta genera un gran volumen de residuos que en muchas ocasiones son contaminantes y difíciles de gestionar, entre los más abundantes se encuentran los derivados de la agricultura (e.g. biomasa lignocelulósica) y los derivados de la industria (e.g. CO<sub>2</sub> y plásticos). Por otra parte, nuestra actividad productiva necesita disminuir su dependencia del petróleo para obtener productos químicos, materiales y combustibles. En el marco de la economía circular los residuos agro-industriales pueden ser utilizados como sustratos renovables y transformados en productos de valor añadido, como biopolímeros y biocombustibles, utilizando herramientas biotecnológicas. El uso de microorganismos en aplicaciones industriales normalmente se restringe a monocultivos o al uso de sus enzimas de forma aislada. En nuestro laboratorio, utilizando herramientas de la biología sintética y de sistemas, explotamos el potencial de consorcios microbianos compuestos por organismos con distintas capacidades metabólicas. Aprovechamos y fomentamos las capacidades naturales de estos microorganismos para cooperar, estudiamos el comportamiento del microbioma, y diseñamos consorcios "sintéticos" con distintas aplicaciones biotecnológicas. En este trabajo se presentará como hongos saprófitos, con un amplio arsenal de enzimas degradativas, y bacterias ambientales, con un metabolismo versátil, pueden asociarse y coordinar sus actividades metabólicas utilizando mecanismos de comunicación célula a célula conocidos como mecanismos de quorum sensing. Estos consorcios pueden formar biofilms catalíticos, lo que mejora los procesos de biocatálisis degradando residuos agro-industriales y produciendo compuestos de valor añadido. Actualmente trabajamos en la modificación genética y modelado, tanto metabólico como ecológico, de estos consorcios para mejorar su eficacia.

Financing: Proyectos BIO2015-73697-JIN (MINECO/FEDER), MINECO/FEDER BIO2015-68387-R, CM S2013/MAE-2907, S2018/EMT-4459, IBISBA1.0 (H2020 730976), BioSFerA (H2020 884208) and CO2SMOS (H2020 101000790).

### **Diversidad microbiana y productos naturales: nuevo paradigma en el descubrimiento de nuevas moléculas bioactivas.**

**Olga Genilloud<sup>1</sup>**

(1) Fundación Medina, Granada

Los productos naturales de origen microbiano han sido tradicionalmente una de las fuentes más relevantes para el descubrimiento de nuevos fármacos, especialmente en el caso de los antibióticos, antifúngicos y antiparasitarios. Representan un espacio químico único con una amplia complejidad estructural, y su selectividad y potencia es el resultado de una larga selección evolutiva en la generación de moléculas con propiedades adecuadas para su interacción con una amplia diversidad de dianas biológicas. MEDINA es un centro de referencia en la investigación en de productos naturales de origen microbiano y cuenta con una de las mayores colecciones de cultivos y librerías de extractos para la búsqueda de nuevas moléculas con aplicación en biomedicina y biotecnología. Una de nuestras líneas de trabajo se centra en explorar el potencial metabólico de representantes minoritarios de las diferentes comunidades microbianas e implementar nuevas aproximaciones que permitan aumentar la diversidad de metabolitos producidos por estos microorganismos. Mediante la integración de aproximaciones de minería de genomas para la identificación de nuevas rutas de biosíntesis en cepas de alto interés y la aplicación de herramientas metabolómicas para el análisis de la diversidad de los extractos microbianos, hemos generado librerías especializadas que han sido utilizadas como punto de partida para la búsqueda de nuevas moléculas con potencial como nuevos fármacos. Hemos descrito recientemente diferentes familias de nuevos compuestos antibióticos y antiparasitarios con interesantes características químicas y actividades biológicas que servirán de ejemplo para describir las aproximaciones desarrolladas en la búsqueda de nuevos productos naturales.



## Microorganismos y nuevos materiales

### Lipasas: biocatalizadores para la síntesis e hidrólisis de ácido poliláctico

**Carlos Murguiondo Delgado<sup>1</sup>**, María Jesús Martínez<sup>1</sup>, Alicia Prieto\*<sup>1</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Dpto. de Biotecnología Microbiana y de Plantas, c/ Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, España

La creciente preocupación de los científicos y la sociedad por el impacto medioambiental de los plásticos no renovables ha incentivado la búsqueda de materiales alternativos, comúnmente conocidos como bioplásticos. Entre ellos, los poliésteres alifáticos, y en especial el ácido poliláctico (PLA), son candidatos prometedores para reemplazar los plásticos convencionales por su biocompatibilidad y termoplasticidad. El PLA puede ser producido mediante dos rutas sintéticas principales: la policondensación directa del ácido láctico (LA) o la polimerización por apertura del anillo (ROP) de la lactida, el dímero cíclico del LA. El LA se produce a partir de fuentes renovables no fósiles mediante la fermentación de glucosa, siendo deseable completar un ciclo de vida circular con la biodegradación del PLA. La policondensación directa y la ROP pueden ser catalizadas químicamente o enzimáticamente, y la biocatálisis tiene como ventaja añadida su alta enantio- y regioselectividad. Entre las enzimas utilizadas en estas reacciones predominan las lipasas, que catalizan tanto la hidrólisis como la síntesis de ésteres, dependiendo de las condiciones de reacción. La misma enzima que cataliza la ROP de lactida a PLA en solventes orgánicos, despolimeriza el PLA en soluciones acuosas, aunque ambas reacciones son difíciles. En este trabajo, presentaremos los resultados obtenidos con las enzimas comerciales CRL (de *Candida rugosa*), Eversa y CalA (de *Candida antarctica*), tanto en síntesis como en hidrólisis de PLA. En mayor o menor medida, las tres enzimas catalizan ambos tipos de reacciones, y se está estudiando su inmovilización como estrategia para mejorar su actividad y reciclabilidad.

Financing: Programa RETOPROSOST-2-CM, P2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid) Proyecto BioSFerAH2020-LC-SC3-2019-NZE-RES-CC-884409 (EU) Proyecto GLYSUSRTI2018-093683-B-I00 (MICIU/AEI/FEDER)



### Obtención y caracterización de nanocristales de celulosa bacteriana mediante tratamiento enzimático

**Carolina Buruaga-Ramiro**<sup>1,2</sup>, Noelia Fernández Gándara<sup>1</sup>, Melina Vieiros Rodríguez<sup>1</sup>, L. Verónica Cabañas-Romero<sup>1,2</sup>, Susana V. Valenzuela Mayorga<sup>1,2</sup>, Pilar Diaz Lucea<sup>1,2</sup>, Josefina Martínez Martínez<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Barcelona, Departamento de Genética, Microbiología y Estadística, Facultad de Biología, Avenida Diagonal 643, Barcelona, España

(2) IN2UB - Instituto de Nanociencia y Nanotecnología, Avenida Diagonal 645, Barcelona, España

Recientemente, el interés en la celulosa se ha desplazado hacia materiales de la nanoescala que incluyen celulosa bacteriana (CB), nanofibrillas de celulosa (NFC) y nanocristales de celulosa (NCC). La CB es un polisacárido extracelular sintetizado por algunas bacterias, cuya composición química es idéntica a la vegetal, pero presentan un mayor grado de pureza, una gran elasticidad, buena resistencia mecánica, una mayor capacidad de retención de agua y es biocompatible. Los NCC son partículas rígidas con forma de varilla que cuentan con una anchura que oscila entre los 3-70 nm, un largo de entre 50 nm y varias micras, están compuestas únicamente por celulosa y son altamente cristalinas. Tienen una baja densidad, una elevada área superficial y pueden ser funcionalizados debido a los grupos laterales reactivos -OH. Las ventajas del uso de NCC están relacionadas no sólo con sus propiedades físicoquímicas sino también con su biodegradabilidad, renovabilidad, sostenibilidad, abundancia y biocompatibilidad. En este trabajo se produjeron NCC de celulosa bacteriana (NCCB), a partir de un proceso más sencillo y amigable con el medioambiente que la tradicional hidrólisis ácida con ácido sulfúrico o ácido clorhídrico. Mediante una digestión enzimática con monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMOs) y glicosil hidrolasas se obtuvieron unos NCCB de entre 60 nm y 1 µm de longitud y 11 nm de ancho, con forma de varilla y con una estructura muy ordenada, cristalina, que carecía de partes amorfas. Sus propiedades permitieron su uso como agente reforzante en la hidrofobización de soportes celulósicos de origen vegetal.

## Nanopartículas de plata biogénicas muestran actividad antibacteriana, capacidad como sensores de metales pesados y catalizan la degradación de colorantes.

**Carlos Pernas Pleite**<sup>1</sup>, Irene Martín Andrés<sup>1</sup>, Amparo Conejo Martínez<sup>1</sup>, Irma Marín Palma<sup>1</sup>, José P. Abad Lorenzo<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Calle Darwin 2 Edificio de Biología Cantoblanco, Madrid, España.

Los nanomateriales, y entre ellos las nanopartículas, tienen muchas aplicaciones y existen diversos métodos de síntesis. En particular, la producción de nanopartículas de plata (AgNPs) por métodos biológicos tiene las ventajas de su sencillez y del uso de sustancias que no son potencialmente dañinas para el medio ambiente, como en otros métodos químicos. Se han obtenido AgNPs usando sobrenadantes de cultivos de un aislado de *Pseudomonas fulva*, procedente del Río Tinto (Huelva), en medio nutritivo, con y sin NaCl, y en fases exponencial y estacionaria de crecimiento. Se ha iniciado un estudio de las posibles aplicaciones biotecnológicas de las AgNPs obtenidas como: Antibacterianos (CI50, CMI y CMB) e inhibidores de la formación de biofilms (CIB50) observándose actividad máxima de las procedentes de sobrenadantes sin NaCl y de fase exponencial. Sensores de metales pesados en medios acuosos, detectándose distintas sensibilidades a los metales (Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) con máxima para plomo y mínima para zinc. Catalizadores en la degradación de distintos colorantes (azul índigo, cristal violeta, naranja de metilo, azul de bromofenol, verde malaquita, azul de Coomassie, 4-nitrofenol) mediada por NaBH<sub>4</sub> o por K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. Se han observado diferencias en el efecto catalizador de las AgNPs, dependiendo del pH en el que se desarrolla la reacción y del agente químico oxidante o reductor empleado. Uno de los mejores resultados se obtuvo en la degradación de azul índigo por oxidación catalizada por AgNPs. Se expondrá la metodología de síntesis, la caracterización físico-química de las AgNPs y sus aplicaciones.

Financing: PROYECTO SPID2019X104812I00

### Engineering bacteria for the production of tailored bacterial polyesters

**M. Auxiliadora Prieto<sup>1</sup>**

(1) Polymer Biotechnology Group, Interdisciplinary Platform for Sustainable Plastics Towards a Circular Economy, Spanish National Research Council (SusPlast-CSIC), Centro de Investigaciones Biológicas «Margarita Salas» (CIB-CSIC), 28040 Madrid, Spain.

Environmental pollution due to the widespread consumption of petroleum-based polymers has hastened the development of biodegradable and environmentally friendly materials. Bacterial biopolymers have attracted much attention over the last decade due to their sustainable production, biodegradability and to the fact that their properties can be altered by new technologies such as synthetic and systems biology combined with advanced materials approaches, providing pathways to diversify their structure and functional complexity. This allows expanding the catalogue of available biomaterials beyond that which exists in nature, as well as extending their potential applications. In the context of the Circular Economy, bacteria are able to grow and produce materials of interest from complex carbon sources such as industrial and municipal wastes. It entails developing bioprocesses in order to up-cycle waste into added-value materials with application in numerous industrial sectors (e.g. packaging, biomedicine). Bacteria produce a broad range of polymers as part of their inherent physiology. An example is the family of polyhydroxyalkanoates (PHAs), that are linear, intracellular polyesters of R-3-hydroxyalkanoate units that accumulate in the cytoplasm as hydrophobic inclusions or granules (100-500 nm) coated with a series of granule-associated proteins (GAPs) involved in the PHA metabolism and granule formation. Bacterial cell factories for PHAs production have been extensively reported in the literature over the last three decades. Among them, *Pseudomonas putida* constitutes an excellent model to study and manipulate PHA biosynthesis from a wide variety of substrates. Different approaches to engineering *P. putida* for the production of functional PHAs will be discussed.

Financing: -Horizon 2020 # 814418 (Sinfonia project) and 870294 (Mix-Up project). -CAM (P2018/NMT4389)-BIO2017-83448-R

## Engineering microbes to grow materials with DNA-programmed functionalities

**Tom Ellis<sup>1</sup>**

(1) Imperial College London, Bioengineering, London, UK

Plants produce many of the most important materials we use every day, and a single plant can produce many different types of materials, despite every cell containing the same genome. Synthetic biology offers a new opportunity to learn how to write DNA programs that make new materials with diverse functions and properties. Our group uses microbes proficient in producing the base polymer of all plant-life – cellulose – and writes modular DNA programs to control and diversify the materials these cells produce. We use synthetic biology to engineer bacteria and yeast to sense spatial constraints, chemical signals and light, and in response change their behaviour and produce proteins as the material is grown. We have now further applied synthetic biology to recreate the yeast-bacteria relationship seen naturally in Kombucha tea fermentation and are able to use a synthetic co-culture to produce new cellulose-based materials with modular biosensor and catalytic properties. Through modular reprogramming and the engineering of specialisation, our microbial cultures create a new class of engineered living materials.

Financing: EPSRC

### Materiales híbridos funcionales con actividad antibacteriana

**Margarita Darder<sup>1</sup>**

(1) Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM), CSIC, c/ Sor Juana Inés de la Cruz 3, Madrid

El diseño de nuevos materiales con propiedades antimicrobianas puede contribuir en la lucha contra las infecciones causadas por microorganismos. La versatilidad que ofrecen las estrategias de síntesis de materiales híbridos funcionales, en los que se ensamblan componentes de naturaleza orgánica (o biológica) e inorgánica, permite modular las características de los materiales a desarrollar y dotarlos de las propiedades deseadas. La preparación de materiales con actividad antimicrobiana resulta de gran interés para aplicaciones biomédicas como el desarrollo de implantes, apósitos para tratamiento de heridas, etc., pero también es importante en otras áreas como la industria alimentaria para el desarrollo de materiales de envasado protectores que eviten la contaminación de los alimentos, en la industria textil o en la agricultura. Los materiales con propiedades biocidas pueden prepararse mediante encapsulación de especies con actividad biocida que se pueden ir liberando de forma gradual, o bien puede ser diseñados de forma que el agente bioacida permanezca anclado en el material. Generalmente, los compuestos incorporados son antibióticos, polímeros catiónicos, nanopartículas metálicas o de óxidos metálicos, etc. En nuestro grupo de investigación hemos desarrollado distintos materiales híbridos basados en la modificación de arcillas naturales con antibióticos (gentamicina o neomicina) que son luego dispersadas en una matriz biopolimérica para preparar recubrimientos antibacterianos. También hemos desarrollado otro tipo de material híbrido de tipo MOF ("metal-organic framework") que incorpora cobre y actúa como catalizador en la producción de óxido nítrico, siendo eficaz en la eliminación de bacterias como *E. coli* y *S. epidermidis*.

## Microbiología Sintética

### CellRepo: un sistema de control de versiones para microbiólogos

**Jonathan Tellechea Luzardo<sup>1</sup>**, Leanne Hobbs<sup>1</sup>, Natalio Krasnogor<sup>1</sup>

(1) Universidad de Newcastle, ICOS, Computing, Newcastle upon Tyne, UK

Los esfuerzos en el campo de la biología sintética y la biotecnología conducen habitualmente al desarrollo de nuevas cepas microbianas programadas con comportamientos específicos. Esta producción de rápido crecimiento se está volviendo difícil de rastrear y dificulta el intercambio de información confiable sobre cepas. La falta de trazabilidad afecta a la comunicación entre los laboratorios de investigación y conduce a una menor reproducibilidad experimental, principalmente debido a una documentación deficiente de la cepa. Para mejorar esta situación y contribuir a una documentación de ingeniería genética más confiable, mejor y más transparente y a una mejor trazabilidad de las cepas, este trabajo presenta nuevas herramientas para vincular físicamente cepas microbianas a su huella digital. Esto se logra en base a una nueva clave de ADN única y a protocolos de firma asociados. La clave o código de barras de ADN es un enlace único a un repositorio en línea que rastrea información de tipo parental y específica de la cepa, como recursos in silico (secuencias, modelos, simulaciones...) o datos in vivo / in vitro (protocolos, resultados...). En conjunto, esta investigación contribuye a hacer rastreable la biología sintética, a ayudar a la transferencia de información biológica a través de secuencias de ADN únicas y a integrar datos in vivo e in silico.

### Diversidad de mecanismos de resistencia contra podovirus en *Marinomonas mediterranea*

**Aroa Rey Campa**<sup>1</sup>, Patricia Elío Lucas<sup>1</sup>, Andrea Martínez Cazorla<sup>1</sup>, Carlos Mateos Sánchez<sup>1</sup>, Christian José Martínez Jiménez<sup>1</sup>, Natalia Muñoz Rodríguez<sup>1</sup>, Antonio Sánchez-Amat<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Murcia, Genética y Microbiología, Facultad de Biología, Calle Campus Universitario, 5, 30100 Murcia, Murcia, España

En los últimos años la dinámica de infección entre bacterias y bacteriófagos (fagos) ha ganado especial atención. Por un lado, el uso de fagos como agentes de control frente a infecciones bacterianas se está comenzando a explotar, tanto en clínica como en industria. Por otro lado, y gracias a la revolución causada por los sistemas CRISPR-Cas y sus múltiples aplicaciones en biotecnología, los sistemas de defensa bacterianos frente a fagos se están investigando en gran detalle. *Marinomonas mediterranea* MMB-1 es una bacteria marina que posee un gran número de mecanismos de resistencia, incluyendo dos sistemas CRISPR-Cas: I-F y III-B, que colaboran en la resistencia frente a podovirus. Con el fin de profundizar en el conocimiento de la diversidad de mecanismos de resistencia, se han aislado cepas adicionales de *M. mediterranea* y de podovirus. Los resultados obtenidos han revelado que el patrón de resistencia varía enormemente según la cepa considerada. Mientras que en la cepa MMB-1 la resistencia a todos los podovirus aislados está mediada por CRISPR-Cas, en las cepas MMB-2 y MMB-3 el mecanismo de resistencia es independiente a la presencia de estos sistemas. Además, tanto la capacidad de transferencia de plásmidos mediante conjugación como la inserción de transposones son diferentes en las cepas MMB-1 y MMB-3 comparado con la MMB-2. En conjunto, estos resultados resaltan la variedad de sistemas de defensa con diferentes dianas y mecanismos en las distintas cepas de una misma especie.

Financing: BFU2017-85464-P, Ministerio de Economía Industria y Competitividad y 20883/PI/18 Fundación Séneca, Comunidad Autónoma Región de Murcia, cofinanciados por fondos FEDER



## Un enfoque multiómico permite entender cómo *Pleurotus eryngii* transforma el material lignocelulósico no leñoso

**Ander Peña**<sup>1</sup>, Rashid Babiker<sup>1</sup>, María I. Sánchez-Ruiz<sup>1</sup>, Delphine Chaduli<sup>2</sup>, Anna Lipzen<sup>3</sup>, Mei Wang<sup>3</sup>, Mansi Chovatia<sup>3</sup>, Jorge Rencoret<sup>4</sup>, Gisela Marques<sup>4</sup>, Teeratas Kijpornyongpan<sup>5</sup>, Davinia Salvachúa<sup>5</sup>, Susana Camarero<sup>1</sup>, Vivian Ng<sup>3</sup>, Ana Gutiérrez<sup>4</sup>, Igor V. Grigoriev<sup>3,6</sup>, Marie-Noëlle Rosso<sup>2</sup>, Ángel T. Martínez<sup>1</sup>, Francisco Javier Ruiz-Dueñas<sup>1</sup>

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

(2) INRAE, Aix Marseille Univ, Biodiversité et Biotechnologie Fongiques, Marseille, France

(3) US Department of Energy (DOE), Joint Genome Institute (JGI), Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA, USA

(4) Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Seville, Spain

(5) Renewable Resources and Enabling Sciences Center, National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, USA

(6) University of California, Department of Plant and Microbial Biology, Berkeley, CA, USA

*Pleurotus eryngii* es un hongo de prados y pastizales de interés biotecnológico por su capacidad para transformar el material lignocelulósico no leñoso. En este estudio combinamos análisis transcriptómicos, exoproteómicos y metabolómicos con objeto de ofrecer una explicación sobre los aspectos enzimáticos relacionados con la degradación de la paja de trigo. Durante la fase temprana de crecimiento encontramos un conjunto de enzimas extracelulares inducidas y constitutivas formado por glicosil hidrolasas, polisacárido liasas y carbohidrato esterasas activas sobre polisacáridos, lacasas activas sobre lignina, y una cantidad sorprendente de aril-alcohol oxidasas (AAOs). A tiempos largos identificamos una mayor diversidad y abundancia de enzimas, representada por oxidorreductasas implicadas en la despolimerización de celulosa y lignina, muchas de ellas inducidas desde la fase temprana de crecimiento. Estas enzimas oxidativas incluyeron monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMOs), celobiosa deshidrogenasa implicada en la activación de las LPMOs, y peroxidasas ligninolíticas (principalmente manganeso peroxidasas), junto a una gran abundancia de AAOs productoras de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Algunas de las enzimas más relevantes activas sobre polisacáridos aparecieron unidas a módulos de unión a celulosa. Esto se relacionó con el hábitat de *P. eryngii*. También elucidamos aspectos del catabolismo intracelular de compuestos aromáticos, un tema poco investigado en los basidiomicetos degradadores de lignina. Este enfoque multiómico revela que, aunque la descomposición de la paja de trigo no se traduce en grandes cambios (de acuerdo con análisis de 2D-NMR, entre otros), se produce la activación de enzimas hidrolíticas y oxidativas de gran interés biotecnológico en procesos dirigidos al aprovechamiento de la biomasa vegetal.

Financing: Proyectos GENOBIOREF (BIO2017-86559-R), MICINN (cofinanciado con fondos FEDER); PIE-202120E019yPIE-201620E081,CSIC;ycontratosDE-AC02-05CH11231yDE-AC36-08GO28308, U.S. DOE

### Ingeniería metabólica y biología sintética como herramientas para microbiología industrial: De monocultivos a comunidades microbianas sintéticas

**Rodrigo Ledesma-Amaro<sup>1</sup>**

(1) Imperial College London, Bioengineering, Engineering

La biología sintética y la ingeniería metabólica permiten modificar microorganismos con nuevos atributos. Algunas de estos atributos son la producción de compuestos de interés industrial como combustibles, materiales, medicamentos o alimentos. Otras modificaciones pueden ir enfocadas a disminuir los costes del proceso industrial, bien facilitando la purificación de los productos o permitiendo la utilización de fuentes de carbono baratas y sostenibles. En esta charla se presentarán trabajos en los que tanto levaduras como bacterias se han mejorado para producir compuestos industriales utilizando desechos como fuente de carbono. A pesar de nuestra capacidad de crear nuevos microorganismos facilitada por técnicas de biología sintética, cuando modificamos demasiado una misma cepa esta suele verse afectada en su crecimiento o su estabilidad. En esta charla veremos cómo, para evitar estos problemas, es posible crear comunidades microbianas sintéticas, modificadas para interactuar entre ellas y distribuirse las tareas metabólicas, para maximizar la formación del producto deseado.

Financing: ERC starting grant (DEUS BIO), BBSRC, Royal Society, British Council, EPSRC, H2020

## Construyendo bacterias mediante biología sintética para actuar selectivamente frente a tumores

**Luis Ángel Fernández<sup>1</sup>**

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Departamento de Biotecnología Microbiana, Centro Nacional de Biotecnología, Darwin 3, Campus UAM-Cantoblanco, Madrid, Spain

La biología sintética permite un diseño racional de microorganismos para el tratamiento de diversas enfermedades humanas, incluido el cáncer. Las terapias actuales contra el cáncer poseen una eficacia limitada debido a la falta de especificidad. Las bacterias como *Escherichia coli* tienen una capacidad natural para colonizar los tumores sólidos y la biología sintética nos permite mejorar este "chasis" para conseguir una liberación precisa de moléculas terapéuticas en el tumor. Nuestro laboratorio trabaja en la generación de bacterias *E. coli* programadas para adherirse específicamente a una célula diana y ensamblar un sistema de secreción de proteínas tipo III (T3SS) que actúa como una jeringa molecular inyectando proteínas en el citoplasma de la célula tumoral. Expresamos adhesinas sintéticas basadas en nanoanticuerpos en la superficie de la bacteria dirigiendo la unión específica de *E. coli* a las células tumorales. También expresamos de forma regulada el T3SS de las cepas enteropatógenas de *E. coli* (EPEC), generamos cepas SIEC - Synthetic Injector *E. coli* - y demostramos la inyección de diferentes proteínas efectoras, naturales y heterólogas. Combinamos después la expresión de las adhesinas sintéticas en las cepas SIEC y las armamos con citotoxinas para inducir la muerte de las células tumorales tras su inyección. Demostramos la actividad *in vivo* de estas cepas en modelos de xenotransplante tumoral en ratones atímicos comprobando una reducción significativa del crecimiento del tumor. Estos resultados demuestran la eficacia terapéutica de las cepas *E. coli* construidas, que pueden ser la base de futuras terapias antitumorales.

Financing: BIO2017-89081-R (Agencia Española de Investigación AEI/MICIU/FEDER, EU)

### Ingeniería de una bacteria mínima para el tratamiento de enfermedades respiratorias

**María Lluch Senar<sup>1</sup>**

(1) Pulmobiotics/UIC, Barcelona

Las biopelículas son agregados de microorganismos que forman una barrera protectora contra los antibióticos y el sistema inmunitario del huésped. Entre el 65 y el 80% de las infecciones están asociadas a biopelículas, especialmente en infecciones respiratorias. Las biopelículas formadas por *Pseudomonas aeruginosa* y/o *Staphylococcus aureus* en los tubos endotraqueales (TETs) de pacientes que están intubados en la unidad de cuidados intensivos (UCI), están relacionadas con el desarrollo de neumonía asociada a ventilación (VAP). Esta enfermedad afecta del 9 al 27% de los pacientes intubados, siendo una de las causas principales de mortalidad en UCI. El desafío en el tratamiento de la infección asociadas a biopelículas es el aumento de la resistencia de las bacterias patógenas a los agentes antimicrobianos y a los mecanismos de defensa del huésped. El diseño de bacterias como vehículos o sistemas de suministro local y continuo de agentes terapéuticos es un área emergente de investigación con gran potencial clínico. Aplicando diseño racional basado en conocimiento adquirido mediante biología de sistemas en *Mycoplasma pneumoniae*, hemos obtenido el primer chasis mínimo atenuado para el tratamiento de VAP. Dichos resultados permitieron fundar la compañía Pulmobiotics cuyo objetivo es llevar a clínica este tratamiento y expandir la plataforma tecnológica a otras enfermedades respiratorias

## Biorrefinerías microbianas

### Synthesis of aromatic amino acids from 2G lignocellulosic substrates

**Ana García Franco**<sup>1</sup>, Patricia Godoy Alba<sup>1</sup>, María Isabel Recio<sup>1</sup>, Juan Luis Ramos Martín<sup>1</sup>, Estrella Duque Martín de Oliva<sup>1</sup>

(1) Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Dpto. Protección Ambiental, c/Profesor Albareda, 1, Granada, España

*Pseudomonas putida* DOT-T1E is a highly solvent-resistant microorganism and useful chassis for the production of value-added compounds from lignocellulosic residues, particularly aromatic compounds derived from phenylalanine. The use of these agricultural residues requires a two-step treatment to release the components of the polysaccharides of cellulose and hemicellulose as monomeric sugars, the most abundant monomers being glucose and xylose. This strain metabolizes glucose, but does not degrade xylose. The valorization of both sugars is critical from the point of view of economic viability of the process. For this reason, this strain was endowed with the ability to metabolize xylose, by incorporating heterologous catabolic genes that convert this C5 sugar into intermediates of the pentose phosphate cycle. In addition, glucose dehydrogenase (*gcd*) gene was knocked-out to avoid the production of the dead-end product xylonate. We generated a set of DOT-T1E-derived strains that metabolized glucose and xylose simultaneously in culture medium and that reached high cell density. The strains grew in 2G hydrolysates from diluted-acid and steam explosion pretreated corn stover and sugarcane straw. The strains metabolized >98% of glucose, >96% xylose and >85% acetic acid. In 2G hydrolysates *P. putida* 5PL, a DOT-T1E derivative strain that carries up to 5 independent mutations to avoid phenylalanine metabolism, accumulated this amino acid in the medium. We constructed *P. putida* 5PL $\Delta$ *gcd* (*xylABE*) that produced up to 250 mg L<sup>-1</sup> of phenylalanine when grown in 2G pretreated corn stover or sugarcane straw. These results support the potential of *P. putida* as a chassis for 2G processes.

Financing: Conversión microbiana de residuos lignocelulósicos en productos de valor añadido. Plan Estatal, Retos de la Sociedad (RTI2018-09370-B-100). Cofinanciación: Fondos Feder

## La LPMO del hongo *Talaromyces amestolkiae*: su potencial para mejorar la sacarificación de residuos lignocelulósicos

Juan A. Méndez-Líter<sup>1</sup>, Laura I. De Eugenio<sup>1</sup>, Noa Míguez<sup>2</sup>, Alicia Prieto<sup>1</sup>, Francisco J. Plou<sup>2</sup>, María Jesús Martínez\*<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Biotecnología Microbiana y de Plantas, C/ Ramiro de Maeztu 9 28040, Madrid, España

(2) Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, Grupo de Biocatálisis Aplicada, C/ Marie Curie, 2. Cantoblanco, Madrid, España

La degradación enzimática de polisacáridos derivados de la biomasa, como la celulosa y la hemicelulosa, es esencial no solo para el ciclo global del carbono, sino también para el aprovechamiento industrial de residuos vegetales. La degradación de estos polisacáridos es llevada a cabo principalmente por Glicosil Hidrolasas (GHs), enzimas que catalizan la hidrólisis de enlaces glicosídicos. El descubrimiento, en la última década, de las "Lytic Polysaccharides Monooxygenases" (LPMOs) puso de manifiesto que hay otras enzimas que modifican la celulosa, por reacciones de oxidorreducción, facilitando el acceso de las GH a este polisacárido. En el genoma de *T. amestolkiae*, ascomiceto conocido como productor de GH, hemos detectado un gen de LPMO que se ha expresado con éxito en la levadura *Pichia pastoris*. La enzima recombinante (rLPMO), purificada en dos pasos cromatográficos, fue capaz de oxidar eficientemente un sustrato modelo (2,6-dimetoxifenol), y liberar oligosacáridos oxidados de celulosa (detectados por HPAEC-PAD). Además, la enzima mostró una notable termoestabilidad, siendo capaz de retener actividad durante 2 horas a 80 °C, un valor igual o superior al obtenido en otras LPMOs del mismo grupo, como las de *Scytalidium thermophilum*, *Malbranchea cinnamomea* o *Penicillium funiculosum*. Finalmente, la rLPMO fue utilizada para suplementar cócteles celulolíticos en la sacarificación de paja de trigo y bagazo de cerveza, encontrando que la incubación con esta enzima mejoraba el rendimiento en la sacarificación de estos sustratos. Los resultados del trabajo sugieren que la rLPMO de *T. amestolkiae* podría ser una nueva herramienta para el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica.

Financing: Trabajo financiado por los proyectos GLYSUS RTI2018-093683-B-I00 (MCIU/AEI/FEDER), y RETOPROSOST2 S2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid)



## Destríos como fuente de carbono para la acumulación de aceite microbiano en levaduras oleaginosas

**María Gallego-García<sup>1</sup>**, Antonio D. Moreno<sup>1</sup>, Alberto González<sup>1</sup>, María José Negro<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Energía, Av. Complutense 40, Madrid, España

El uso de materias primas de bajo coste para la producción de aceites microbianos y otros productos de base biológica en el contexto de biorrefinerías multiproducto, representa una opción prometedora para la implementación de estos procesos a escala industrial garantizando su rentabilidad. En España se generan una gran cantidad de destríos procedentes del cultivo intensivo bajo invernadero, representando un 2-5% sobre la producción total. En este trabajo, se ha estudiado la obtención de aceite microbiano utilizando las fracciones líquidas obtenidas tras trituración y centrifugación de destríos del cultivo de tomate, pimiento y sandía como fuente de carbono para el cultivo de la levadura oleaginosa *Cryptococcus curvatus*. Debido a la naturaleza rica en nutrientes de estos medios, para favorecer la acumulación lipídica se ha seguido una estrategia de cultivo en "fed-batch", incorporando pulsos de glucosa para aumentar la relación carbono/nitrógeno (C/N), ya que este parámetro tiene un papel crucial en propiciar la biosíntesis de lípidos. El mayor porcentaje de acumulación se ha logrado con el medio obtenido del pimiento de destrío con una relación C/N inicial de 15 y 58 g/L de azúcares, alcanzándose un total de 32,6% de lípidos. Además, independientemente del sustrato utilizado, el perfil de ácidos grasos obtenido fue muy similar, predominando el oleico y palmítico y observándose porcentajes parecidos a los obtenidos con los aceites vegetales que actualmente se destinan a generar biocombustibles.

Financing: MICINN/AEI/FSE/UE (PRE2018-086317) y AEI/FEDER/UE (ACMIBIO-ENE2017-86864-C2-1-R).



### Biorrefinería urbana: transformar la basura en bioproductos

**Mercedes Ballesteros<sup>1</sup>**

(1) CENTRO DE INVESTIGACIONES ENERGÉTICAS, MEDIAMBIENTALES Y TECNOLÓGICAS, ENERGÍA, Avda. Complutense, 40, 28040 Madrid, España

El rápido incremento de la población mundial ha contribuido de forma significativa a aumentar la cantidad total de residuos sólidos urbanos (RSU) generados por nuestra sociedad. En España, cada habitante genera en torno a unos 500 kg de RSU al año, entre los que se incluyen plásticos, metales y materia orgánica biodegradable. Lograr una gestión integral de los RSU supondría una solución al problema de la contaminación ambiental, además de contribuir a la transformación económica hacia el modelo de economía circular como el que España persigue en la Estrategia Española de Economía Circular. La fracción orgánica del RSU (FORSU) representa un 40-50% del total de residuos y constituye una materia prima útil de la que se pueden obtener productos de valor añadido. En este contexto, las biorrefinerías urbanas, entendidas como instalaciones integradas en las que se realiza una transformación sostenible del FORSU en bioproductos de interés industrial, surgen en los últimos años como una alternativa a los sistemas actuales de tratamiento. En esta ponencia se analizará el concepto de biorrefinería urbana y se presentará el proyecto URBIOFIN, financiado por el Bio Based Industries Joint Undertaking, en el que se pretende demostrar a escala semi-industrial la viabilidad tecno-económica y medioambiental de la conversión del FORSU en diversos compuestos de interés industrial. Utilizando el concepto de biorrefinería, URBIOFIN permitirá transformar el FORSU en productos comercializables como compuestos químicos intermedios (bioetanol, ácidos grasos volátiles o biogás), biopolímeros (polihidroxialcanoatos y biocomposites) y biofertilizantes.

## Nuevas enzimas extremófilas como herramientas biotecnológicas para Biorrefinerías de lignocelulosa: el proyecto WoodZymes como un caso de estudio

**Susana Camarero**<sup>1</sup>

(1) CSIC, Biotecnología microbiana y de plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Ramiro de Maeztu 9, 28040, Madrid, España

La conversión integral de biomasa vegetal en bienes industriales y de consumo es un gran desafío de la industria papelera para lograr su transformación en biorrefinerías. La biotecnología puede contribuir a ello proporcionando biocatalizadores capaces de convertir las fracciones infrautilizadas de lignocelulosa en componentes de bloque o productos de base biológica. Durante la fabricación de pasta de celulosa kraft, la tecnología predominante a nivel mundial para producir pasta de papel a partir de madera, la lignina se solubiliza en condiciones muy alcalinas y altas temperaturas, pasa a los licores negros, y se quema para generar energía. Las hemicelulosas son parcialmente liberadas en los efluentes de blanqueo de la pasta y tampoco son debidamente explotadas. Dado que la lignina constituye la principal fuente renovable de compuestos aromáticos, el objetivo actual es recuperarla y valorizarla. Sin embargo, no existe una tecnología establecida de despolimerización de ligninas kraft, siendo la despolimerización enzimática una de las vías más prometedoras para su valorización. El proyecto WoodZymes<sup>1</sup> pretende suministrar "enzimas transformadoras de la madera" capaces de trabajar en el entorno extremo ("extremozimas") necesario para modificar las hemicelulosas y la lignina de la pared celular vegetal, con el fin de: i) obtener compuestos biobasados y valorizarlos como adhesivos en la fabricación de tableros de madera, componentes de espumas de poliuretano o aditivos en la fabricación de papel; y ii) integrar las extremozimas en nuevos procesos industriales de fabricación de papel o tableros de madera. Durante la charla se comentarán algunos de los resultados más importantes obtenidos.

Financing: 1WoodZymes ([www.woodzymes.eu](http://www.woodzymes.eu)) is funded by the BBI JU (No 792070) between EU H2020 R&I programme and Bio Based Industries Consortium.

## Bioprospección microbiana: del campo al mercado

**Manuel Porcar**<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Valencia, I2SysBio, Paterna-Valencia, España

(2) DARWIN BIOPROSPECTING EXCELLENCE, S.L., Parc Científic de la Universitat de València, Paterna, España

La bioprospección es la búsqueda de organismos naturales con potenciales aplicaciones industriales. Los microorganismos son ubicuos, pero hábitats y presiones selectivas específicas determinan perfiles microbianos particulares. Desde los ambientes naturales -o artificiales- hasta la puesta en valor en forma de producto, existen varios cuellos de botella, entre los que destacan el sesgo de muestreo, la proporción de cultivables, la existencia de consorcios microbianos, la potencia de la estrategia de caracterización y selección o la adecuación de las condiciones de crecimiento de cada cepa a la producción industrial a gran escala. La ponencia describirá todos estos factores usando como ejemplos varios desarrollos industriales en campos diversos como pueden ser los probióticos de uso veterinario, la biorremediación o el desarrollo de productos alimentarios fermentados.

Financing: N.A.

# PRESENTACIONES FLASH Y POSTERS

**Microbiología Molecular**  
**Presentación Oral**

**Bacillus amyloliquefaciens UMAF6639 como agente de biocontrol**

**Montserrat Grifé Ruiz<sup>1</sup>**, David Vela Corcía<sup>1</sup>, Jesús Hierrezuelo León<sup>1</sup>, Alejandro Pérez García<sup>1</sup>, Antonio De Vicente Moreno<sup>1</sup>, Diego Romero Hinojosa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Málaga e Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea, La Mayora (IHSM-UMA-CSIC), Microbiología, Facultad de Ciencias, Bulevar Louis Pasteur 31, Málaga, España

El uso de microorganismos para hacer frente a las distintas enfermedades de las plantas causadas por fitopatógenos ha surgido en las últimas décadas como una de las mejores alternativas en el desarrollo de una agricultura sostenible. Las cepas englobadas dentro del grupo de *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* son bacterias Gram positivas asociadas a plantas, reconocidas como agentes de biocontrol que destacan por su actividad antagonista frente a distintos patógenos (tanto fúngicos como bacterianos), así como por la liberación de sustancias capaces de estimular el crecimiento y la respuesta inmune de las plantas. Estudios previos en el grupo de investigación han demostrado como estas bacterias, en concreto la cepa *B. amyloliquefaciens* UMAF6639, presentan una gran capacidad de biocontrol derivada principalmente de la producción de lipopéptidos (fengicinas, surfactinas e iturinas), actuando como antagonistas de distintos microorganismos sobre todo en plantas de la familia de las cucurbitáceas. Por ello, el principal objetivo de este trabajo se centra en la mejora genética de dicha cepa para obtener mutantes con mayor actividad antimicrobiana. La obtención de estos mutantes se ha realizado utilizando técnicas de mutagénesis aleatoria, que nos permitan poder comercializar dichos microorganismos en el marco legal actual. Una vez identificados los derivados con mayor actividad antimicrobiana, se está realizando su caracterización para determinar los cambios genéticos que justifican el aumento de su capacidad de biocontrol, profundizando así en los distintos mecanismos responsables de la actividad antagonista de dichas cepas.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el contrato 8.06/60.4086 financiado por la empresa biotecnológica KOPPERT B. V. (Países Bajos).

## Control del estado redox del regulador transcripcional FurA de *Anabaena* sp. PCC7120 mediado por tiorredoxina A

**Jorge Guío**<sup>1,2</sup>, María Teresa Bes<sup>1,2</sup>, Mónica Balsera<sup>3</sup>, Laura Calvo<sup>1,2</sup>, Emma Sevilla<sup>1,2</sup>, María Luisa Peleato<sup>1,2</sup>, María Francisca Fillat<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Zaragoza, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias, Calle Pedro Cerbuna 12, Zaragoza, España

(2) Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos, Calle de Mariano Esquillor Gómez, Edificio I+D, Zaragoza, España

(3) Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Calle Cordel de Merinas 40, Salamanca, España

FurA (ferric uptake regulator) de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120 es un regulador transcripcional que controla no solo la homeostasis del hierro, sino también otros procesos celulares como el metabolismo del nitrógeno. En cianobacterias, FurA contiene cinco cisteínas, cuatro de ellas dispuestas en dos motivos CXXC, que a diferencia de otros homólogos Fur no unen zinc y están implicadas en intercambios tiol-disulfuro intra e intermoleculares. In vivo, FurA muestra varias isoformas redox y el estado de oxidación de sus cisteínas determina su actividad como regulador y su capacidad para unirse a diferentes metabolitos. Sin embargo, aún se desconoce el mecanismo de la reducción de FurA, así como su donador de electrones. Como las tiorredoxinas están implicadas, entre otros procesos, en la regulación de la actividad de muchos factores de transcripción sensibles al estado redox, en este trabajo se investigó el papel de la tiorredoxina A (TrxA) en la modulación redox de FurA. Los resultados obtenidos en ensayos de cross-linking y de doble híbrido indican que la tiorredoxina A es capaz de interactuar, tanto in vitro como in vivo, con FurA de *Anabaena* sp. PCC7120. Además, la tiorredoxina A es capaz de reducir a FurA y el estado redox de este regulador transcripcional se ve afectado por las transiciones de luz-oscuridad. Finalmente, en base a los resultados obtenidos en la reducción de mutantes de cisteína de FurA, se propone un posible mecanismo para la reducción de este regulador transcripcional.

Financing: Estudio financiado por BFU2016-77671-P/FEDER (MINECO), PID2019-104889GB-I00 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades) y E35\_17R Biología Estructural (Gobierno de Aragón).

### Papel de CptB, un homólogo a FtsK en *Thermus thermophilus*, en transjugación

**Alba Blesa**<sup>1</sup>, Carmen Ortega<sup>2</sup>, Carlos Verdú<sup>2</sup>, Mario Mencía<sup>2</sup>, José Berenguer<sup>2</sup>

(1) Universidad Francisco de Vitoria, Biotecnología y Biomedicina, Ciencias Experimentales, Ctra. M-515, Pozuelo-Majadahonda, km 1,800 28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid), Pozuelo de Alarcón, España

(2) Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, c/ Nicolás Cabrera, 1 Campus de la Universidad Autónoma 28049- Cantoblanco MADRID, Madrid, España

Recientemente se han descrito dos elementos integrativos en *Thermus thermophilus* jugando un papel importante en la transferencia génica horizontal. ICEth1 contiene una ATPasa hexamérica similar a FtsK (tdtA) necesaria para la donación de DNA durante la transjugación. Esta transferencia puede ser bidireccional entre cepas isogénicas, iniciándose en muchos puntos del genoma, probablemente mediada por el reconocimiento específico de secuencia en múltiples sitios (oriTs) de una nucleasa cotranscrita con tdtA, generando mosaicidad genética entre la progenie. ICEth2 codifica un homólogo de Primpol que actúa como barrera frente a la captación de eDNA durante la competencia pero no por transjugación. El genoma de *T. thermophilus* HB27 codifica 4 homólogos de FtsK más. La ausencia de HepA, homólogo a la proteína arqueana HerA, elimina la donación de DNA en un fondo silvestre de TdtA. Además, se reduce la supervivencia en condiciones de estrés. Así, se sugiere un putativo rol en la reparación del DNA en las fisuras generadas en los múltiples oriT en la célula donadora. En este trabajo presentamos CptB, otro homólogo a FtsK, y el análisis de su papel en transjugación. Codificado en una arquitectura similar a la del operón de TdtA, va precedido por una nucleasa tipo NurA (NurA1) y una putativa enzima de restricción. El empleo de mutantes insercionales y de delección en NurA1 y CptB mostró una reducción de la viabilidad celular en condiciones de estrés y una disminución drástica de la donación del DNA en transjugación, lo que respalda el papel de estas proteínas en las células donadoras.

Financing: Proyecto PID2019-109073RB-I00 (MICINN) y por la Unión Europea (fondos FEDER).



## Identificación de microorganismos en bentonitas compactadas sometidas a altas temperaturas: avances para el almacenamiento de residuos nucleares

**Margarita López Fernández**<sup>1,2</sup>, Jennifer Drozdowski<sup>2</sup>, Sindy Kluge<sup>2</sup>, Andrea Cherkouk<sup>2</sup>

(1) Dirección actual: Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Avenida Fuentenueva s/n, Granada, España

(2) Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e.V, Institute of Resource Ecology, Bautzner Landstraße 400, Dresde, Alemania

El almacenamiento geológico profundo es una opción internacionalmente aceptada para almacenar residuos altamente radioactivos. Es un sistema multi-barrera donde las bentonitas se pueden usar como material de relleno y sellado por sus propiedades óptimas. Sin embargo, los microorganismos naturales de las bentonitas y aquellos introducidos en el repositorio durante su construcción y funcionamiento pueden alterar estas propiedades. Del experimento FEBEX (Full-scale Engineered Barrier Experiment, Grimsel, Suiza) se recogieron muestras del núcleo de bentonitas compactadas para estudiar su diversidad microbiana. Se extrajo ADN total y usando medios específicos se enriquecieron microorganismos sulfato- e hierro-reductores. De estos enriquecimientos se extrajo el ADN total y se aislaron microorganismos. Las comunidades microbianas de los núcleos de bentonita, los enriquecimientos y los aislados se caracterizaron secuenciando el gen 16S del RNA ribosomal. Los resultados mostraron que la población microbiana de las bentonitas FEBEX se vio afectada de forma directa por las continuas altas temperaturas. El filo dominante en los dos tipos de enriquecimiento fue Firmicutes, concretamente Desulfosporosinus, Clostridium y Bacillus en el medio para sulfato-reductores, y Desulfitobacterium y Bacillus en el de hierro-reductores. Además, de los cultivos puros aislados se identificaron bacterias esporágenas. Este estudio demostró la presencia de microorganismos en las bentonitas FEBEX tras casi veinte años de calentamiento continuo. Asimismo, se enriquecieron microorganismos sulfato- e hierro-reductores usando condiciones favorables para ellos en medios específicos. Por lo tanto, es vital caracterizar la población microbiana de los almacenamientos geológicos profundos de residuos radiactivos de alta actividad, ya que puede afectar a su seguridad.

## Caracterización del Complejo Quimiorreceptor de Señalización de la Quimiotaxis de *Enterobacter cloacae*

**Elisabet Frutos Grilo<sup>1</sup>**, Miquel Sánchez Osuna<sup>1</sup>, Miquel Àngel Sastre<sup>1</sup>, Jordi Barbé<sup>1</sup>, Susana Campoy<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Genética y Microbiología, Facultad de Biociencias, av. de l'Eix Central, 08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), España

*Enterobacter cloacae* es una bacteria gramnegativa que puede causar sepsis e infecciones en el tracto urinario, siendo difícilmente tratable debido a las múltiples resistencias a antimicrobianos que acumula. La quimiotaxis, es decir, la capacidad de las bacterias para orientar su movimiento en función de estímulos externos, es esencial para la virulencia. Sin embargo, aunque se sabe que *E. cloacae* presenta respuesta quimiotáctica, se conoce poco acerca del complejo de señalización asociado a dicha respuesta. Este trabajo describe el sistema de quimiotaxis de *E. cloacae* ATCC13047 y la implicación de las proteínas CheA, CheW y CheV que están relacionadas con dicho complejo quimiosensorial en otras enterobacterias. Los resultados revelan la existencia en *E. cloacae* de dos copias génicas de *cheA* y *cheW*, una de las cuales tan sólo se encuentra en algunas especies del género *Enterobacter*. A pesar de que ésta no se expresa en las condiciones ensayadas, sí que está implicada en la respuesta quimiotáctica complementando el fenotipo de quimiotaxis en mutantes deficientes en *cheA* o *cheW*. Además, ambas copias de cada gen son capaces de formar complejos de señalización que se ensamblan en forma de clústeres polares. Igualmente, nuestros estudios demuestran que CheV está implicado en el montaje de los clústeres polares de *E. cloacae*. La caracterización del complejo quimiorreceptor de señalización revela nuevas dianas que pueden ser usadas en el desarrollo de terapias para el control de las infecciones causadas por este patógeno.

Financing: Financiado por el proyecto Marató PI616163.

## Determinación de los taxones bacterianos intestinales involucrados en la pérdida de metabolitos asociados a fragilidad humana

**Susana Ruiz Ruiz**<sup>1,2</sup>, Alejandro Artacho<sup>1</sup>, Andrés Moya Simarro<sup>1,2,3</sup>

(1) FISABIO, Área de Genómica y Salud, Valencia, España

(2) Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBEResp), Madrid, España

(3) Instituto de Biología Integrativa y de Sistemas (I2Sysbio) Universitat de València y CSIC, Valencia, España

Aunque la microbiota no se puede monitorear durante toda la vida de un individuo, es posible estudiarla comparativamente en individuos pertenecientes a intervalos de edad bien diferenciados. Aquí, hemos determinado la composición (amplicones 16S), función (metagenoma, metatranscriptoma) y el proteoma de la microbiota intestinal en una cohorte de personas sanas en tres grupos de edad: niños (I), adultos (A) y ancianos (E). En relación con el envejecimiento, el análisis proteómico de la microbiota ha demostrado la existencia de una amplia gama de proteínas bacterianas presentes en niños y adultos, pero ausentes en ancianos, como la TnaA o triptofanasa (KO1667), que convierte el triptófano en indol, y la TrpB o triptófano sintasa (KO1696), esencial para la síntesis de triptófano a partir de indol y en presencia del aminoácido serina. Estos déficits funcionales fueron validados por metabolómica dirigida midiendo la concentración relativa en las heces de esas dos proteínas, así como el triptófano, el indol y la serina, observando una caída espectacular de todas ellas con la edad. La ausencia de triptófano e indol se ha demostrado que convierte en frágiles a ancianos de organismos modelo. Esto nos lleva a proponer la hipótesis de que la microbiota no está acoplada en su conjunto al huésped humano durante toda su vida por lo que es importante establecer qué taxones son responsables de la pérdida progresiva de estos metabolitos con la edad. En el caso de la proteína triptofanasa, Akkermansia, Bacteroides y Alistipes parecen estar involucrados en la pérdida progresiva de indol.

Financing: Este trabajo ha sido financiado con el proyecto MICINN-PID2019-105969GB-I00.

### Interacciones patógeno-hospedador en el modelo del pez cebra

**Joaquín Bernal Bayard**<sup>1,2</sup>, Franziska Stressmann<sup>2</sup>, David Pérez Pascual<sup>2</sup>, Bianca Audrain<sup>2</sup>, Jean-Marc Ghigo<sup>2</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Genética, Biología, Av. Reina Mercedes SN, Sevilla, España

(2) Institut Pasteur, Microbiology, Genetics of Biofilms Laboratory, UMR CNRS2001, 75015, Paris, France

La microbiota comensal juega un papel esencial en la protección de los organismos frente a infecciones por bacterias patógenas, mediante un proceso llamado resistencia a la colonización. Tradicionalmente los estudios sobre microbiota se han abordado usando técnicas basadas en la genómica. Sin embargo, no existen muchos estudios funcionales in vivo que permitan un análisis directo de las interacciones patógeno-hospedador. Esto se debe en parte a la complejidad existente en estas comunidades microbianas en los modelos de estudio disponibles. En este trabajo hemos usado el modelo del pez cebra para estudiar la resistencia a la colonización mediada por la microbiota indígena del pez. Hemos observado que larvas convencionales son resistentes a la infección por el patógeno de peces *Flavobacterium columnare*, mientras que larvas axénicas son muy sensibles a la infección, lo cual sugiere un papel protector de dicha flora. Nuestro modelo nos ha permitido descifrar la composición de la microbiota del pez cebra que está compuesta por 10 especies bacterianas, las cuales son suficientes para restaurar la protección en peces axénicos. Además, hemos conseguido identificar dos mecanismos independientes de protección frente a la infección por *F. columnare*: Uno mediado por una única especie bacteriana y otro, que depende del resto de componentes de la microbiota. La identificación de especies bacterianas con efecto protector y la identificación de su mecanismo de acción es un paso esencial para el diseño de nuevas terapias probióticas para mejorar el control de las infecciones como alternativa al uso de los antibióticos.

Financing: Ministerio de Ciencia e Innovación – Agencia Estatal de Investigación PID2019-106132RB-I00 Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 842629

## Evolución del coste asociado a plásmidos naturales de *Staphylococcus aureus*

**Pedro Dorado-Morales**<sup>1</sup>, M. Pilar Garcillán-Barcia<sup>2</sup>, Iñigo Lasa<sup>1</sup>, Cristina Solano<sup>1</sup>

(1) Navarrabiomed–Universidad Pública de Navarra–Complejo Hospitalario de Navarra, Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra, Laboratorio de Patogénesis Microbiana, Pamplona, Navarra, España

(2) Universidad de Cantabria–Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Santander, Cantabria, España

Los plásmidos han contribuido en gran medida a la propagación de genes de resistencia entre las bacterias. La adquisición de un plásmido suele conllevar un coste biológico en términos de crecimiento de la bacteria. Estudios recientes se han dedicado a estudiar, fundamentalmente en Gammaproteobacteria, el origen de dicho coste y los mecanismos de compensación a lo largo de la evolución que dan lugar a asociaciones estables bacteria-plásmido. En el presente trabajo, hemos analizado el coste asociado a diferentes plásmidos en el patógeno *Staphylococcus aureus* y las adaptaciones que se producen durante la evolución de esta bacteria para compensarlo. Para ello, hemos diseñado una herramienta basada en el sistema CRISPR-Cas9 que permite eliminar plásmidos de aislados clínicos de *S. aureus*. Un aislado clínico curado se transformó con plásmidos de diferentes orígenes y se observó que el plásmido pUR2940 imponía un coste significativo, el cual se compensó tras 35 días de evolución en un medio sin antibióticos. Estudios de secuenciación nos han permitido determinar que la compensación del coste asociado al plásmido pUR2940 se debe a la pérdida de una región del plásmido en la que se localizan diversos genes de resistencia a antimicrobianos, en un proceso de reordenamiento mediado por secuencias de inserción tipo ISSau10. Los resultados obtenidos señalan los potenciales beneficios que se derivarían de reducir el uso de antibióticos tanto en la práctica clínica como en explotaciones ganaderas, favoreciendo la pérdida de genes de resistencia presentes en plásmidos del patógeno *Staphylococcus aureus*.

Financing: Proyectos BIO2014-53530-R y BIO2017-83035-R (Agencia Española de Investigación/Fondo Europeo de Desarrollo Regional, European Union); contrato F.P.I. (BES-2015-072859).

### Microorganismos funcionales y sus adaptaciones en un acuífero con depósitos minerales de uranio de tipo rollfront

Fadwa Jroundi<sup>1</sup>, Cristina Povedano-Priego<sup>1</sup>, Michael Descostes<sup>2</sup>, Mohamed L. Merroun<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Microbiología, Ciencias, Av Fuentenueva s/n, Granada, España

(2) ORANO Mining, Environmental RD Dpt, 125 Avenue de Paris, Châtillon, France

Los depósitos minerales de uranio de tipo rollfront son una valiosa fuente de uranio de origen natural, cuya recuperación se lleva a cabo mediante técnicas mineras, incluida la tecnología de Recuperación In Situ (ISR). Sin embargo, esta estrategia plantea varios interrogantes sobre el posible impacto y los cambios en la microbiota del subsuelo. La complejidad de estas comunidades microbianas y cómo sus interacciones construyen un ecosistema funcional son muy desconocidos en tales entornos. En Zoovch Ovoo (Mongolia) hemos explorado un acuífero subterráneo relativamente profundo (~100-200 m) en donde un depósito de uranio del tipo rollfront será sometido a la minería por ISR. Éste se caracteriza por una diversidad bacteriana compleja y una geoquímica especialmente relacionada con este tipo de entornos. Por primera vez en este estudio, demostramos que los microorganismos son especialmente activos alrededor del depósito mineral de uranio, con capacidades metabólicas para adaptarse perfectamente a las condiciones biogeoquímicas de los diferentes compartimentos de aguas subterráneas. Encontramos genes que codifican vías metabólicas como las del azufre, nitrógeno, carbohidratos, fosfatos, y lípidos, así como el metabolismo microbiano en diversos ambientes, entre otros. Estos genes se asociaron principalmente con bacterias, arqueas y eucariotas, lo que sugiere un fuerte papel biológico en el ciclo subsuperficial de muchos elementos incluyendo metales y radionúclidos (p.ej.: uranio). En general, mostramos los efectos microbianos sobre la biogeoquímica del subsuelo en el entorno del depósito de uranio de tipo rollfront, y proporcionamos información clave para optimizar la estrategia de remediación posterior a la extracción

Financing: ORANO Mining (Francia) a través del contrato de investigación colaborativa nº 3748 (OTRI)



## Organización y regulación transcripcional del sistema flagelar de *Pseudomonas putida*

**Marta Pulido Sánchez**<sup>1</sup>, Antonio Leal Morales<sup>1</sup>, Aroa López Sánchez<sup>1</sup>, Fernando Govantes Romero<sup>1</sup>  
(1) Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Universidad Pablo de Olavide/Consejo Superior de Investigaciones Científicas/Junta de Andalucía, Carretera de Utrera Km.1 41013, Sevilla, España

En el genoma de *Pseudomonas putida* KT2440 los genes flagelares, sus reguladores y parte del sistema de quimiotaxis aparecen agrupados en un cluster de >70Kb. Aquí describimos la organización génica de este cluster, la identificación de la colección de promotores implicados en la transcripción de los genes flagelares y la caracterización de su regulación. Mediante análisis por RNA-seq y RT-PCR hemos determinado que el cluster flagelar está organizado en diez operones. El alineamiento de las regiones intergénicas con las de otras seis *Pseudomonas* ambientales, seguido del análisis de expresión de fusiones transcripcionales en distintos fondos genéticos, ha permitido identificar los nueve promotores primarios y once promotores internos adicionales y caracterizar los elementos reguladores implicados. La síntesis del flagelo y la maquinaria de quimiotaxis están regulados por una cascada transcripcional en tres etapas. El promotor de Clase I Pfl<sub>Q</sub> dirige la síntesis del factor de transcripción FleQ. Los promotores de Clase II son activados por FleQ, mientras que FleN y el segundo mensajero di-GMP<sub>c</sub> antagonizan esta activación. Estos promotores dirigen la síntesis de los componentes del cuerpo basal, el sistema de secreción, el gancho, el factor  $\sigma$  alternativo FliA y el sistema de dos componentes FleS-FleR. FliA activa la transcripción de los promotores de Clase III, que dirigen la síntesis de los componentes estructurales del filamento y el motor flagelar, y la maquinaria de quimiotaxis. La conservación de la disposición génica y los elementos reguladores sugiere que este modelo de regulación es extrapolable a otras *Pseudomonas* ambientales.

Financing: Plan Estatal de Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (PGC2018-097151-B-I00); Programa nacional de Formación de Profesorado Universitario FPU (FPU19/02899).



### Respuesta de *Pseudomonas stutzeri* AN10 a presión selectiva en tiempo real.

**Guillem Coll García**<sup>1</sup>, Rafael Bosch Zaragoza<sup>1,2</sup>

(1) Universitat de les Illes Balears, Biología, Ciencias, Carretera de Valldemossa, km 7.5, 07122, Palma de Mallorca, España

(2) Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados, Biodiversidad Animal y Microbiana, Calle Miquel Marquès nº 21, Esporles, España

Con el fin de observar los efectos moleculares de la evolución direccional en poblaciones de *P. stutzeri* AN10, se diseñó un experimento en el que durante más de un año se realizaron subcultivos seriados en Luria-Bertani agar. Se expuso a cada uno de los dos grupos a una condición de estrés selectiva. En el grupo lento las condiciones nutricionales eran severamente restrictivas la mayor parte del tiempo manteniendo a la población en una fase estacionaria prácticamente continua al seleccionarse células del centro de la masa colonial. En el grupo rápido se recogía material del margen colonial, dónde si bien las condiciones nutricionales son favorables, es necesario mantener un movimiento continuo para preservar la posición ventajosa causando que las células se encuentren en un estado similar a la fase exponencial. Durante el experimento se obtuvieron fenotipos diferenciales y concordantes entre las réplicas que están siendo caracterizados a nivel molecular. Hasta el momento se ha analizado la serie 15, el punto intermedio del experimento, en donde se han hallado 43 polimorfismos de nucleótido único que afectan a genes que podrían aportar una mayor tolerancia a la presión junto a variaciones en el patrón de expresión de proteínas que permitan una mejor adaptación. En la serie rápida se han localizado polimorfismos relacionados con mecanismos de quorum sensing, motilidad (Pilus de tipo IV), proteínas periplasmáticas y transportadores. Por otro lado, en la serie lenta se han hallado mutaciones en permeasas, mecanismos de adhesión cómo la fimbria, porinas y componentes de transducción de señales quimiotácticas.

## Caracterización de un sistema de señalización “many to one” implicado en la osmoadaptación en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*

Rosa M. García-Valero<sup>1</sup>, Emily N. Kennedy<sup>2</sup>, Robert B. Bourret<sup>2</sup>, Joaquín J. Nieto<sup>1</sup>, Carmen Vargas<sup>1</sup>, Montserrat Argandoña<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia., Calle Profesor García González nº 2, Sevilla, España

(2) University of North Carolina, Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine., 6108 Marsico Hall, Chapel Hill, USA

*Chromohalobacter salexigens* es una bacteria halófila modelo en estudios de osmoadaptación, siendo el sistema de dos componentes EupK/EupR clave en la regulación de estos procesos. Resultados anteriores indican que este sistema formaría parte de una red de señalización compleja, donde una o varias histidina kinasas (HKs) podrían fosforilar a un mismo regulador de respuesta (RR), EupR, y, a su vez, EupK podría fosforilar a otro/s RR/s. Posiblemente, las interacciones entre los elementos de esta red podrían depender de estímulos tales como salinidad, presencia de osmoprotector (ectoína) o fuente de C (glucosa o ectoína), entre otros. También sugieren que alguna de las HKs híbridas presentes en *C. salexigens* podrían participar en esta red de regulación cruzada. Mediante un ensayo BACTH, se analizaron las posibles interacciones in vivo entre EupK/EupR y dos HKs híbridas, HK1062 y HK2667, muy similares entre sí, y ortólogas a la histidina quinasa del sistema ArcA/ArcB. Además, el ensayo se realizó en diferentes condiciones de salinidad y concentraciones de ectoína para estudiar los posibles estímulos que pudieran activar/inhibir dichas interacciones. Mediante ensayo de fosfotransferencia in vitro se confirmaron las interacciones entre las HKs y el RR. Los resultados muestran que ambas HKs podrían formar parte de un sistema de regulación de tipo “many to one” al interactuar con EupR. Además, parece que HK2667 interactuaría también con EupK. A pesar de la similitud, el comportamiento de ambas en función de los estímulos es muy diferente, indicando que HK2667 podría estar más implicada en la detección de NaCl y ectoína.

Financing: Agencia Estatal de Investigación PID2019-111273RB-I00/AEI/10.13039/501100011033 Red de Microorganismos extremófilos (RED2018-102734-T)

### La ADN polimerasa PrimPol de *Thermus thermophilus* está implicada en defensa contra ADN exógeno

Carlos Verdú Cano<sup>1</sup>, Nieves Gracia Quintans<sup>2</sup>, Alba Blesa Esteban<sup>3</sup>, José Berenguer Carlos<sup>1</sup>, **Mario Mencía Caballero**<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Madrid, Biología Molecular, Ciencias, Nicolas Cabrera 1, Madrid, España

(2) Instituto de Salud Carlos III, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Calle de Melchor Fernández Almagro, 3, 28029 Madrid, Madrid, España

(3) Universidad Francisco de Vitoria, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Experimentales, Carretera Pozuelo a Majadahonda, Km 1.800, 28223 Madrid, Madrid, España

PrimPol (Ppol) es una de las pocas ADN polimerasas capaces de iniciar la síntesis de ADN independientemente de un cebador preexistente. La Ppol de *Thermus thermophilus* (Tth) ha sido caracterizada bioquímicamente por sus aplicaciones biotecnológicas. Un mutante de delección sin marcador del gen *ppol* en Tth muestra un aumento de dos órdenes de magnitud en su eficiencia de transformación tanto con ADN lineal como circular. Esto sugiere que Ppol actúa como un mecanismo de defensa contra los ADN entrantes, potencialmente a través de su actividad ADN polimerasa. Por otro lado, el mismo mutante parece permitir número de copias de plásmidos establecidos más bajos que los de tipo silvestre, lo que indica un papel de Ppol en el mantenimiento del ADN plasmídico. Este último papel es contrario al de otro factor innato de defensa de Tth, la proteína argonauta, que actúa como una nucleasa programable por guías cortas de ADN. Las delecciones de los otros genes en el operón de Ppol, entre ellos un gen que codifica una posible ADN helicasa, también mostraron claros aumentos en la eficiencia de transformación. El operón de Ppol se encuentra en un elemento genético móvil del cual hemos encontrado variantes en toda una serie de genomas secuenciados del género *Thermus* y relacionados. Se están realizando experimentos para aclarar el papel y los posibles mecanismos en los que participa Ppol y proteínas asociadas. Los resultados se discutirán en el contexto de los mecanismos Tth de entrada y defensa contra ADN exógeno.

Financing: Trabajo financiado con fondos del Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-109073RB-I00) y fondos FEDER de la Unión Europea

## Identificación de inhibidores del sistema PhoPR como moléculas terapéuticas anti-virulencia en *Mycobacterium tuberculosis*

**Juan Calvet-Seral**<sup>1,2</sup>, Irene Perez<sup>1,2</sup>, Stefan Prior<sup>3</sup>, Ruben Gonzalez-del-Rio<sup>3</sup>, Carlos Martín<sup>1,2</sup>, Alfonso Mendoza-Losana<sup>3</sup>, Esther Perez-Herrán<sup>3</sup>, Jesús Gonzalo-Asensio<sup>1,2</sup>

(1) Grupo de Genética de Micobacterias, Microbiología, Pediatría, Radiología y Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza, ZARAGOZA, España

(2) CIBER Enfermedades Respiratorias, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

(3) GSK RD, Global Health Pharma Research Unit, Tres Cantos, España

*Mycobacterium tuberculosis* causa más de 1.4 millones de muertes al año debido a la tuberculosis. El sistema de dos componentes PhoPR es bien conocido por regular varios fenotipos clave para la virulencia de este microorganismo, entre los cuales caben destacar: la secreción del principal factor de virulencia (ESAT-6), la síntesis de lípidos inmunomoduladores y la regulación de la secreción de antígenos inmunodominantes, entre otros. Por ello, la búsqueda de moléculas inhibitoras de PhoPR se perfila como una estrategia terapéutica atractiva contra la tuberculosis. En este trabajo hemos desarrollado diferentes cepas indicadoras de la actividad de PhoPR en *M. tuberculosis* basadas en una caracterización transcriptómica previa mediante RNA-seq y ChIP-seq. En colaboración con GSK-Tres Cantos, estas cepas se han utilizado en una estrategia de cribado masivo de más de 200.000 compuestos. La actividad de aquellas moléculas que demostraron una robusta inhibición de PhoPR se confirmó en diferentes aislados clínicos de *M. tuberculosis*. A continuación, se ensayó el potencial de estos compuestos para inhibir el sistema PhoPR de *M. tuberculosis* durante la infección de macrófagos. En aquellos compuestos que demostraron una adecuada actividad in vitro y ex vivo se estudiaron parámetros adicionales como su citotoxicidad y biodisponibilidad con el objetivo de seleccionar las mejores moléculas para estudios en un modelo de infección de ratón. Nuestros resultados son un ejemplo de transferencia de conocimiento entre la academia y la industria y ejemplifican el proceso "Hit-to-Lead" necesario para el desarrollo de moléculas antimicrobianas.

## Deep mutational scanning of RNA-binding protein ProQ suggests a mechanism of quality control by protease Lon

**Youssef El Mouali Benomar**<sup>1,2</sup>, Falk Ponath<sup>1</sup>, Vinzent Scharrer<sup>2</sup>, Jörg Vogel<sup>1,2</sup>

(1) Helmholtz Institute for RNA-based Infection Research (HIRI)

(2) Institute of Molecular Infection Biology (IMIB), University of Würzburg

ProQ has become a paradigm for the emerging family of FinO domain-containing RNA binding proteins in bacteria. ProQ in *Salmonella enterica* has been shown to act as a global RNA binding protein as it interacts with a plethora of sRNAs and mRNAs. However, little was known about processes ProQ regulates in *Salmonella* which have precluded to functionally characterize ProQ in vivo. In here, we show that ProQ represses the utilization of succinate as carbon source. The latter allowed applying deep mutational scanning to ProQ where functionality of a saturating library of thousands of ProQ point mutation variants is investigated to identify residues important to its function in vivo. ProQ carries a FinO domain, responsible for RNA binding, as its N-terminal domain fused via a linker to a C-terminal domain with unknown function. Remarkably, residues within both the N-terminal domain and C-terminal domain of the protein are found to be essential for ProQ function. Mutations in the C-terminal lead to non-functional variants to regulate succinate utilization but capable to interact with RNA. On the contrary, mutations on the N-terminal domain leave ProQ functionally inactive in vivo and unable to interact with its RNA targets. Notably, the inability to interact with RNA render ProQ unstable in vivo. The latter leads to an active Lon-mediated proteolytic degradation suggesting that interaction with RNA represents a control mechanism to modulate RNA binding proteins turnover.

## Regulación postranscripcional mediada por RNAs antisentido durante la diferenciación de heterocistos en *Nostoc* sp. PCC 7120.

**Manuel Brenes-Álvarez**<sup>1</sup>, Agustín Vioque<sup>1</sup>, Alicia Muro-Pastor<sup>1</sup>

(1) Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF, CSIC/Universidad de Sevilla), Avenida Américo Vespucio 49, Sevilla, España

El análisis global de los transcriptomas bacterianos ha revelado abundante transcripción antisentido, esto es, de la hebra complementaria a las secuencias codificantes. En muchos casos la transcripción antisentido se produce de forma regulada en respuesta a diferentes situaciones ambientales, lo que sugiere que estos RNAs puedan tener un papel en la adaptación a dichas situaciones. Nuestro organismo modelo, la cianobacteria filamentosa *Nostoc* sp. PCC 7120, es capaz de diferenciar un tipo celular especializado en la fijación de nitrógeno atmosférico, los heterocistos, que se diferencian a partir de las células vegetativas dando lugar a un patrón semi-regular en los filamentos. Este proceso de diferenciación implica profundos cambios morfológicos y metabólicos cuyo estudio se ha centrado tradicionalmente en mecanismos de regulación ejercidos a nivel transcripcional. Sin embargo, los estudios más recientes han mostrado que numerosos RNAs no codificantes, tanto pequeños RNAs como RNAs antisentido, podrían participar en la regulación de este proceso. En este trabajo hemos utilizado RNA-seq para analizar las respuestas transcripcionales que tienen lugar de forma temprana durante la diferenciación de heterocistos, incluyendo no sólo la expresión de regiones codificantes, sino también de regiones no codificantes del genoma. El resultado de este trabajo ha permitido identificar numerosos RNAs antisentido generados a partir de inicios de transcripción internos o de regiones solapantes de mRNAs con extensas regiones 5'UTR o 3'UTR. La expresión de algunos de estos RNAs únicamente en los heterocistos podría generar patrones de expresión complejos que podrían contribuir a la reprogramación metabólica y la maduración funcional de los heterocistos.

Financing: BFU2016-74943-C2-1, PID2019-105526GB-I00 (AEI/FEDER)



**Microbiología Molecular**  
E-poster

**Chlorattinimycins, novel halogenated PKS-NRPS compounds produced by *Streptomyces* sp. CS147**

**Laura Prado-Alonso**<sup>1</sup>, Ignacio Pérez-Victoria<sup>2</sup>, Mónica G. Malmierca<sup>1</sup>, Ignacio Montero<sup>1</sup>, Jesús Martín<sup>2</sup>, Fernando Reyes<sup>2</sup>, Carmen Méndez<sup>1</sup>, José A. Salas<sup>1</sup>, Carlos Olano<sup>1</sup>

(1) Universidad de Oviedo, Biología Funcional (Área de Microbiología), Facultad de Medicina, C/ Julián Clavería, s/n, CP 33006, Oviedo, España

(2) Fundación Medina, Química, Avda. del Conocimiento nº34, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, CP 18016, Granada, España

The improvement on genome sequencing techniques has reveal the biosynthetic potential of actinomycetes due to the high number of gene clusters they have compared to the number of known produced compounds. Genome mining is a strategy in the search for novel bioactive compounds, which intend to identify and activate the expression of these clusters and their products, many of whom are cryptic or silent under laboratory conditions, by using bioinformatics and molecular biology strategies. Owing to the importance of halogenation for structural diversity, bioavailability and bioactivity, searching for new halogenated bioactive compounds is an interesting issue in the field of natural product research. Following this purpose, a screening for halogenase genes was performed on thirty *Streptomyces* strains isolated from fungus growing ants of the Attini tribe. Using PCR screening with degenerated primers amplifying conserved domains six halogenases were detected. Analysis using the bioinformatics tools antiSMASH and Blast in previously sequenced genomes allowed the detection of six more halogenases. Some of these halogenase coding genes were located within biosynthetic gene clusters (BGCs) which were studied by construction of several mutants for the identification of putative halogenated compounds. Comparisons by UPLC-UV and HPLC-MS analysis between the secondary metabolites biosynthesized under several conditions by these mutants and the wild type strains allowed the identification of a novel family of compounds produced by *Streptomyces* sp. CS147, designated as chlorattinimycins. They are hybrid PKS-NRPS tryptophan-chlorinated compounds, some of them with an unusual  $\alpha$ -ketoamide moiety instead of the classic amide bond.

Financing: MINECO BIO2015-64161-R to José Antonio Salas and MCIU/AEI/FEDER, UE RTI2018-093562-B-I00 to José Antonio Salas y Carlos Olano.



## Differential adaptability between reference strains and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* into the lung epithelium intracellular lifestyle

**Maria del Mar Cendra Gascón<sup>1,2</sup>**, Eduard Torrents<sup>1,2</sup>

(1) Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Bacterial infections and Antimicrobial Therapies (BIAT) Group, c/ Baldori Reixac 15-21, 08028, Barcelona, España

(2) University of Barcelona, Microbiology Section, Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, Avinguda Diagonal, 643; 08028, Barcelona, España

Intracellular invasion is an advantageous mechanism used by pathogens to evade host defense and antimicrobial therapy. In patients, the intracellular microbial lifestyle can lead to infection persistence and recurrence, thus worsening outcomes. Lung infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*, especially in cystic fibrosis (CF) patients, are often aggravated by intracellular invasion and persistence of the pathogen (1). Proliferation of the infections species relies on a continuous deoxyribonucleotide (dNTP) supply, for which the ribonucleotide reductase enzyme (RNR) is the unique provider (2). The large genome plasticity of *P. aeruginosa* and its ability to rapidly adapt to different environments are challenges for studying the pathophysiology associated with this type of infection (3). Using different reference strains and clinical isolates of *P. aeruginosa* independently combined with alveolar (A549) and bronchial (16HBE14o- and CF-CFBE41o-) epithelial cells, we analyzed host-pathogen interactions and intracellular bacterial persistence with the aim of determining a cell type-directed infection promoted by the *P. aeruginosa* strains. The oscillations in cellular toxicity and oxygen consumption promoted by the intracellular persistence of the strains were also analyzed among the different infectious lung models. Significantly, we identified class II RNR as the enzyme that supplies dNTPs to intracellular *P. aeruginosa*. This discovery could contribute to the development of RNR-targeted strategies against the chronicity occurring in this type of lung infection (4). Overall our study demonstrates that the choice of the bacterial strain is critical to properly study the type of infectious process with relevant translational outcomes.

Financing: Supported by: La Caixa Foundation, MICIU, AEI, FEDER (RT12018-098573-B-100), CERCA programme/Generalitat de Catalunya (2017SGR01079) and the Catalan Cystic Fibrosis association.

### Conversión de la porina OmpF de *Escherichia coli* en una adhesina específica de péptidos amiloidogénicos

**Rafael Giraldo**<sup>1,2</sup>, Sol Vendrell-Fernández<sup>1</sup>, Paloma Lozano-Picazo<sup>2</sup>, Paula Cuadros-Sánchez<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Mar Tejero-Ojeda<sup>2</sup>

(1) Centro Nacional de Biotecnología, Biotecnología Microbiana, C/ Darwin 3, Campus Cantoblanco, 28049 Madrid, España

(2) Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), Biología Celular y Molecular, C/ Ramiro de Maeztu 9, Campus Moncloa, 28040 Madrid, España

Las proteínas amiloides están presentes en entornos naturales, bien sea debido a su secreción por microorganismos o a las excretas de mamíferos afectados por enfermedades priónicas, suscitando preocupación creciente por su potencial infectividad y toxicidad en contextos como la microbiota intestinal o los suelos. Nuestro objetivo es diseñar, a partir de proteínas de la membrana externa de bacterias Gram-negativas, biosensores y adhesinas sintéticos específicos de amiloides, con vistas a su posible neutralización. La inserción de un segmento amiloidogénico del amiloide funcional bacteriano RepA-WH1 (1) en uno de los lazos extracelulares de la (abundante y no esencial) porina OmpF de *Escherichia coli* permitió a las bacterias unir en su superficie esa misma secuencia cuando se suministra en forma de péptido marcado con rodamina. Esta interacción homotípica es característica de los ensamblajes amiloides, y se asemeja a la responsable de la formación de pares RepA-RepA, mediados por el dominio amiloidogénico WH1, que actúan como inhibidores de la replicación prematura de plásmidos (2). Polifenoles conocidos por su actividad como inhibidores del ensamblaje de diversos amiloides impidieron el reconocimiento del péptido por parte de la porina sintética. Cuando la proteína RepA-WH1 completa (etiquetada en su extremo C-terminal con mCherry) se inmovilizó sobre portaobjetos de vidrio activados con N-hidroxisuccinimida, las bacterias que expresan la variante sintética de OmpF se unieron a dicha superficie funcionalizada, demostrando así el potencial de la amiloidogénesis como mediadora de la adhesión celular.1. Giraldo R. *mSystems* (2020) 5:e00553-20.2. Molina-García L, et al. *Sci Rep* (2016) 6:25425.

Financing: AEI (RTI2018-094549-B-I00)

## Las proteínas SCO2102 (parálogo de DnaA) y SCO2103 (metilentetrahidrofolato recuctasa) son esenciales para la esporulación de *Streptomyces coelicolor*

**Gemma Fernandez**<sup>1</sup>, Nathaly González Quiñónez<sup>1</sup>, Paula Yagüe<sup>1</sup>, Beatriz Rioseras<sup>1</sup>, Sergio Alonso-Fernández<sup>1</sup>, Ángel Manteca<sup>1</sup>

(1) Universidad de Oviedo, Biología Funcional, IUOPA and ISPA, Facultad de Medicina, Av. Julian Clavería s/n 33006, Oviedo, España

La división celular es uno de los eventos más complejos y regulados en bacterias. La división celular de *Streptomyces* es especialmente compleja, ya que el cromosoma se replica sin citocinesis generando hifas multinucleadas que no segregan sus cromosomas hasta la esporulación. Al igual que en otras bacterias, la división del ADN de *Streptomyces* comienza con la unión de la DnaA AAA + ATPasa al origen de replicación. DnaA marca la posición para la polimerización de FtsZ, lo que es seguido de una sucesión ordenada de proteínas de división celular que forman el divisoma. A diferencia de la mayoría de las bacterias, el divisoma de *Streptomyces* no conduce a la citocinesis durante las etapas miceliales. La regulación de la división celular de *Streptomyces* aún no se comprende completamente. En este trabajo hemos caracterizado SCO2102, un parálogo de dnaA altamente conservado en *Streptomyces*. El gen SCO2102 se sobreexpresa en las hifas esporulantes y su proteína colocaliza con FtsZ modulando la esporulación. A diferencia de dnaA (SCO3879), SCO2102 se puede mutar dando lugar una cepa viable. SCO2102 se contrascribe con la metilnotetrahidrofolato reductasa SCO2103. La expresión de SCO2102/SCO2103 está altamente regulada e implica un terminador condicional de la transcripción localizado dentro de la ORF de SCO2103. Ambos genes combinados son esenciales para la diferenciación y la esporulación. Hasta donde sabemos, SCO2102 es el primer parálogo de dnaA específico de la esporulación y esta es la primera vez que el metabolismo del folato se asoció con la esporulación de *Streptomyces*.

Financing: Ayudas para la realización de tesis doctorales. Modalidad A: Contrato de Investigación en régimen de concurrencia competitiva (Universidad de Oviedo).

### Calidad microbiológica del aire en espacios comunes de residencias de mayores

**Susana Seseña Prieto**<sup>1</sup>, María Rodríguez Pérez<sup>2</sup>, Sonsoles Dávila López<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> de los Llanos Palop Herreros<sup>1</sup>, Ana Rodríguez Cervantes<sup>3</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avda. Carlos III s/n, Toledo, España

(2) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Inorgánica, Orgánica y Bioquímica, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avda Calos III s/n, Toledo, España

(3) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avda Calos III s/n, Toledo, España

El informe de la OMS (2016) puso de manifiesto la existencia de 4 millones de muertes al año como consecuencia de la contaminación ambiental, un hecho que motivó que la calidad del aire se convirtiera en uno de los grandes retos sanitarios a nivel mundial. En las últimas décadas, la calidad del aire interior es motivo de preocupación pública por sus demostrados efectos adversos sobre la salud, siendo las personas mayores uno de los colectivos más vulnerables. En este contexto, las residencias de mayores deberían ser consideradas instituciones especialmente sensibles a este problema, tanto por las características propias de sus ocupantes (edad, patologías, etc.) como por la permanencia de estos en sus instalaciones durante largos periodos de tiempo. El objetivo de este estudio ha sido la evaluación de la calidad microbiológica del aire de las zonas comunes (comedores y salas de estar) de residencias de mayores, utilizando para ello dos tipos de muestreadores, uno de impacto (Merck) y uno de filtración (Sartorius) con filtros de gelatina. Con el muestreador de impacto se han podido cuantificar las poblaciones de bacterias y de mohos existentes en el aire y a partir de los filtros de gelatina se ha realizado la extracción del ADN y posterior cuantificación de la población de estos microorganismos mediante q-PCR. Asimismo, se ha determinado la eficacia de un purificador de aire con filtros HEPA (Dyson), para lo que se tomaron y analizaron, como se ha indicado anteriormente, muestras de aire antes y después de su utilización.

## Obtención y caracterización de mutantes de la DNA topoisomerasa I resistentes a seconeolitsina

**M. García-López**<sup>1</sup>, M. T. García<sup>2</sup>, M. J. Ferrándiz<sup>1</sup>, A. G. de la Campa<sup>1,3</sup>

(1) Unidad de Genética Bacteriana, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

(2) Departamento de Genética, Unidad de Microbiología, Fisiología y Microbiología, Universidad Complutense, Madrid, España

(3) Presidencia, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España

La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* (SPN) a los antibióticos ha aumentado en las últimas décadas, haciendo preciso encontrar nuevas alternativas terapéuticas. Las DNA topoisomerasas mantienen la homeostasis del superenrollamiento del DNA, que es fundamental para la viabilidad celular. Son enzimas esenciales, lo que las convierten en dianas terapéuticas idóneas. La seconeolitsina inhibe el crecimiento de SPN. El mecanismo de acción propuesto para este compuesto implica su unión al centro activo de la DNA topoisomerasa I, una nueva diana antimicrobiana, impidiendo su actividad y provocando la muerte celular. Con el objetivo de validar la DNA topoisomerasa I (gen *topA*) como diana de la seconeolitsina, se obtuvieron mutantes condicionales mediante mutagénesis dirigida de residuos de su centro activo. Los genes mutantes se clonaron en un plásmido bajo el control del promotor PMal y se introdujeron en una cepa con *topA* bajo el control de PZn. Solamente la enzima con el cambio R102A complementó la ausencia de la proteína silvestre. La enzima mutante mostró *in vitro* una actividad específica 8 veces inferior y una resistencia a seconeolitsina 2 veces superior a la de la proteína silvestre. Consistentemente, la sobreexpresión de la enzima mutante permitió el crecimiento de SPN, que está inhibido en el caso de sobreexpresión de la enzima silvestre. A concentraciones subinhibitorias de seconeolitsina la cepa que sobreexpresó la topoisomerasa I R102A presentó un tiempo de duplicación 7% menor que el de una cepa con la enzima silvestre. Estos datos confirman el mecanismo de inhibición de la topoisomerasa I por la seconeolitsina.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad: BIO 2017-82951-R.

## Easily applicable modifications to electroporation conditions improve the transformation efficiency rates for rough morphotypes of fast-growing mycobacteria

**Víctor Campo Pérez**<sup>1,2</sup>, Maria del Mar Cendra<sup>1</sup>, Esther Julián<sup>2</sup>, Eduard Torrents<sup>1,3</sup>

(1) Instituto de Bioingeniería de Cataluña, Baldiri Reixac 15-21, 08028., Barcelona, España

(2) Autonomous University of Barcelona, Department of Genetics and Microbiology, Faculty of Biosciences, 08193, Barcelona, España

(3) University of Barcelona, Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Faculty of Biology, 643 Diagonal Ave, 08028, Barcelona, España

Electroporation is the most widely used and efficient method to transform mycobacteria. Through this technique, fast- and slow-growing mycobacteria with smooth and rough morphotypes have been successfully transformed. However, transformation efficiencies differ widely between species and strains. In this study, the smooth and rough morphotypes of *Mycobacteroides abscessus* and *Mycobacterium brumae* were used to improve current electroporation procedures for fast-growing rough mycobacteria. The focus was on minimizing three well-known and challenging limitations: the mycobacterial restriction-modification systems, which degrade foreign DNA; clump formation of electrocompetent cells before electroporation; and electrical discharges during pulse delivery, which were reduced by using salt-free DNA solution. Herein, different strategies are presented that successfully address these three limitations and clearly improve the electroporation efficiencies over the current procedures. The results demonstrated that combining the developed strategies during electroporation is highly recommended for the transformation of fast-growing rough mycobacteria.

Financing: Fondo Europeo de Desarrollo Regional (RTI2018-098777-B-100 y RTI2018-098573-B-100). AGAUR-Generalitat de Catalunya (2017SGR-229 y 2017SGR-1079).



## Aumento y activación de la producción de metabolitos secundarios en 12 cepas de *Streptomyces*.

**Lorena Cuervo**<sup>1,2,3</sup>, Raúl García Salcedo<sup>1,2,3</sup>, Carmen Méndez<sup>1,2,3</sup>, J. A. Salas<sup>1,2,3</sup>, Carlos Olano<sup>1,2,3</sup>, Ana Ceniceros<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de Oviedo, Biología Funcional, Facultad de Medicina, Av. Julián Clavería, 6, Oviedo, Asturias, España

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

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

El género *Streptomyces* sp. es conocido por ser uno de los mayores productores de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas. Debido al gran interés que suscita la búsqueda de nuevos fármacos ante el desarrollo de resistencias a los medicamentos actuales, se están centrando grandes esfuerzos en explotar el potencial que alberga este género bacteriano, ya que muchos de los posibles metabolitos secundarios predichos en su genoma no se producen o lo hacen en pequeña cantidad en condiciones laboratorio. Para ello, se expresaron heterológicamente 10 genes procedentes de *Streptomyces coelicolor*, cuya sobreexpresión se ha visto que favorece la producción de metabolitos secundarios en *S. coelicolor*. Se utilizaron 12 cepas de *Streptomyces* de la colección CS, aisladas de hormigas de la tribu Attini de Perú. Para ello, se generaron dos construcciones basadas en el vector pSET152XK, una conteniendo los genes pleiotrópicos *bldA*, *metK*, *rpsL*, *rpoB*, *hrdB*, y otra con los genes *draR*, *crp*, *abrC3*, *afsR*, *bldD*, bajo el control del promotor *kasOp*. Las cepas resultantes fueron cultivadas y analizadas mediante métodos cromatográficos. Los resultados obtenidos mostraron un incremento de la producción de algunos compuestos por parte de las cepas expresando los diferentes genes pleiotrópicos en comparación con los microorganismos silvestres y los que portan el vector vacío, así como la aparición de nuevos compuestos, lo que puede sugerir activación de clústeres que se mantenían silenciosos. Como proyecciones futuras de este proyecto, se identificará el gen responsable de dicha sobreproducción/activación, así como la purificación y elucidación estructural de los nuevos compuestos.



## Contribución de polimorfismos en regiones intergénicas de genes que codifican adhesinas en la capacidad de *Staphylococcus aureus* para infectar implantes

Liliana Morales Laverde<sup>1</sup>, Maite Echeverz Sarasua<sup>1</sup>, Cristina Solano Goñi<sup>1</sup>, Margarita Trobos<sup>2</sup>, Iñigo Lasa<sup>1</sup>

(1) Universidad Pública de Navarra (UPNA), IDISNA, Laboratory of Microbial Pathogenesis, Navarrabiomed, Complejo Hospitalario de Navarra (CHN), 31008, Pamplona, Spain

(2) Sahlgrenska Academy at University of Gothenburg, Department of Biomaterials, Institute of Clinical Sciences, 413 90, Gothenburg, Sweden

La secuenciación de genomas bacterianos, permite identificar asociaciones entre variaciones genéticas y fenotipos específicos. El análisis de variaciones suele focalizarse en la presencia/ausencia de genes y/o cambios en regiones codificantes. Los cambios en las regiones intergénicas han recibido menos atención porque son más numerosas y su efecto es difícil de determinar. En este estudio hemos utilizado una colección de cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de infecciones protésicas, para analizar el papel que juegan las variaciones de las regiones intergénicas, adyacentes a genes que codifican adhesinas, en la capacidad de la bacteria para colonizar implantes. Se ha secuenciado el genoma de 71 cepas de *S. aureus*, aisladas de infecciones asociadas a artroplastia, y se han comparado secuencias de 200 nucleótidos localizados inmediatamente delante de 15 genes que codifican adhesinas (*fnbA*, *clfA*, *clfB*, *sdrC*, *spa*, *sasC*, *sasE*, *sasF*, *sasH*, *sasI*, *sasJ*, *eap*, *emp*, *vWb* y *efb*). Regiones con variaciones representativas se han fusionado con un gen reportero (*gfp*) y los plásmidos construidos se han introducido en un mismo fondo genético para comparar el efecto de dichas variaciones en el perfil de expresión de cada proteína. Se han identificado SNPs (single nucleotide polymorphisms) e indels en la región intergénica de todos los genes analizados. Estas variaciones pueden provocar cambios significativos en los niveles de expresión de las adhesinas y en su capacidad para promover la colonización de implantes médicos. Por tanto, el análisis de genomas debe considerar a las regiones intergénicas como una fuente importante de variabilidad fenotípica entre aislados clínicos.

Financing: Este proyecto ha sido financiado por BIO2017-83035-R (AEI/FEDER, EU) y Marie Skłodowska-Curie No 801586 y 754412.

## La fosforilación de FtsZ afecta a la producción de antibiótico, la morfología de las hifas, y la esporulación en *Streptomyces*

Paula Yagüe<sup>2</sup>, Joost Willems<sup>2</sup>, Xiansha Xiao<sup>2</sup>, Angel Manteca<sup>1</sup>, Gilles van wezel<sup>2</sup>

(1) Oviedo, Biología funcional, Medicina, Julian claveria sn, Oviedo, España

(2) Leiden, Biotechnology and health, Sylviusweeg 72, Leiden, Netherlands

*Streptomyces* es un género bacteriano con un ciclo de vida complejo, que produce una gran cantidad de compuestos bioactivos. Durante la división de las esporas, cientos de anillos de la proteína FtsZ se producen simultáneamente, dividiendo las hifas aéreas multinucleoides en cadenas de esporas unigenómicas. Excepcionalmente, *ftsZ* no es esencial para el crecimiento en *Streptomyces*. En nuestro laboratorio hemos descubierto la existencia de altos niveles de FtsZ también durante las primeras etapas del crecimiento de *Streptomyces*. En esta etapa, FtsZ participa en la formación de septos membranosos (sin peptidoglicano). Además, mediante el estudio del fosfo-proteoma, hemos visto que FtsZ se fosforila en dos serinas de la parte final de la proteína y estas modificaciones post-traduccionales son mucho más frecuentes durante la esporulación que en las primeras etapas de crecimiento. En este trabajo analizamos el papel de la fosforilación de FtsZ durante el ciclo de vida de *Streptomyces coelicolor* mediante la realización de 4 mutantes donde los residuos de serina se han cambiado a residuos que simulan la no-fosforilación (alanina) o la fosforilación permanente (ácido glutámico). De esta forma, hemos podido obtener derivados con diferentes grados de fosforilación, y estudiar el impacto de estos cambios en la función de FtsZ. El análisis por diferentes metodologías de estos cuatro mutantes ha dado como resultado fenotipos muy diferentes en cuanto a crecimiento, morfogénesis, esporulación y producción de antibióticos.

### **Análisis bioinformáticos para el estudio de la función y distribución de morones en genomas de bacteriófagos**

**Júlia López-Pérez**<sup>1</sup>, Ivan Erill<sup>1,2</sup>, Pilar Cortés<sup>1</sup>, Montserrat Llagostera<sup>1</sup>

(1) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Biociències, Edifici C, Campus de la UAB, Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), España

(2) University of Maryland Baltimore County, Biological Sciences, Baltimore, Estados Unidos

La fagoterapia se presenta como una alternativa muy atractiva a los antibióticos. Debido a que los fagos contienen un gran número de genes sin función definida, es primordial analizar sus genomas para evitar el uso de fagos con genes implicados en lisogenia, resistencia antibiótica, etc. En este estudio se presentan los análisis bioinformáticos necesarios para investigar la distribución y función de genes fágicos con función anotada aparentemente bacteriana (morones) o sin función. Concretamente se presenta el estudio de 11 genes de un bacteriófago de Salmonella como validación de la metodología. Mediante análisis basados en homología se ha determinado que estos genes codifican proteínas con similitud a las codificadas por el operón ter bacteriano. La presencia de este operón en bacterias se ha relacionado con resistencia a telurio, pero también resistencia a bacteriófagos y a colicinas, aun cuando se desconoce su distribución y función en bacteriófagos. Mediante el uso de modelos HMM se pudo determinar la presencia de proteínas homólogas en otros bacteriófagos secuenciados. La mayoría solo tienen una proteína relacionada con el operón ter, y estos están dispersos por la filogenia fágica, sin embargo, un clúster de fagos de Pseudomonas y Escherichia, entre otros, contienen varias proteínas Ter-like. El estudio se ha ampliado usando modelos COG como queries contra proteomas fágicos para obtener una lista exhaustiva de morones. Estos, junto con los métodos descritos en este estudio, se usarán para analizar la abundancia y determinar bioinformáticamente la función en los bacteriófagos de dichos morones, la cual se confirmará después experimentalmente.

Financing: Programa H2020 FAST TRACK TO INNOVATION (H2020-EIC-FTI-2018-2020 ) con el número de referencia No: 820523.

## Descifrando la relevancia biológica de los “operones no-contiguos” en la biología de *Staphylococcus aureus*.

**Pablo Iturbe Sanz**<sup>1</sup>, Iñigo Lasa Uzcudun<sup>1</sup>, Cristina Solano Goñi<sup>1</sup>

(1) Laboratorio de Patogénesis Microbiana. Navarrabiomed - Universidad Pública de Navarra (UPNA), Complejo Hospitalario de Navarra, C/ Irunlarrea 3, 31008 Pamplona, España

Los operones no contiguos son unidades de transcripción formadas por grupos de genes que se transcriben conjuntamente a pesar de estar separados por un gen(es) que se transcribe en dirección contraria. En esta arquitectura de transcripción, el transcrito que se produce en dirección contraria es antisentido al transcrito del operón y se ha propuesto un mecanismo de exclusión mutua mediante la acción de la RNasa de cadena doble, RNaselll. Para evaluar la relevancia que esta organización de transcripción tiene para la biología de la bacteria, en este trabajo hemos utilizado como modelo de estudio el operón *menEC-ytkD-MW1733* de *Staphylococcus aureus*, necesario para la síntesis de la menaquinona. A partir de la organización salvaje, en la que MW1733 se transcribe en dirección contraria al resto del operón, hemos creado variantes en las que MW1733 se expresa desde otra localización del genoma o se expresa en la misma dirección, formando un operón clásico con *menEC-ytkD-MW1731*. Como la menaquinona es un intermediario de la cadena respiratoria, hemos utilizado el equipo Seahorse (Agilent) para comparar la tasa de consumo de oxígeno entre la cepa salvaje y las cepas mutantes en las que hemos alterado la organización de transcripción. Los resultados han mostrado que la tasa de consumo de oxígeno disminuye en las variantes respecto a la salvaje. Esto sugiere que la arquitectura de transcripción del operón no-contiguo *menEC-MW1733-ytkD-MW1731* es la más eficaz para la síntesis de la menaquinona y repercute directamente en la utilización de oxígeno como aceptor final en la cadena respiratoria.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto BIO2017-83035-R (Agencia Española de Investigación/Fondo Europeo de Desarrollo Regional, Unión Europea)

### El cobre citosólico afecta la germinación, el desarrollo y el metabolismo secundario en *Streptomyces coelicolor*

**Nathaly González Quiñónez<sup>1</sup>**, Mario Corte-Rodríguez<sup>2</sup>, Roberto Álvarez-Fernández-García<sup>2</sup>, Beatriz Rioseras<sup>1</sup>, María Teresa López-García<sup>1</sup>, Gemma Fernández-García<sup>1</sup>, Sergio Alonso-Fernández<sup>1</sup>, María Montes-Bayón<sup>2</sup>, Angel Manteca<sup>1</sup>, Paula Yagüe<sup>1</sup>

(1) Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional, IUOPA e ISPA, Facultad de Medicina, Av. Julián Clavería s/n. 33006, Oviedo, España

(2) Universidad de Oviedo, Departamento de Química Física y Analítica e ISPA, Facultad de Química, Av. Julián Clavería, s/n. 33006, Oviedo, España

Los estreptomicetos son uno de los grupos bacterianos más importantes en biotecnología y tienen un ciclo de vida complejo. El cobre es un regulador positivo, bien conocido, de la diferenciación (micelio aéreo y esporulación) y producción de antibióticos en *Streptomyces*. Sin embargo, es poco lo que se sabe acerca de los mecanismos de regulación del nivel de cobre citosólico y las rutas bioquímicas reguladas directa o indirectamente por el cobre. En nuestro grupo hemos desarrollado una nueva tecnología para cuantificar el cobre en esporas individuales, la cual nos ha permitido concluir que, la variación en el nivel de cobre citosólico es uno de los factores que modula el asincronismo en la germinación de las esporas. También hemos caracterizado el sistema de transporte de cobre SCO2730/2731 chaperona de cobre/ATPasa de tipo P1. La cepa de *Streptomyces coelicolor* mutada en SCO2730/2731 muestra: retraso de 10 horas en la germinación, gran cantidad de esporas muertas que no son capaces de germinar, y retraso evidente en el crecimiento y esporulación. Aunque el mutante esporula en medio sólido, nunca alcanza la coloración gris característica de las esporas de la cepa silvestre de *S. coelicolor*. Al mismo tiempo, tiene mayor producción de actinorrodina y undecilprodigiosina que la cepa silvestre. La mutación SCO2730/2731 aumenta la concentración de cobre citosólico durante la fase vegetativa, lo cual se correlaciona con un efecto pleiotrópico en la expresión génica que explica los fenotipos observados. El efecto del cobre en la activación o represión de la expresión génica depende de su concentración.

Financing: European Research Council Ministerio de Economía, Industria y Competitividad Ayuda predoctoral Severo Ochoa (FICYT, Principado de Asturias)

## La adaptación de *Staphylococcus aureus* al medio ambiente esta mediada por termosensores de RNA

**Arancha Catalan Moreno**<sup>1</sup>, Marta Cela<sup>1</sup>, Pilar Menendez-Gil<sup>1</sup>, Naiara Irurzun<sup>1</sup>, Carlos J. Caballero<sup>1</sup>, Isabelle Caldelari<sup>2</sup>, Alejandro Toledo-Arana<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-Gobierno de Navarra), Avenida Pamplona 123, Mutilva (Navarra), España

(2) Université de Strasbourg, CNRS, Architecture et Réactivité de l'ARN, Estrasburgo, Francia

*Staphylococcus aureus* es uno de los patógenos más importante en los hospitales. Puede producir infecciones graves y resistir a la mayoría de los antibióticos. Además, reside de manera asintomática en el 20-30% de la población, desde donde es capaz de contaminar diversos fómites y diseminarse a otros individuos. Su capacidad para sobrevivir en el ambiente favorece estas reinfecciones, acrecentando el riesgo para la salud pública cuando se trata de cepas multiresistentes. Los mecanismos necesarios para la adaptación de la bacteria cuando escapa del hospedador al ambiente son prácticamente desconocidos. En este estudio, descubrimos dos termosensores de RNA parálogos que controlan la producción de dos de las tres proteínas del "cold-shock" (CSPs) de *S. aureus*, CspB y CspC. Demostramos que las 5'UTR de cspB y cspC son capaces de adoptar estructuras alternativas en función de la temperatura. En el ambiente (22°C), las 5'UTRs adoptan una estructura que facilita la traducción (conformación-ON), mientras que en el hospedador (37°C), se forma una estructura alternativa que bloquea la RBS, inhibiendo la traducción (Conformación-OFF). Esta inhibición requiere de la CSP restante, CspA, que reconoce un motivo rico en uridinas para evitar la formación de la conformación-ON, liberar la secuencia anti-RBS y formar de manera estable la conformación-OFF. Mutaciones dirigidas que bloquean ambas 5'UTRs en conformación-OFF impiden el crecimiento de *S. aureus* a temperatura ambiente. Este estudio pone en evidencia la importancia de la termorregulación mediada por RNAs para la supervivencia de *S. aureus* fuera de su hospedador, lo que puede contribuir a su transmisión.

Financing: ERC Consolidator Grant (European Research Council), Ref. ERC-CoG-2014-646869 Agencia Estatal de Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación, Ref PID2019-105216GB-I00



### Ingeniería metabólica de sistemas para la revalorización de residuos plásticos y lignina en bioplásticos utilizando *Pseudomonas putida*

**Dr. Maria-Tsampika Manoli**<sup>1,2</sup>, Dr. Carlos del Cerro<sup>1</sup>, Prof. M. Auxiliadora Prieto<sup>1,2</sup>, Dr. Juan Nogales Enrique<sup>2,3</sup>

(1) Biotecnología de Polímeros, Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Madrid, España;

(2) Plataforma interdisciplinar de plásticos sostenibles para una economía circular (SusPlast-CSIC), Madrid, España;

(3) Departamento de Biología de Sistemas, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid, España

Superadas las primeras generaciones de biofactorias alimentadas por fuentes de carbono fácilmente hidrolizables, las nuevas generaciones requieren de materias primas que no compitan con procesos agrícolas. En este sentido, la posibilidad de utilizar polímeros naturales como la lignina o sintéticos como plásticos derivados del petróleo, no solo cumple este requerimiento, sino que posibilita la sostenibilidad del proceso a la vez que resuelve problemas medioambientales a escala global. En este trabajo, abordamos este reto mediante la revalorización de metabolitos derivados de la lignina y de tereftalato de polietileno (PET) y el poliuretano (PU) en bioplásticos (Polihidroxicanoatos, PHA) usando a la bacteria modelo en biotecnología *Pseudomonas putida* KT2440 usando aproximaciones de ingeniería metabólica de sistemas. En primer lugar, se utilizó el modelo metabólico de *P. putida*, iJN1411, como plataforma computacional para diseñar una colección de cepas in silico superproductoras de PHA a partir de metabolitos derivados de la hidrólisis de estos polímeros. Posteriormente, los diseños más prometedores fueron implementados utilizando tecnologías de vanguardia de edición genética y mutagénesis en esta bacteria. Las cepas resultantes mostraron una producción de PHA muy prometedora. Finalmente, la contextualización fenotípica de estas cepas usando el modelo iJN1411 no sólo identificó los cambios metabólicos claves responsables de esta alta producción, sino que sugirió nuevas intervenciones genéticas que incrementarían aún más los rendimientos obtenidos.

Financing: Agradecemos financiación de los programas Horizonte 2020 de la UE P4SB/no 633962, MixUp/no 870294 y del Ministerio de Economía BIO2017-83448-R



## Un nuevo tipo de proteína LexA controla el sistema SOS en el filo Bacteroidetes

Miquel Sánchez Osuna<sup>1</sup>, Pilar Cortés<sup>1</sup>, Mark Lee<sup>2</sup>, Aaron T. Smith<sup>2</sup>, Jordi Barbé<sup>1</sup>, Ivan Erill<sup>1,3</sup>

(1) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Genètica i de Microbiologia

(2) University of Maryland Baltimore County, Department of Chemistry Biochemistry

(3) University of Maryland Baltimore County, Department of Biological Sciences

Ciertos estreses endógenos y ambientales pueden causar lesiones en el DNA, suponiendo una amenaza directa para la supervivencia celular. En la mayoría de microorganismos, el daño al DNA se aborda mediante una red de regulación transcripcional conocida como respuesta SOS. Este proceso de regulación está gobernado por el activador, RecA, que detecta lesiones en el DNA promoviendo la auto-proteólisis del represor LexA, de la familia S24, que induce la expresión de ciertos genes implicados en la reparación del DNA y el control de la división. Los organismos pertenecientes al filo Bacteroidetes están presentes en nichos muy diversos, incluidos los ambientes acuáticos, suelo, plantas y tracto intestinal de los animales, donde juegan un papel esencial. Debido al amplio abanico de hábitats que ocupan, sus células están expuestas a un gran número de agentes que lesionan el DNA. Sin embargo, en el filo Bacteroidetes aún no se ha descrito la presencia de un sistema de reparación del DNA similar a la respuesta SOS bacteriana. En este trabajo, se combinaron estudios de genómica comparativa con análisis *in vitro* e *in vivo* para elucidar la respuesta SOS en microorganismos del filo Bacteroidetes. De este modo, se reportó una nueva familia de peptidasas S24 que, mediante la unión a dos motivos palindrómicos, controla una respuesta SOS canónica en Bacteroidetes. Los resultados obtenidos destacan la elevada plasticidad de esta red transcripcional, apoyando la hipótesis de que la respuesta SOS se originó a través de la captación de diferentes peptidasas de la familia S24.

Financing: Este trabajo fue apoyado por el Ministerio de Economía y Competitividad [BIO2016-77011-R] y por la National Science Foundation [CHE1844624]

### Sensibilidad colateral a antibióticos mediada por plásmidos

**Cristina Herencias**<sup>1</sup>, Jerónimo Rodríguez-Beltrán<sup>2</sup>, Álvaro San Millán<sup>1</sup>

(1) Centro Nacional de Biotecnología, Biotecnología microbiana, C/ Darwin 3, 28049, Madrid, España

(2) Hospital Universitario Ramón y Cajal (IRYCIS), Servicio de Microbiología, Carretera Colmenar Viejo Km 9.1, 28034, Madrid, España

La sensibilidad colateral es un fenómeno que se produce cuando la adquisición de resistencia a un antibiótico produce un incremento en la susceptibilidad de un segundo antibiótico. La sensibilidad colateral es una alternativa prometedora para frenar el creciente problema de salud pública de la resistencia a antibióticos. Hasta la fecha, las investigaciones en este campo se han centrado en casos de sensibilidad colateral asociados a la adquisición de resistencias mediadas por mutaciones en el cromosoma. Sin embargo, una de las vías principales de diseminación de genes de resistencia a antibióticos en bacterias con relevancia clínica es la transferencia horizontal de genes mediada por plásmidos. Este trabajo proporciona el primer análisis de sensibilidad colateral asociada a la adquisición de plásmidos portadores de resistencia a antibióticos. Entre los plásmidos estudiados en este trabajo se encuentra pOXA-48, plásmido conjugativo de alta relevancia clínica portador de resistencia a antibióticos carbapenémicos. También hemos explorado la conservación filogenética de la sensibilidad colateral mediante el análisis en aislados clínicos de *Escherichia coli*, así como su aplicación para la eliminación selectiva de las bacterias portadoras de plásmidos. En su conjunto, estos resultados sientan las bases para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en la sensibilidad colateral, proporcionando nuevas alternativas para combatir las infecciones producidas por bacterias resistentes a antibióticos.

Financing: ERC grant agreement no. 285 757440-PLASREVOLUTION. Comunidad Autónoma de Madrid (PEJD-2018- 290 POST/BMD-8016)

## Desarrollo de herramientas genéticas modulares para la domesticación de la bacteria depredadora *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100

**Sergio Salgado Briegas**<sup>1,2</sup>, M. Auxiliadora Prieto Jiménez<sup>1,2</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Calle Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, España

(2) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Interdisciplinary Platform for Sustainable Plastics Towards a Circular Economy (SusPlast-CSIC), Calle Serrano, 177, Madrid, España

*Bdellovibrio bacteriovorus*, depredador de otras bacterias Gram-negativas, ha despertado un enorme interés en terapia antimicrobiana y como herramienta lítica para la liberación de productos intracelulares como los bioplásticos o polihidroxialcanoatos. La reciente publicación de su modelo metabólico a escala genómica (iCH455) abre nuevas posibilidades en el estudio de su particular ciclo celular, compuesto por una fase natatoria de ataque a su presa, y una fase intraperiplásmica en la que degrada los componentes celulares de la presa para replicarse. Este modelo permite predecir requerimientos y auxotrofías nutricionales, así como rutas metabólicas incompletas cuya reconstrucción podría reducir dichos requisitos nutricionales o su dependencia de la presa. Sin embargo, a pesar del potencial de *B. bacteriovorus*, carecemos de herramientas genéticas que nos permitan su domesticación, limitándose principalmente a la interrupción de genes mediante recombinación homóloga y su complementación mediante plásmidos replicativos inestables. En este trabajo, hemos desarrollado plásmidos replicativos en *B. bacteriovorus* compatibles con el sistema de ensamblado modular GoldenGate-ModularCloning, que nos permite generar librerías genéticas intercambiables para controlar los niveles de expresión de proteínas heterólogas. Debido a las limitaciones de la expresión de proteínas en plásmidos replicativos, por su variable número de copias en *B. bacteriovorus*, hemos puesto a punto la integración cromosómica mediada por el transposón Tn7, caracterizada por localizarse en un punto concreto del genoma. La inserción en esta región de una proteína fluorescente fusionada a diferentes componentes de una unidad génica (promotores, RBS o terminadores) nos permite determinar rápidamente su influencia en los niveles de expresión y depredación.

Financing: Este trabajo ha sido financiado gracias a la Ayuda FPU17/03978 y los proyectos H2020 Eurocoin 7690994 y BIO2017-83448-R.

### **Arthrobacter sp. Helios una nueva cepa altamente resistente al estrés por falta de agua: un chasis robusto para aplicaciones biotecnológicas**

**Gabriel Hernández**<sup>1</sup>, María Castillo<sup>1</sup>, Laura Castro<sup>3</sup>, Manuel Carmona<sup>1</sup>, Juana María Navarro<sup>2</sup>, José Luis García<sup>1</sup>, Beatriz Galán<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas, Margarita Salas; - CSIC, Biotecnología Microbiana y de Plantas, Calle Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Complutense s/n, 28040, Madrid, España

(3) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Ingeniería Química y de Materiales, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Complutense s/n, 28040, Madrid, España

Arthrobacter sp. Helios es una actinobacteria aislada de unos paneles solares de Valencia, España. Su estudio ha revelado que es altamente resistente a la desecación comparado con Deinococcus radiodurans, la cepa xerotolerante modelo. Esta bacteria no solo destaca por su tolerancia a la falta de agua sino por su resistencia a otras condiciones extremas, ya que es capaz de crecer en medios hipertónicos con una alta concentración de sales y también en presencia de altas concentraciones de PEG 6000, aparte de poder sobrevivir a grandes dosis de radiación ultravioleta. Cabe destacar que Arthrobacter sp. Helios es capaz de producir nanopartículas de selenio y que presenta una gran versatilidad nutricional, de manera que tiene la capacidad de degradar distintos compuestos recalcitrantes a la biodegradación, como puede ser el colesterol. Esta bacteria también presenta algunas propiedades potencialmente promotoras del crecimiento de plantas, puesto que hemos observado que puede producir ácido indolacético y solubilizar fosfatos inorgánicos. Estas cualidades son propias de bacterias que presentan un estilo de vida endofítico y son muy útiles para conseguir distintas aplicaciones agrícolas. Además, hemos conseguido utilizar herramientas para modificar genéticamente esta bacteria mediante la colección de plásmidos pSEVA. De esta forma, planteamos que Arthrobacter sp. Helios podría convertirse en un chasis xerotolerante que puede ser ampliamente utilizado para numerosas aplicaciones biotecnológicas, como pueden ser biofiltros o como promotor del crecimiento de plantas.

## Impacto de la transferencia horizontal y de la mutagénesis en la emergencia de resistencia a bacteriófagos

Jennifer Otero<sup>1</sup>, Júlia López-Pérez<sup>1</sup>, Miquel Sánchez-Osuna<sup>1</sup>, Susana Campoy<sup>1</sup>, Iván Erill<sup>1,2</sup>, Jesús Aranda<sup>1</sup>, Jordi Barbé<sup>1</sup>, Pilar Cortés<sup>1</sup>, Montserrat Llagostera<sup>1</sup>

(1) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Biociències, Edifici C, Campus UAB, Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), España

(2) University of Maryland Baltimore County, Department of Biological Sciences, United States

La terapia fágica es una alternativa real a los antibióticos para luchar contra la diseminación de cepas bacterianas resistentes a los antimicrobianos. No obstante, algunos aspectos como la resistencia a los fagos no se conocen en profundidad. Este estudio caracteriza la emergencia de resistencia de *Salmonella* a bacteriófagos en tres escenarios, tras el uso de un cóctel de fagos. En cultivos de laboratorio infectados con el cóctel, el 92 % de los aislados fueron resistentes a los tres fagos a las 24 h del tratamiento. En jamón cocido infectado experimentalmente con *Salmonella* y tratado con el cóctel, solo el 1,9% de los aislamientos fueron resistentes a los tres fagos y un 1,8% a dos de ellos. En terapia fágica oral en pollos de engorde, contaminados con *Salmonella* y tratados con el cóctel, no se obtuvieron aislamientos resistentes a los tres bacteriófagos. En cambio, sí se detectaron en animales no tratados (8,6 %). Tanto en los animales control como en los tratados, el 1,1 y 3,3%, respectivamente, de los aislamientos mostró un fenotipo de resistencia compatible con una infección abortiva. Los mecanismos de resistencia implicados difirieron en los escenarios estudiados. En jamón cocido y cultivos de laboratorio, determinadas mutaciones en los genes *rfc* y *rfaJ*, implicados en la síntesis de LPS, fueron responsables de la resistencia. En los estudios en animales, los resultados apuntan a que el mecanismo responsable se debe a genes de resistencia aún no identificados, adquiridos por transferencia lateral.

Financing: Programa H2020 FAST TRACK TO INNOVATION (H2020-EIC-FTI-2018-2020 ) con el número de referencia No: 820523.

### Genetic barcodes allow traceability of CRISPR/Cas9-derived *Aspergillus niger* strains without affecting their fitness

Sandra Garrigues<sup>1</sup>, Roland S. Kun<sup>1</sup>, Ronald P. de Vries<sup>1</sup>

(1) Fungal Physiology, Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Uppsalalaan 8, 3584CT Utrecht, The Netherlands

Safe use of genetically modified organisms (GMOs) in biotechnology requires the ability to track the presence of these strains in any environment in which they are applied. For this, introduction of genetic barcodes within the editing site represents a valuable tool for the identification of microbial strains that have undergone genetic modifications. However, it is not known whether these barcodes would have any unexpected effect in the resulting strains or affect the efficiency of the genetic modification. CRISPR/Cas9 has become one of the fastest-growing technologies for genome editing in a range of organisms, including fungi. However, this technology enables the generation of scarless GMOs that are very difficult to distinguish from naturally occurring mutants or other modified organisms. In this study, we address this issue using the industrial workhorse *Aspergillus niger* as a test case. We applied the CRISPR/Cas9 technology to delete the genes encoding the transcriptional regulators XlnR and AraR, involved in the production of plant biomass-degrading enzymes. We generated 20-bp barcoded and non-barcoded  $\Delta$ xlnR and  $\Delta$ araR mutants and analyzed the traceability and fitness of the resulting strains, as well as the efficiency of the genetic modification. Results showed that both barcoded and non-barcoded mutants can be traced by routine PCR reactions when the specific CRISPR/Cas9 modification is known. Additionally, barcodes neither affected the efficiency of the genetic modification nor the growth or protein production of the resulting strains. These results confirm the suitability of genetic barcodes to trace CRISPR-derived GMOs without affecting the performance of the resulting strains.

Financing: Applied Science division (TTW) of the NWO and the Technology Program of the Ministry of Infrastructure and Water Management 15807.



## Caracterización molecular de *Wolbachia pipientis* en poblaciones autóctonas de mosquito común para uso en biocontrol del mosquito tigre en València

**Aleksandra Norczyk Simon**<sup>1</sup>, María Martín Vicent<sup>1</sup>, Emilio Garrote Sánchez<sup>1</sup>, Messaoud Khoubbane<sup>2</sup>, María Trelis Villanueva<sup>2</sup>, Rebeca Domínguez Santos<sup>1</sup>, Fermín Quero de Lera<sup>3</sup>, Rubén Bueno Mari<sup>2,4</sup>, Antonio Marcilla Díaz<sup>2</sup>, M. Rosario Gil García<sup>1</sup>

(1) Programa de Biología de Sistemas Evolutiva de Simbiontes, Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, Universitat de València – CSIC, Paterna (Valencia), España

(2) Área de Parasitología, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología, Facultat de Farmàcia, Universitat de València, Burjassot (Valencia), España

(3) Servicio de Sanidad y Consumo Responsable, Ajuntament de València, València, España

(4) Departamento de Investigación y Desarrollo, Laboratorios Lokímica, Paterna (Valencia), España

El control biológico de plagas de insectos se ha extendido en los últimos tiempos como alternativa al uso de insecticidas. Una de estas estrategias es el uso de *Wolbachia*, alfa proteobacteria que infecta al 40% de artrópodos, causando alteraciones de su capacidad reproductiva, desde feminización de machos hasta incompatibilidad citoplasmática, provocando la muerte de los embriones. Estas alteraciones son provocadas por variantes del virus bacteriófago WO, integrado en el genoma de más del 80% de cepas de *Wolbachia* descritas. Estudios realizados sobre *Wolbachia pipientis* wPip, endosimbionte del mosquito común *Culex pipiens*, han identificado cinco grupos de incompatibilidad. También se ha demostrado empíricamente la incompatibilidad entre cepas obtenidas a partir de especies distintas. Así, la cepa wPip tiene un efecto bloqueante de la fertilidad cuando se introduce en machos del mosquito tigre *Aedes albopictus* y éstos se aparean con hembras que poseen cepas de *Wolbachia* habituales en esta especie (wAlbA y wAlbB). En este estudio presentamos la caracterización molecular de *Wolbachia* wPip procedente de poblaciones naturales de mosquitos comunes de València, con el fin de seleccionar la más adecuada para introducirla en machos de *Ae. albopictus* previamente curados de *Wolbachia*. Su liberación controlada permitirá su apareamiento con hembras de la población natural de mosquitos tigre en la ciudad, lo que será útil para la reducción de la población de esta especie de mosquito capaz de transmitir hasta 22 enfermedades infecciosas, algunas causadas por virus de gran repercusión como Chikungunya, Dengue o Zika.

Financing: E-02401-2019-001377-00 (Ajuntament de València), PGC2018-099344-B-I00 (MICINN y FEDER)



### Producción biotecnológica de proteínas antifúngicas en hongos filamentosos: Efecto del promotor y la biofactoría

**Paloma Manzanares**<sup>1</sup>, Mónica Gandía<sup>1</sup>, Moisés Giner-Llorca<sup>1</sup>, Elena Moreno<sup>1</sup>, Carolina Roperó<sup>1</sup>, Antonella Locascio<sup>1</sup>, Sandra Garrigues<sup>1</sup>, Pedro V. Martínez -Culebras<sup>1,2</sup>, Jose F. Marcos<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA-CSIC), Departamento de Biotecnología de Alimentos, C/ Catedrático Agustín Escardino 7, 46980 Paterna (Valencia), España

(2) Universitat de València, Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Bromatología, Toxicología y Medicina Legal, C/ Vicente Andrés Estellès s/n, 46100 Burjassot (Valencia), España

Las proteínas antifúngicas (AFPs) de hongos filamentosos, de pequeño tamaño, catiónicas, ricas en cisteína y extremadamente estables, son una alternativa prometedora para el desarrollo de nuevos antimicóticos. Su producción biotecnológica es uno de los requisitos para su aplicación. La utilización de un casete de expresión basado en el promotor y terminador del gen *paf* de la proteína antifúngica PAF de *Penicillium chrysogenum*, ha permitido la producción homóloga y heteróloga de distintas AFPs. Hemos demostrado que la proteína antifúngica PeAfpA de *Penicillium expansum* es una de las más potentes que se conocen, y que se secreta y purifica fácilmente del medio de cultivo en cantidades relevantes. Por ello, en este estudio hemos diseñado un nuevo casete de expresión basado en el promotor y terminador del gen *PeafpA*, utilizando el sistema de clonaje modular FungalBraid. Hemos comparado la eficacia de ambos casetes para producir PeAfpA y la PdAfpB de *Penicillium digitatum* en dos biofactorías: *P. chrysogenum* y *P. digitatum*. Nuestros resultados indican que PeAfpA sólo se produce bajo el control de su propio promotor. La cantidad de proteína en los sobrenadantes de cultivo de *P. chrysogenum* fue muy superior a la detectada en los de *P. digitatum*, lo que convierte a *P. chrysogenum* en una buena biofactoría para la producción de PeAfpA. En cambio, PdAfpB sólo se produce bajo el control del promotor *paf*, siendo detectadas cantidades mucho más altas en los cultivos de *P. digitatum*. Estos resultados no se correlacionan con la potencia de ambos promotores medida con un gen marcador.

Financing: Proyectos RTI2018-101115B-C21 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, fondos FEDER) y PROMETEO/2018/066 (Conselleria d'Educació, Generalitat Valenciana)

## Expresión heteróloga, ingeniería y caracterización de una nueva lacasa de *Agrocybe pediades* con propiedades prometedoras como biocatalizador

**Pablo Aza**<sup>1</sup>, Gonzalo Molpeceres<sup>1</sup>, Francisco J. Ruiz-Dueñas<sup>1</sup>, Susana Camarero<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Biotecnología Microbiana y de Plantas, C/ Ramiro de Maeztu, N°9, MADRID, España

Los hongos Agaricomycetes responsables de la descomposición de la madera y de otros sustratos lignocelulósicos constituyen una valiosa fuente de enzimas degradadoras de lignina. Entre estas, las lacasas (oxidasas multicobre) presentan un notable potencial biotecnológico como biocatalizadores dada su capacidad de oxidar una amplia gama de compuestos aromáticos utilizando como único requisito el oxígeno. Las lacasas de especies saprótrofas de Agaricales, a pesar de ser excelentes fuentes de estas enzimas, han sido mucho menos estudiadas que las lacasas de Poliporales. En este trabajo, el gen de una nueva lacasa de *Agrocybe pediades*, que es secretada por el hongo durante la degradación de la lignocelulosa, fue sintetizado de novo y expresado en *Saccharomyces cerevisiae* utilizando evolución dirigida de la enzima y un péptido señal previamente mejorado. La caracterización de las nuevas variantes de lacasa obtenidas proporcionó nuevos conocimientos sobre la contribución de diferentes residuos de la enzima para modular la producción, actividad catalítica o el pH óptimo de las lacasas. La variante seleccionada, con dos mutaciones de diferencia con la lacasa nativa, mostró propiedades muy interesantes como biocatalizador, como la capacidad de oxidar una amplia gama de sustratos, incluyendo mediadores de alto potencial redox y colorantes orgánicos recalcitrantes, además de mayor actividad a pH neutro y alta tolerancia a ciertos inhibidores. Por último, demostramos la existencia de tres sitios de N-glicosilación en la lacasa y su distinto efecto sobre la secreción o la actividad catalítica de la enzima.

### Caracterización estructural, diseño racional y producción biotecnológica de variantes de secuencia de proteínas antifúngicas de hongos

**Moisés Giner-Llorca**<sup>1</sup>, Francisca Gallego<sup>2</sup>, Alberto Marina<sup>2</sup>, Paloma Manzanares<sup>1</sup>, Jose F. Marcos<sup>1</sup>  
(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Departamento de Biotecnología de Alimentos, Calle Catedrático Agustín Escardino, 7, 46980 Paterna (Valencia), España  
(2) Instituto de Biomedicina de Valencia, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Departamento de Genómica y Proteómica, Calle Jaume Roig, 11, 46010 Valencia, España

Los patógenos fúngicos representan un riesgo importante para la agricultura, la seguridad alimentaria y la salud humana. Los hongos fitopatógenos son la principal amenaza para los cultivos y causan importantes pérdidas económicas en la industria agroalimentaria. Las proteínas antifúngicas (AFPs) son pequeñas proteínas catiónicas y ricas en cisteínas, producidas y secretadas por determinados hongos filamentosos en cultivo líquido. Las AFPs son una alternativa prometedora como biofungicidas frente a los fungicidas químicos debido a su elevada estabilidad, actividad y especificidad antifúngica. Hemos caracterizado las tres AFPs pertenecientes a tres clases filogenéticas (PeAfpA, PeAfpB y PeAfpC) codificadas en el genoma de *Penicillium expansum*, fitopatógeno de frutos de hueso. PeAfpA tiene una elevada actividad antifúngica frente a hongos y levaduras (MIC 1-8  $\mu\text{M}$ ), PeAfpB tiene una actividad moderada (MIC 12-50  $\mu\text{M}$ ), y PeAfpC es la menos activa. En este estudio, hemos resuelto la estructura tridimensional de la proteína PeAfpB de *P. expansum* mediante cristalografía de rayos X con una resolución de  $\sim 1$  Å. Basándonos en esta estructura y en la homología de secuencia entre AFPs de las clases A y B, hemos diseñado cinco variantes de secuencia de PeAfpB intercambiando regiones específicas de la secuencia de PeAfpB con otras pertenecientes a PeAfpA. Todas las variantes han sido clonadas, producidas biotecnológicamente y purificadas mediante el sistema de clonaje modular FungalBraid y utilizando *Penicillium chrysogenum* como biofactoría. El estudio de estas variantes permitirá mapear los dominios estructurales más relevantes para su actividad antifúngica y avanzar en el diseño racional de nuevas variantes con propiedades mejoradas.

Financing: Proyectos RTI2018-101115B-C21 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, fondos FEDER) y PROMETEO/2018/066 (Conselleria d'Educació, Generalitat Valenciana).

## Caracterización genética y funcional de un riboswitch de respuesta a cobalamina en el género *Mycobacterium*

ELENA CAMPOS-PARDOS<sup>1,2</sup>, SANDRA PÉREZ-JIMÉNEZ<sup>1</sup>, JESÚS GONZALO-ASENSIO<sup>1,2</sup>

(1) Grupo de Genética de Micobacterias, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza, IIS Aragón, Zaragoza, España

(2) CIBER Enfermedades Respiratorias, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

La vitamina B12 (B12), o cobalamina, participa en múltiples rutas del metabolismo central de células eucariotas y procariotas, presentándose como un enfoque interesante para estudiar las interacciones patógeno-hospedador. Solo algunas bacterias y arqueas pueden sintetizar B12 de novo y, en este contexto, el género *Mycobacterium* presenta gran diversidad genética en la ruta de síntesis de B12. Las metionina sintetas -MetH y MetE- que catalizan la reacción final en la biosíntesis de metionina, son enzimas dependientes de B12. Mientras que MetH requiere B12 como cofactor, la expresión de MetE está controlada por un riboswitch sensor de B12 en el extremo 5'UTR del gen codificante. Basándonos en evidencias previas, realizamos un análisis de homología de secuencia y observamos que, aunque el riboswitch de metE está conservado en el Complejo M. tuberculosis (MTBC), existen múltiples polimorfismos en micobacterias ambientales, como *M. smegmatis*. A continuación, con el objetivo de estudiar diferencias a nivel de regulación del riboswitch, y comprender el papel de la B12 en la síntesis de metionina, construimos mutantes knock-out de los genes metE y metH en cepas de *M. smegmatis*, *M. tuberculosis* y *M. canettii* (último ancestro conocido del MTBC). Tras caracterizar su crecimiento en medios sin suplementar y suplementados con isoformas de B12, se realizó una caracterización bioquímica. Nuestros resultados demuestran que el riboswitch de metE es funcional en el género *Mycobacterium*, aunque con ciertas diferencias dependientes de especie.

Financing: \*Ayudas Formación Profesorado Universitario, Ministerio de Educación y Formación Profesional. Ref.:FPU17/02909\*Proyecto Nacional I+D+i, Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. Ref.:PID2019-104690RB-I00

### Búsqueda de agrupamientos de genes de biosíntesis de compuestos derivados de 2-hidroxibenzoatos en *Streptomyces*.

**María Soledad González Moreno**<sup>1,2,3</sup>, Miriam Rodríguez<sup>1,2,3</sup>, Carmen Méndez<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional, Área de Microbiología, Facultad de Medicina, Oviedo, España

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

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

*Streptomyces* es un gran productor de compuestos bioactivos como antibióticos y antitumorales, codificados por agrupaciones de genes de biosíntesis (BGC). El análisis de los genomas de *Streptomyces* utilizando herramientas bioinformáticas (genome mining) reveló que contienen un número mayor al esperado de BGC y por tanto una potencialidad superior de producir compuestos bioactivos. Estos BGC suelen estar silenciosos o expresarse poco en condiciones de laboratorio. Sin embargo, los análisis bioinformáticos no son capaces de identificar todos los BGC en un *Streptomiceto*. El 2-hidroxibenzoato (2HB) es una unidad estructural que forma parte de compuestos como el anticancerígeno tetraciclina SF2575 o el antibiótico nataxazol. Se sintetiza a partir de corismato mediante una Salicilato Sintasa. Utilizando el gen *ssfH* que codifica la Salicilato Sintasa de tetraciclina SF2575, se ha realizado un análisis bioinformático de genomas de *Streptomyces* en bases de datos y se han diseñado oligonucleótidos para amplificar por PCR secuencias homólogas en la colección "CS" de *Streptomyces* (Malmierca et al., 2018). Como consecuencia, se han identificado varias cepas con BGCs con genes homólogos a *ssfH*, de los cuales se han seleccionado para estudiar en mayor profundidad uno de *Streptomyces glaucescens* GLA.O y dos de *Streptomyces* CS123. El estudio metabólico por UPLC de estas cepas silvestres y sus respectivos mutantes deficientes en *ssfH*, ha mostrado la presencia de compuestos diferenciales. Estos compuestos son susceptibles de ser metabolitos secundarios derivados de 2HB producidos por los BGCs de interés y que podrían corresponder a nuevos compuestos bioactivos. Malmierca MG et al., (2018). *Front Microbiol.* 9:39.

## Identificación in silico de transposones en el genoma del probiótico *Shewanella.sp* Pdp11

**Olivia Pérez Gómez**<sup>1</sup>, Lorena Aguilera Cobos<sup>2</sup>, Manuel Gonzalo Claros Diaz<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Carmen Balebona<sup>1</sup>, Miguel Angel Moriñigo Gutierrez<sup>1</sup>, Pedro Seoane Zonjic<sup>2</sup>, Silvana Teresa Tapia Paniagua<sup>1</sup>

(1) Universidad de Málaga, Grupo de biocontrol y prevención de enfermedades en acuicultura, Departamento de Microbiología, Facultad de ciencias, Av Bulevar Luis Pasteur,31,29010, Málaga, España

(2) Universidad de Málaga, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad ciencias, Av Bulevar Louis Pasteur,31,29010, Málaga, España

*Shewanella sp.* Pdp11 (Pdp11) es una bacteria considerada probiótica para especies cultivadas como lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) y dorada (*Sparus aurata*) (Chabrilón et al., 2005). Este género bacteriano presenta cepas descritas como patógenas (Esteve et al., 2017) y ambientales disponibles en la colección de cepas tipo. Se desconocen los mecanismos genéticos implicados en la presencia o ausencia de patogénesis. Uno de estos mecanismos puede estar vinculado a la presencia de transposones (Tp). La identificación de Tp ha sido mediante ISEScan y tp\_finder, el workflow se ha puesto a punto por el grupo. Se han identificado 6 transposones en Pdp11 que no están presentes en el resto de cepas analizadas. Entre los genes interrumpidos destaca la proteína que pertenece a la familia PhzE y es esencial para la biosíntesis de fenazina, pigmento esencial para la formación de biofilm en cepas patógenas (Ramos et al., 2010). La interrupción de este gen por parte del transposón podría explicar la ausencia de biofilm en Pdp11 y por tanto la ausencia de patogenicidad. Chabrilón, M., Rico, et al., (2005). Interactions of microorganisms isolated from gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., on *Vibrio harveyi*, a pathogen of farmed Senegalese sole, *Solea senegalensis* (Kaup). *Journal of Fish Diseases*. Esteve, C., et al., (2017). An outbreak of *Shewanella putrefaciens* group in wild eels *Anguilla anguilla* L. favoured by hypoxic aquatic environments. *Journal of Fish Diseases*. Ramos, I., Dietrich, et al., (2010). Phenazines affect biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* in similar ways at various scales. *Research in Microbiology*.

Financing: AGL2017-83370-C3-3-R



### Identificación de linajes bacterianos en *Salmonella* por citometría de flujo

**María Antonia Sánchez-Romero**<sup>1</sup>, Rocío Fernández-Fernández<sup>2</sup>, David R. Olivenza<sup>2</sup>, Josep Casadesús<sup>2</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Calle Profesor García González, 2, Sevilla, España

(2) Universidad de Sevilla, Genética, Facultad de Biología, Avenida Reina Mercedes, 6, Sevilla, España

Mientras que la capacidad de las células eucarióticas para diversificarse en linajes se describe incluso en los libros de texto, tradicionalmente se ha considerado que las bacterias eran clones de células idénticas. Sin embargo, el desarrollo de tecnologías que permiten el análisis de células individuales ha revelado que la heterogeneidad fenotípica es un fenómeno común en las poblaciones bacterianas. La citometría de flujo tiene la capacidad de describir la distribución de propiedades celulares a nivel individual dentro de una población bacteriana y puede proporcionar información sobre la capacidad de células isogénicas para diversificarse en subpoblaciones fenotípicas. En esta comunicación discutiremos la aplicación de la citometría de flujo a la caracterización de subpoblaciones bacterianas y describiremos diversos enfoques que hemos utilizado para detectar heterogeneidad fenotípica en poblaciones de *Salmonella enterica*.

Financing: Ministerio de Economía, Industria y Competitividad - Agencia Estatal de Investigación (BIO2016-75235-P)



## Xerotolerancia, una nueva propiedad del género *Exiguobacterium*.

**María Castillo López**<sup>1</sup>, Beatriz Galán Sicilia<sup>1</sup>, Manuel Carmona Pérez<sup>1</sup>, Juana María Navarro Llorens<sup>2</sup>, Jose Luis García López<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC), Biotecnología Medioambiental, Calle Ramiro de Maeztu 9, Madrid, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Complutense s/n, 28040, Madrid, España

*Exiguobacterium* sp. Helios, una bacteria altamente xerotolerante aislada de un panel solar en Valencia (España) presenta una relación filogenética cercana con *Exiguobacterium sibiricum* 255-15, aislada del permafrost en Siberia. La xerotolerancia no había sido descrita como una característica de este género extremadamente diverso, pero ambas cepas Helios y 255-15 han mostrado una resistencia a la desecación superior a la cepa modelo *Deinococcus radiodurans*, referencia de xerotolerancia. Se han observado cambios significativos en la morfología de las células de Helios después de la desecación, lo que sugiere que la estructura de la superficie celular juega un papel importante en su xerotolerancia. Además de esta notable resistencia a la desecación, la cepa Helios muestra varias características poliextremófilas que la convierten en un chasis prometedor para aplicaciones biotecnológicas. Helios produce nanopartículas de selenio en presencia de selenito debido a su mecanismo de resistencia, y hemos desarrollado un protocolo de transformación utilizando el plásmido de *Lactobacillus* pRCR12 marcado con un gen cherry, siendo la primera vez que una bacteria de este género ha sido transformada. La comparación de los genomas de Helios y 255-15 ha revelado varias similitudes y diferencias interesantes. Ambas cepas contienen un conjunto de genes de transformación relacionados con competencia, sugiriendo que podrían tener competencia natural, y un set incompleto de genes involucrados en la esporulación, pese a que estas cepas no producen esporas, sugiriendo que podrían estar implicados en la xerotolerancia.

### **Análisis bioinformático de clústeres biosintéticos para la producción de azafilonas en hongos filamentosos del género *Pseudogymnoascus***

**Vicente Oliva Galleguillos<sup>1</sup>**, Pablo Villanueva<sup>1</sup>, Diego Palma<sup>1</sup>, Mariana Montanares<sup>1</sup>, Renato Chávez<sup>2</sup>, Inmaculada Vaca<sup>1</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Avenida Libertador Bernardo O'Higgins 3363, Estación Central, Santiago, Chile

Las azafilonas son metabolitos secundarios de interés biotecnológico pues poseen un amplio espectro de actividades biológicas y son utilizadas como pigmentos naturales. Hasta ahora se han aislado más de 600 azafilonas distintas, pero solo se han caracterizado 7 clústeres de genes biosintéticos (BGCs) para la producción de azafilonas en hongos de los géneros *Aspergillus*, *Monascus*, *Talaromyces* y *Chaetomium*. En el caso de los hongos del género *Pseudogymnoascus*, su metabolismo secundario es poco conocido. Con el objetivo de investigar su potencial de producción de azafilonas se realizó un análisis bioinformático de los BGCs en 13 genomas de hongos de este género. Mediante los software antiSMASH y BIGSCAPE, se determinó que 8 de los 13 genomas analizados poseen BGCs para la síntesis de azafilonas. Al comparar los BGCs identificados con los ya conocidos de azafilonas fúngicas, se observó una alta diversidad entre los clústeres de azafilonas de *Pseudogymnoascus*, identificándose 3 familias de clústeres. Un análisis mediante máxima verisimilitud de las PKS no reductoras de todos los clústeres analizados confirmó este resultado. Una familia contiene clústeres provenientes de cepas del complejo *Pseudogymnoascus verrucosus*. La segunda familia agrupa a clústeres de cepas cercanas a *Pseudogymnoascus roseus* y *Pseudogymnoascus destructans*. Finalmente, la tercera familia agrupa clústeres de las cepas *Pseudogymnoascus* sp. FAE27 y *Pseudogymnoascus* sp. VKM4520, aisladas desde una esponja marina antártica y permafrost, respectivamente, las cuales son filogenéticamente distantes, pero comparten su procedencia desde ambientes extremos. Nuestros resultados indican que el género *Pseudogymnoascus* posee un interesante e inexplorado potencial para el aislamiento de azafilonas.

Financing: Becas ANID Doctorado Nacional - 2018-21181056 (V.O.) y 2018-21180894 (M.M.); Beca INACH MG\_07-20 (P.V.); Proyecto FONDECYT 1211830.

## Evolución del operón *opvAB*: análisis experimental basado en teoría de juegos

**Rocío Fernández Fernández**<sup>1</sup>, David R. Olivenza<sup>1</sup>, María Antonia Sánchez Romero<sup>2</sup>, Josep Casadesús<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Genética, Facultad de Biología, Apartado 1095, Sevilla, España

(2) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Calle Profesor García González, 2, Sevilla, España

Una predicción basada en teoría de juegos, propuesta por R. Levins en 1950-60, es que en ambientes fluctuantes resulta ventajoso para las poblaciones biológicas presentar más de un fenotipo. En cambio, cuando las condiciones ambientales permanecen constantes, el coste del polimorfismo puede ser demasiado elevado para mantenerlo. Aunque la predicción de Levins se refiere al polimorfismo genético, parece lógico extenderla al polimorfismo no mutacional ya que la selección natural actúa sobre el fenotipo. En este estudio hemos sometido a análisis experimental el modelo de Levins usando el operón *opvAB* de *Salmonella enterica*, que codifica proteínas que modifican la longitud del LPS. La expresión del operón *opvAB* está sujeta a variación de fase controlada por metilación Dam, produciendo subpoblaciones con fenotipos diferentes: las células *OpvABOFF* son sensibles a fagos que utilizan el LPS como receptor y las células *OpvABON* son resistentes. Hemos sometido el modelo de Levins a análisis experimental determinando las contribuciones relativas de la variación de fase y la mutación a la supervivencia de *Salmonella* en ambientes fluctuantes (alternando ciclos de selección y ausencia de selección en presencia de fago o de suero) y no fluctuantes (ejerciendo selección continua con fago o con suero). Los resultados obtenidos avalan el modelo de Levins: en un ambiente fluctuante, la variación de fase predomina sobre la mutación. En cambio, la mutación constituye el mecanismo mayoritario de adaptación de la población bacteriana si la presión selectiva es continuada.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. Agencia Estatal de Investigación. Fondo Social Europeo.

## Estudio de la microbiota intestinal que metaboliza gluten desde el nacimiento hasta la introducción del gluten en la dieta

**Yaiza Carnicero Mayo**<sup>1</sup>, Jenifer Pérez-Andrés<sup>1</sup>, Miguel Ángel Ferrero García<sup>2</sup>, Leandro Benito Rodríguez Aparicio<sup>2</sup>, Francisco Javier Casqueiro Blanco<sup>1</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Campus de Vegazana s/n 24007 León, España

(2) Universidad de León, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana s/n 24007 León, España

Diversos estudios han demostrado que el intestino humano alberga bacterias capaces de metabolizar el gluten. Sin embargo, se desconoce si esas bacterias están presentes en la microbiota intestinal de los recién nacidos. El objetivo de este estudio fue conocer cómo evoluciona la microbiota que metaboliza gluten desde el nacimiento hasta la introducción del gluten en la dieta. Para ello, se aislaron las bacterias que metabolizan gluten de 23 meconios, 10 muestras fecales de niños en periodo de lactancia y 10 muestras fecales tomadas tras la introducción del gluten en la dieta. De entre todos los aislados, se seleccionaron 204 cepas capaces de metabolizar el gluten y se identificaron mediante la secuenciación parcial del gen codificante para el ARNr 16S. En los meconios se observó una clara predominancia de los géneros *Enterococcus* y *Escherichia*. En las heces de los lactantes se detectó un aumento en la presencia de los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. Tras la introducción del gluten en la dieta, se incrementó notablemente la presencia de otros géneros capaces de metabolizar el gluten, como *Clostridium*, *Bacteroides* o *Veillonella*. Estos resultados confirman la presencia de bacterias capaces de metabolizar el gluten en el intestino humano incluso antes del nacimiento. Este estudio muestra también que los principales géneros involucrados en el metabolismo del gluten en adultos están también presentes en los niños. Algunas de las cepas aisladas podrían tener un alto potencial probiótico para el tratamiento de la enfermedad celiaca.

Financing: Investigación financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (SAF2015-64306-R).

## Evoglow Pp1 y mCherry: Un sistema de marcaje doble para bacterias lácticas

**Susana Langa<sup>1</sup>**, Ángela Peirotén<sup>1</sup>, Clara Sebastián<sup>1</sup>, Juan Luis Arqués<sup>1</sup>, José María Landete<sup>1</sup>  
(1) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-CSIC), Tecnología de Alimentos, Ctra. de la Coruña Km. 7.5, 28040, Madrid, Spain

El empleo de proteínas fluorescentes para la monitorización de diversos procesos biológicos está muy extendido. Así, la proteína fluorescente mCherry destaca por su fotoestabilidad y rápida maduración. La mayoría de estas proteínas necesitan oxígeno para emitir fluorescencia, sin embargo, otras como la Evoglow-Pp1, permite su detección en condiciones anaerobias. En este trabajo, el gen *mrfp* que codifica para la proteína mCherry fue clonado en pNZ:Tu (pNZ:TuR.mCherry) para su expresión en bacterias lácticas. Posteriormente, modificamos un plásmido previamente desarrollado que alberga el gen de la proteína Evoglow-Pp1 (pNZ:TuR.aFP), para clonar juntos los genes *evoglow-Pp1* y *mrfp* mediante dos estrategias: el plásmido pNZ:TuR.aFP.mCherry, que da lugar a una proteína quimera, y el plásmido pNZ:TuR.aFP.STOP.mCherry, que da lugar a la expresión de las proteínas Evoglow-Pp1 y mCherry por separado bajo la influencia del mismo promotor. Cepas de *Lactococcus lactis*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* and *Limosilactobacillus reuteri* se transformaron con los plásmidos anteriormente descritos, demostrando una excelente señal de fluorescencia roja (pNZ:TuR.mCherry), verde (pNZ:TuR.aFP) y roja combinada con verde (pNZ:TuR.aFP.mCherry y pNZ:TuR.aFP.STOP.mCherry). Entre ambas construcciones, la emisión de fluorescencia verde y roja fue más estable con pNZ:TuR.aFP.STOP.mCherry, mientras que pNZ:TuR.aFP.mCherry mostró más diferencias entre las diferentes cepas transformadas. Además, estos plásmidos nos permitieron discriminar mezclas de cepas con diferente marcaje en ambientes complejos como el tracto gastrointestinal, y en condiciones tanto aerobias como anaerobias. Los resultados obtenidos demuestran que el plásmido pNZ:TuR.aFP.STOP.mCherry es una herramienta versátil y muy útil para el marcaje combinado en verde y rojo de bacterias lácticas.

Financing: Este trabajo fue financiado por el Proyecto RTA2017-00002-00-00 del Ministerio de Ciencia e Innovación

### Estudio de metatranscriptomas en ambientes hipersalinos para la identificación de mecanismos de adaptación a la sal

**Salvador Mirete**<sup>1</sup>, María Lamprecht<sup>1</sup>, José Eduardo González-Pastor<sup>1</sup>

(1) Centro de Astrobiología (INTA-CSIC), Departamento de Evolución Molecular, Carretera de Ajalvir Km 4, Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid, España

El uso de técnicas de secuenciación masiva actuales permite realizar un análisis independiente de cultivo de la expresión génica de poblaciones microbianas complejas. En este trabajo hemos utilizado estas técnicas para profundizar en el conocimiento de los mecanismos de adaptación de los microorganismos en ambientes hipersalinos ante cambios de salinidad que pueden producir estrés. Para ello, se realizaron dos experimentos independientes con muestras ambientales procedentes de salmueras de Santa Pola (Alicante). En uno de ellos se concentró la sal del 20% al 30% reproduciendo lo que ocurre de forma natural en esos ambientes durante el verano, y en el otro, se diluyó la concentración de sal en la muestra del 30% al 25%, simulando lo que ocurre en estos ambientes durante periodos de lluvias intensas. El análisis metatranscriptómico usando la tecnología de RNA-seq ha permitido detectar diferencias en la expresión génica de varias rutas metabólicas y procesos esenciales después de estos dos experimentos. Por ejemplo, se observó la expresión diferencial de genes implicados en el transporte de aminoácidos e iones, genes relacionados con la replicación y reparación del DNA y también de genes relacionados con transposasas. Estas diferencias en la expresión génica sugieren la presencia de diferentes mecanismos de adaptación a la sal en este ambiente extremo. De esta manera se puede concluir que las técnicas de metatranscriptómica son herramientas útiles para identificar nuevos mecanismos de adaptación a la sal y también para aportar nuevas evidencias sobre aquellos que se han descrito previamente.

Financing: Proyecto del Plan Nacional PGL 2018-096956-B-C42



## Cianobacteria evolucionada experimentalmente revela incompatibilidades entre la adaptación al crecimiento en luz continua o en ciclos de luz/oscuridad

**Alfonso Mendaña<sup>1</sup>**, María Santos-Merino<sup>1</sup>, Raquel Gutiérrez-Lanza<sup>1</sup>, Ana González-Guerra<sup>1</sup>, Víctor Campa<sup>1</sup>, Didier Mazel<sup>2</sup>, Fernando de la Cruz<sup>1</sup>, Raúl Fernández-López<sup>1</sup>

(1) Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC) Universidad de Cantabria. Avda Albert Einstein 22, Santander, Cantabria.

(2) Pasteur Institute. 25-28 Rue du Dr Roux, 75015 Paris, Francia

Debido a sus bajos requerimientos nutricionales, y a su capacidad para fijar CO<sub>2</sub>, existe un gran interés en utilizar las cianobacterias para la producción sostenible de compuestos. Sin embargo, su potencial fotosintético conlleva un importante inconveniente. Adaptadas durante millones de años a la sucesión de noches y días, la mayor parte de la fisiología de las cianobacterias está gobernada por ritmos circadianos. Estos ritmos, aunque adecuados para los periodos predecibles de luz y oscuridad del entorno natural, son probablemente desventajosos en las condiciones de producción en luz continua. Para estudiar este problema, sometimos a la cianobacteria modelo *Synechococcus elongatus* PCC7942 a un régimen de crecimiento en luz continua intensa durante un periodo de 1000 generaciones. En estas condiciones, la cepa evolucionada demostró un tiempo de generación 3 veces menor que la cepa ancestral, con la acumulación de tan solo 3 mutaciones. Mediante estudios de transcriptómica y microscopía de fluorescencia, caracterizamos el impacto de cada una de estas mutaciones por separado. Los resultados mostraron que la adaptación a luz continua conllevó la pérdida del ciclo circadiano, aunque este hecho no afectó, sorprendentemente, a la capacidad de crecer en ciclos de luz/oscuridad a intensidades lumínicas moderadas. Tras ser crecida en luz intensa, sin embargo, la cepa evolucionada demostró una intolerancia extrema a la oscuridad, produciéndose la muerte tras 2 horas en privación de luz. Nuestros resultados muestran que la adaptación a la luz continua implica la abolición del ciclo circadiano, pero impide a la cianobacteria sobrevivir en fluctuaciones intensas de luz/oscuridad.

Financing: (55.B623.64319) - BIOLOGÍA DE SISTEMAS DE LA SEÑALIZACIÓN EN MICROORGANISMOS (PID2019-110216GB-I00/AEI/ 10.13039/501100011033)



### Estrategias moleculares para el control de la diseminación de resistencias a antibióticos

**Arnau Calbet Salas**<sup>1</sup>, Kepa Arbe Cartón<sup>1</sup>, Elena Gómez Rubio<sup>2</sup>, Roberto Vicario Martín<sup>2</sup>, Sonsoles Martín Santamaría<sup>2</sup>, Itziar Alkorta Calvo<sup>1</sup>

(1) UPV/EHU, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencia y Tecnología (UPV/EHU), Barrio Sarriena S/N 48940 Bizkaia, Leioa, España

(2) CIB-CSIC, Departamento de Biología Estructural y Biología Química, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, C/ Ramiro de Maeztu 9, Madrid, España

El aumento de las infecciones por bacterias multirresistentes y la pérdida de eficacia de los antibióticos disponibles, representan una de las amenazas más graves de salud pública. La pérdida de vidas humanas y los costes económicos asociados a este problema requieren una acción inmediata. Las bacterias son capaces de, no sólo de mutar sus genes para adaptarse a las perturbaciones y cambios ambientales, sino también de adquirir genes mediante transferencia genética horizontal que les permiten sobrevivir en entornos hostiles, como en presencia de antibióticos. Uno de los principales mecanismos responsables de la adquisición horizontal de nuevos genes es la conjugación bacteriana, un proceso mediado por elementos genéticos móviles como por ejemplo los plásmidos conjugativos. Los plásmidos conjugativos pueden transferirse de una bacteria donadora a una receptora en un proceso que requiere un contacto físico. Tras la conjugación, la bacteria receptora no sólo adquiere los genes de resistencia a los antibióticos, sino que también puede transferir el plásmido adquirido a otras bacterias, contribuyendo así a la propagación de la resistencia a los antibióticos. Por lo tanto, una posible estrategia para controlar la propagación de la resistencia a los antibióticos es inhibir la conjugación bacteriana. En este trabajo se analizará el efecto de varias moléculas seleccionadas a partir de un cribado virtual utilizando la estructura tridimensional de una proteína clave de la conjugación bacteriana, la proteína acopladora. El efecto de estas moléculas sobre la frecuencia de conjugación ayudará a diseñar estrategias moleculares para el control de la diseminación de resistencia a antibióticos.

Financing: Proyectos de la UPV/EHU (GIU18/229 y COLAB19/08), del Gobierno Vasco Gobierno Vasco (ELKARTEK 2020 KK-2020/00007)

## Construcción de herramientas moleculares multifuncionales para el diseño de bioinsecticidas a la carta

**Ane Muruzabal-Galarza**<sup>1</sup>, Pedro Dorado-Morales<sup>1</sup>, Liliana Lai<sup>2,3</sup>, Maite Villanueva<sup>2</sup>, Primitivo Caballero<sup>3</sup>, Carlos Caballero<sup>2</sup>, Alejandro Toledo-Arana<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agrobiotecnología (IdAB). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)-Gobierno de Navarra, Laboratorio de Regulación Génica Microbiana, Mutilva, España

(2) Bioinsectis S.L, Departamento de Investigación y Desarrollo, Noain, España

(3) Universidad Pública de Navarra, Departamento de Agronomía, Biotecnología y Alimentación, Pamplona, España

*Bacillus thuringiensis* (Bt) es una bacteria Gram-positiva que se caracteriza por la producción de diversos cristales paraesporales con actividad bioinsecticida. Estos cristales están formados principalmente por las  $\delta$ -endotoxinas Cry y Cyt y su composición varía entre distintas cepas. Esto hace que naturalmente exista una amplia gama de toxinas efectivas contra una gran variedad de plagas de insectos. Sin embargo, los actuales productos comerciales basados en Bt están restringidos a unas pocas variedades y no son efectivos para todas las plagas existentes. Dicha falta de variabilidad puede favorecer la aparición de resistencias asociadas al uso sistemático de los mismos. Con el fin de aprovechar la gran diversidad natural de  $\delta$ -endotoxinas hemos construido una batería de plásmidos multifuncionales que permiten hacer combinaciones de promotores/genes de forma versátil. Primero, para realizar una expresión controlada de las  $\delta$ -endotoxinas, identificamos promotores con distinta fuerza de expresión. Segundo, para aumentar la modularidad de la plataforma de expresión creamos módulos que permiten el intercambio sistemático de los promotores y de los genes de las  $\delta$ -endotoxinas seleccionadas. Así es posible combinar cualquier promotor con cualquier gen seleccionado, controlar la expresión simultánea de más de una  $\delta$ -endotoxina e incluso alterar su orden de expresión dentro del plásmido. Esto contribuye a optimizar y maximizar la producción de las toxinas de interés. Estas herramientas moleculares pueden suponer un salto cualitativo en la industria biotecnológica para la generación a la carta de nuevos compuestos activos, permitiendo explorar nuevas combinaciones de  $\delta$ -endotoxinas no presentes en aislados naturales y evitando la aparición de resistencias.

Financing: Departamento de Desarrollo Económico y Empresarial, Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Programa Operativo 2014-2020 del Gobierno de Navarra.

### **Papel del elemento integrativo ICETH2 en la fisiología de *Thermus thermophilus* y en la defensa frente a DNA exógeno**

**Carlos Verdú<sup>1</sup>**, Nieves García-Quintáns<sup>2</sup>, Alba Blesa Esteban<sup>3</sup>, José Berenguer<sup>1</sup>, Mario Mencía<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Madrid, Calle Nicolas Cabrera, 1, MADRID, España

(2) Instituto de Salud Carlos III, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid, España

(3) Universidad Francisco de Vitoria, Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Experimentales, Madrid, España

En la cepa modelo *Thermus thermophilus* HB27 (Tth) aparecen dos elementos genéticos, denominados ICETH1 e ICETH2, integrados en genes de tRNA de su genoma. El primero codifica la capacidad de captura de DNA por contacto directo con otras cepas de *Thermus* sp. ICETH2 codifica una excisionasa/recombinasa, necesaria para la escisión de ICETH1, y un conjunto de proteínas entre las que destaca Pimpol (Ppol), una DNA primasa-polimerasa capaz de copiar DNA sin necesidad de cebador. La delección de Ppol aumenta en varios órdenes de magnitud la eficiencia de la incorporación a Tth tanto de DNA plasmídico como de DNA lineal, pero no a la captura de DNA mediada por ICETH1. En este trabajo se analizan las posibles interacciones de Ppol con otras proteínas mediante proteómica, así como la relevancia de otras proteínas codificados por ICETH2 en la defensa frente a DNA exógeno. Nuestros datos muestran que Ppol estabiliza algunos replicones, y que su ausencia modifica la expresión de algunas proteínas de recombinación, formación de pili, y competencia natural. Adicionalmente, hemos observado que la mutación de otros genes del ICETH2 incrementa también de forma muy notable a la transformabilidad y a afecta negativamente a la viabilidad de Tth, sugiriendo un elevado nivel de integración funcional del ICETH2 en la regulación fisiológica de Tth.

Financing: Trabajo financiado con fondos del Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-109073RB-I00) y fondos FEDER de la Unión Europea

## La fidelidad en la transducción de la señal limita la capacidad informativa de los sistemas bacterianos de un componente

**Miguel Báez Martín**<sup>1</sup>, Fernando de la Cruz Calahorra<sup>1</sup>, Raúl Fernández López<sup>1</sup>

(1) Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC), Avda Albert Einstein 22, Santander, España

Las bacterias utilizan receptores moleculares y rutas de transducción para detectar en su medio ambiente una gran variedad de estímulos. Aunque los receptores moleculares muestran una altísima especificidad y sensibilidad por sus ligandos, estudios recientes han demostrado que la cantidad de información que son capaces de recopilar está limitada a unos pocos bits. Existen dos teorías fundamentales que tratan de explicar esta limitación. Por un lado, Berg y Purcell mostraron que la tasa de recambio, la velocidad a la cual el receptor se "reinicializa", limita el rango de concentraciones detectables. Por otro, estudios recientes sugieren que el ruido molecular, causado por el bajo número de copias de las moléculas transductoras de la señal, degrada rápidamente la información recopilada por los receptores. En este trabajo hemos evaluado experimentalmente ambas hipótesis usando como modelo TetR, un sistema canónico de un componente, sensible al antibiótico tetraciclina y con una capacidad de 2 bits de información. Combinando estudios computacionales y de microscopía de fluorescencia, hemos determinado cómo afectan a la capacidad informativa de TetR cambios en su tasa de recambio y en el ruido molecular. Nuestros resultados muestran que el rendimiento de los sistemas de un componente no está limitado por la capacidad de detección, sino por la fidelidad en la transducción de la señal. Dado que esta última está constreñida principalmente por el bajo número de moléculas, nuestros resultados abren la puerta a sistemas sintéticos con mayor capacidad de detección y computación que los presentes en los microorganismos naturales.

Financing: Ayuda predoctoral FPI: PRE2018-084158 Proyecto Nacional: BFU2017-86378-P "Superioridad de los plásmidos" MINECO Fernando de laCruz; 2018 – 2020;

### Dos sistemas CRISPR-Cas de diferente tipo están sujetos a mecanismos reguladores comunes.

**Patricia Elío Lucas**<sup>1</sup>, Hengyi Xu<sup>2</sup>, Luisa Molina-Quintero<sup>1</sup>, Antonio Sánchez Amat<sup>1</sup>

(1) Universidad de Murcia, Genética y Microbiología, Biología, 30100, Murcia, España

(2) University of Texas at Austin, Department of Molecular Biosciences, Institute for Cellular and Molecular Biology, TX 78712, Austin, USA

La bacteria marina *Marinomonas mediterranea* posee dos sistemas CRISPR-Cas de tipos I-F y III-B, respectivamente. En el sistema III-B, Cas1 está fusionada a una transcriptasa reversa lo que le permite adquirir espaciadores a partir de ARN1. El sistema I-F posee espaciadores contra diversos podovirus. Estos espaciadores pueden ser utilizados también por el sistema III-B, lo que contribuye a eliminar fagos que escapan del sistema I-F, por ejemplo, por mutación en la secuencia PAM2. Estas observaciones plantean la cuestión de cómo se coordina la expresión de dos sistemas de diferente tipo. Nuestros estudios han revelado que ambos sistemas están sujetos a regulación por una histidin quinasa, PpoS, y un regulador de respuesta, PpoR. Los análisis transcriptómicos sugieren que ambas proteínas forman parte de la misma cascada reguladora. Los mutantes en PpoS y PpoR muestran un incremento en la sensibilidad a la infección por fagos que es comparable a la generada por delección de los sistemas CRISPR-Cas. Estos resultados indican la importancia de la regulación por PpoS y PpoR en la resistencia frente a fagos en *M. mediterranea*. 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. & Sanchez-Amat, A. (2017) Type III CRISPR-Cas systems can provide redundancy to counteract viral escape from type I systems. *Elife* 6 pii: e27601. doi: 10.7554/eLife.27601.

Financing: BFU2017-85464-P, Ministerio de Economía Industria y Competitividad y 20883/PI/18 Fundación Séneca, Comunidad Autónoma Región de Murcia, cofinanciados por fondos FEDER

## Identificación de determinantes de esporulación que no afectan a la expresión y cristalización de proteínas Cry en *Bacillus thuringiensis*

Liliana Lai<sup>1,2</sup>, Pedro Dorado-Morales<sup>3</sup>, Maite Villanueva<sup>1</sup>, Ane Muruzabal-Galarza<sup>3</sup>, Primitivo Caballero<sup>2</sup>, Alejandro Toledo-Arana<sup>3</sup>, Carlos J. Caballero<sup>1</sup>

(1) Bioinsectis S.L, Departamento de Investigación y Desarrollo, Noain, España

(2) Universidad Pública de Navarra, Departamento de Agronomía, Biotecnología y Alimentación, Pamplona, España

(3) Instituto de Agrobiotecnología (IdAB). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)- Gobierno de Navarra., Laboratorio de Regulación Génica Microbiana, Mutilva, España

*Bacillus thuringiensis* (Bt) representa la solución de origen microbiano más utilizada actualmente como alternativa a los insecticidas químicos. Bt es una bacteria Gram-positiva que se caracteriza por producir cristales paraesporales durante su fase esporulativa. Éstos están principalmente compuestos por  $\delta$ -endotoxinas que resultan tóxicas para un amplio número de insectos, nematodos y ácaros. La producción de la mayoría de las proteínas insecticidas en Bt depende de los principales reguladores de la esporulación (Spo0A, SigK o SigE). Estudios previos demostraron que cuando se suprime la capacidad de formar esporas en Bt, simultáneamente, se compromete la expresión de las  $\delta$ -endotoxinas. Por este motivo, está generalmente asumido que la producción de cristales paraesporales es un proceso dependiente de la formación de spora. Con el objetivo de encontrar factores de esporulación críticos para la formación de esporas pero prescindibles para la expresión de las proteínas del cristal, realizamos mutagénesis química aleatoria para seleccionar variantes asporígenas que retuviesen la capacidad de formar cristales. Las variaciones genómicas de los candidatos seleccionados fueron identificadas mediante secuenciación masiva. Uno de los candidatos presentaba una mutación puntual en el gen *spolIIAA*. Para validar esta mutación, realizamos mutagénesis dirigida en la cepa Bt acristalófora BMB171. El mutante obtenido se complementó con distintos plásmidos productores de  $\delta$ -endotoxinas. Como resultado, obtuvimos una cepa no formadora de esporas pero capaz de generar cristales paraesporales. Este tipo de descubrimientos, nos permitirán conocer la dependencia de proteínas insecticidas de los distintos determinantes de esporulación y poder así desarrollar mejoras biotecnológicas en los bioinsecticidas basados en Bt.

Financing: Departamento de Desarrollo Económico y Empresarial, Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Programa Operativo 2014-2020 del Gobierno de Navarra.



### Caracterización molecular y biológica de nuevos genes de *Bacillus thuringiensis* con posible actividad mosquitocida

**Liliana Lai**<sup>1,2</sup>, Carlos J. Caballero<sup>1</sup>, Alejandro Toledo-Arana<sup>3</sup>, Primitivo Caballero<sup>2</sup>, Maite Villanueva<sup>1</sup>

(1) Bioinsectis S.L, Departamento de Investigación y Desarrollo, Noain, España

(2) Universidad Pública de Navarra, Departamento de Agronomía, Biotecnología y Alimentación, Mutilva, España

(3) Instituto de Agrobiotecnología (IdAB). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)-Gobierno de Navarra, Laboratorio de Regulación Génica Microbiana, Mutilva, España

El mosquito *Aedes aegypti* es el principal vector patógenos como el virus del Zika, dengue o chikungunya. Este díptero es originario de África, pero en la actualidad se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales del planeta. Las cepas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) del serovar israelensis (Bti) son la solución de origen microbiano más ampliamente utilizada en el control del mismo. Los cristales paraesporales de Bti se componen principalmente de las proteínas insecticidas Cyt1A, Cry4A, Cry4B, y Cry11A. Esto supone que los ingredientes activos sean iguales para los distintos productos comercializados y que, por lo tanto, dicha falta de variabilidad constituya una medida de presión para la selección de individuos resistentes. El objetivo de este trabajo ha sido la búsqueda y caracterización molecular y biológica de nuevos genes mosquitocidas. Utilizando como referencia los genes de Bti, llevamos a cabo un screening de nuestra colección de microorganismos y encontramos los candidatos *cyt1A-like*, *cyt1D-like* y *cry4B-like*, que se caracterizaban por tener un porcentaje de identidad inferior al 75%. Para estudiar las propiedades mosquitocidas individuales de cada uno de ellos, generamos plásmidos de expresión y los introdujimos en la cepa acristalófora BMB171 de Bt. Tras comprobar la adecuada expresión de cada proteína recombinante, llevamos a cabo estudios de toxicidad en larvas de *Aedes aegypti*. Los resultados obtenidos ponen de relieve una nueva gama de proteínas con actividad mosquitocida por descubrir que podría ser interesante con el fin de prevenir la emergencia de posibles resistencias por el uso extensivo de este tipo de bioinsecticidas.

Financing: Financiación: Departamento de Desarrollo Económico y Empresarial, Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Programa Operativo 2014-2020 del Gobierno de Navarra.



## Uso de receptores de absorción de hierro para el desarrollo de una inmunoterapia de amplio espectro contra patógenos ESKAPE

**Gabriela Ortiz Millán**<sup>1</sup>, Elisabet Frutos Grilo<sup>1</sup>, Pau Conill Bonet<sup>1</sup>, Miquel Angel Sastre<sup>1</sup>, Jordi Barbé<sup>1</sup>, Susana Campoy Sánchez<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Genética y Microbiología, Biociencias, Cerdanyola del Vallès, Barcelona, España

Los tratamientos disponibles contra los patógenos ESKAPE (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.) son ineficaces por la multirresistencia a los antibióticos, por lo que es urgente el desarrollo de tratamientos alternativos. El hierro es un oligoelemento esencial para la patogenicidad bacteriana. Debido a la disponibilidad limitada de hierro libre en el hospedador, las bacterias patógenas deben sobreexpresar receptores de captación de hierro (IUR) para asegurar su supervivencia. Estas proteínas son inmunogénicas, por lo que, pueden aprovecharse como dianas en el desarrollo de estrategias terapéuticas. A distintas IUR se les realizaron estudios in silico donde se comprobó su alto porcentaje de conservación entre los patógenos ESKAPE relacionados filogenéticamente (*Enterococcus* spp. o *S. aureus* grampositivos; en *A. baumannii* o *P. aeruginosa* o en *Enterobacter* spp.) y se confirmó su prevalencia en aislados clínicos de cinco hospitales del área metropolitana de Barcelona. Los candidatos más relevantes fueron modelados in silico para localizar y analizar sus regiones externas. Las secuencias de péptidos con mejores puntuaciones en función de su conservación entre las especies de ESKAPE, su inmunogenicidad, no toxicidad y no alergenicidad, fueron seleccionadas para conjugarse con KLH para la producción de anticuerpos policlonales en ratones. Finalmente, los sueros obtenidos se analizan mediante Western Blot para determinar la reactividad cruzada frente a los patógenos ESKAPE. Los resultados obtenidos podrían conducir al desarrollo de una inmunoterapia de amplio espectro como alternativa al uso de antibióticos para tratar y prevenir las infecciones causadas por estos patógenos.

Financing: Proyecto Marató PI616163CONACyT. Gobierno de México

### **CbrA como elemento transductor de la señal activadora del sistema de dos componentes CbrAB de en *Pseudomonas putida***

**Inés Canosa**<sup>1</sup>, Elizabet Monteagudo-Cascales<sup>1</sup>, Sofía M. García-Mauriño<sup>1</sup>, Eduardo Santero<sup>1</sup>  
(1) Universidad Pablo de Olavide/CABD/CSIC/JA, Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Ciencias Experimentales, Ctra. Utrera km 1, Sevilla, España

La histidina quinasa CbrA del sistema de dos componentes CbrAB de *Pseudomonas putida* es un elemento clave para reconocer la señal de activación y mediar en la auto- y trans-fosforilación del elemento de respuesta CbrB. CbrA está codificado por el gen *cbrA* que se encuentra aguas abajo de un marco de lectura abierto putativo que hemos denominado *cbrX*, que se encuentra acoplado traduccionalmente al primero. También exploramos el papel de los dominios transmembrana (TM), con homología a un transportador de solutos, y el dominio PAS de CbrA en el reconocimiento de la señal activadora del sistema. Un mutante de  $\Delta cbrXA$  que carece de sus dominios TM, pierde la capacidad de utilizar histidina y citrato como fuentes de carbono y energía, pero la sobreexpresión de los dominios, restablece su crecimiento en dichas fuentes de carbono. En estas condiciones,  $\Delta TM$ -CbrA es capaz de responder a la disponibilidad de carbono, lo que sugiere una naturaleza intracelular para la señal detectada.

Financing: Ayuda Puente Predoctoral del IV Plan Propio de la Universidad Pablo de Olavide. Proyecto BIO2014-57545-R del MINECO

## Phylogenetic Insights of $\beta$ -lactam resistance of the CTX-M family

**Pedro Barata Coelho**<sup>1,2</sup>, Jacinta Mendonça<sup>3</sup>, Carina Silva<sup>3</sup>, Pilar Baylina<sup>3</sup>, Ruben Fernandes<sup>3</sup>, Carla Guedes<sup>3</sup>

(1) Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, Portugal

(2) Centro Hospitalar Universitário do Porto, Patologia Clínica, Porto, Portugal

(3) Instituto Politécnico do Porto, LabMI, Porto, Portugal

Bacterial resistance is a major public health concern, particularly against  $\beta$ -lactam antibiotics, one of the most widely used antibacterial drugs. The production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) is the main defense mechanism found in Gram negative bacteria. Among all the ESBLs, the CTX-M enzymes appear as the most efficient in terms of diffusion in different epidemiological contexts, outnumbering the others. Originated in chromosomal genes of *Kluyvera* spp., the blaCTX-M genes have become associated with mobile genetic elements, such as plasmids, that have mediated inter-replication and dissemination. CTX-M enzymes exhibit a striking plasticity, with a large number of allelic variants belonging to several sub-lineages, which can be associated with functional heterogeneity of clinical relevance. This observational analytical study provides an update of this family, currently with more than 200 variants described, from a phylogenetic, molecular and structural point of view through homology in amino acid sequences. There are currently 6 defined clusters (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 and CTX-M-151), with the domains CTX-M-1 and CTX-M-9 presenting subgroups, composed mainly of variants identified as hybrids between them (particularly between CTX-M-14 and CTX-M-15).

Financing: None

### Sistemas de Secreción Tipo VI como armas móviles

**María del Mar Quiñonero Coronel<sup>1</sup>**, Fernando de la Cruz Calahorra<sup>1</sup>, María del Pilar Garcillán Barcia<sup>1</sup>  
(1) Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (Universidad de Cantabria-CSIC), Calle Albert Einstein, 22, Santander, España

El Sistema de Secreción Tipo VI (T6SS) es un complejo multiproteico presente en bacterias Gram-negativas que permite inyectar toxinas de una manera dependiente de contacto a otras células, tanto procariontas como eucariotas. Su papel es crítico en la competición en comunidades microbianas y en la patogenicidad. La presencia de este sistema en plataformas móviles tales como plásmidos, parece anecdótica ya que, hasta ahora, la mayoría de T6SSs funcionales descritos son cromosómicos. Sin embargo, nuestro análisis de la base de datos plasmídica NCBI RefSeq identificó una cantidad significativa de plásmidos que codifican T6SSs. La mayoría de estos plásmidos codifican, además, la maquinaria necesaria para ser transmitidos mediante conjugación, incorporando esta arma al proceso de transferencia genética horizontal. Hemos comprobado la actividad antibacteriana de uno de estos T6SSs codificado en un plásmido conjugativo. Esto plantea la pregunta de cómo influye esta actividad antibacteriana en la transferencia del propio plásmido y viceversa, pero sobre todo, cómo los plásmidos conjugativos que codifican para este T6SS son capaces de decidir entre matar a una célula vecina o utilizarla como receptora.

Financing: Ayuda predoctoral: Ayuda para Contratos Predoctorales de la Universidad de Cantabria (BOC No 187 29/09/2020)

## Proteómica aplicada para la identificación de proteínas con potenciales aplicaciones industriales

Rafael Carrasco Reinado<sup>1</sup>, Alejandro Benitez Troncoso<sup>1</sup>, Almudena Escobar Niño<sup>1</sup>, **Francisco Javier Fernandez Acero<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Cádiz, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigación Agroalimentaria (IVAGRO), Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Campus de Puerto Real, Puerto Real, España

Las microalgas actúan como productores primarios en los ecosistemas marinos. Con millones de especies estimadas, representan una fuente infinita de biomoléculas activas con multitud de aplicaciones biotecnológicas. En la actualidad, las técnicas "ómicas" son una de las herramientas biotecnológicas de mayor relevancia, ya que nos permiten obtener una gran cantidad de información biológica en un solo experimento. En concreto, nos centramos en la proteómica como técnica capaz de generar una gran cantidad de datos incluso cuando se estudian organismos no modelo. Utilizando aproximaciones proteómicas a estos organismos no-modelo, se ha desarrollado el concepto de "proteómica aplicada". Mediante el cual, esta información biológica es transformada en aplicaciones biotecnológicas en los campos biomédico y agroalimentario. Así, usando el proteoma de *Nannochloropsis gaditana*, y aplicando la metodología de "proteómica aplicada", se han identificado en el proteoma de *N. gaditana* más 400 proteínas con potenciales aplicaciones industriales. Como validación de esta metodología se eligió la proteína UCA01, que ha demostrado su efecto antitumoral frente a cultivos celulares de carcinoma hepatocelular diferenciado y adenocarcinoma colorrectal epitelial, sin afectar a las células no tumorales. Actualmente estamos trabajando en la síntesis de otras proteínas en *N. gaditana* con potenciales aplicaciones industriales en biomedicina y agroalimentación.

Financing: Programa de Fomento e Impulso de la actividad Investigadora de la Universidad de Cádiz (PR2020-002)

### Desarrollo de una herramienta para evaluar la eficiencia de reparación de cortes de doble cadena por sistemas de NHEJ

**Estela Sanz Martí<sup>1</sup>**, Andrea García Alcaide<sup>1</sup>, Aroa López Sanchez<sup>1</sup>, Fernando Govantes Romero<sup>1</sup>  
(1) Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Universidad Pablo de Olavide/Consejo Superior de Investigaciones Científicas/Junta de Andalucía, Carretera de Utrera Km.1 41013, Sevilla, España

Las técnicas de modificación genética disponibles para Gram-negativas suponen una gran inversión de tiempo y esfuerzo. En el contexto del desarrollo de una plataforma versátil de edición génica basada en CRISPR-Cas para este grupo de bacterias, presentamos una herramienta para evaluar la capacidad de diferentes sistemas de empalme de extremos no homólogos (NHEJ o non-homologous end-joining) de reparar cortes de doble cadena en el ADN equivalentes a los generados por proteínas Cas. El sistema se basa en la expresión de la endonucleasa I-SceI junto a plásmidos reporters que contienen el gen que codifica la GFP flanqueado por una o dos dianas I-SceI. Hemos comprobado que, en ausencia de sistemas de reparación, la expresión de I-SceI induce la pérdida del reporter al realizar cortes que no pueden ser reparados. Así, la frecuencia de mantenimiento de éstos, detectable por la permanencia de la resistencia codificada en el plásmido o por la fluorescencia en ausencia de selección, puede emplearse para evaluar la capacidad de reparación de sistemas de NHEJ. Hemos utilizado con éxito esta herramienta en *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas syringae* pv. tomato y *Pseudomonas savastanoi* pv. phaseolicola, para evaluar sistemas de NHEJ procedentes de *Sphingopyxis granuli*, *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacterium smegmatis*. Nuestros resultados avalan que los tres sistemas de NHEJ presentan una eficiencia de reparación cercana al 100%. Mediante secuenciación hemos determinado que la reparación llevada a cabo introduce pequeñas inserciones o deleciones (indels) que inactivan la diana I-SceI, lo que pone de manifiesto la utilidad de estos sistemas en bacterias Gram-negativas.

Financing: Comisión Europea Fondos FEDER (UPO-1264127)

## Regulación de los sistemas de captación de Fe independientes de sideróforos en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*

Montserrat Argandoña<sup>1</sup>, Emilia Naranjo<sup>1</sup>, Lourdes Martínez-Martínez<sup>1</sup>, Joaquín J. Nieto<sup>1</sup>, Carmen Vargas<sup>1</sup>

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

*Chromohalobacter salexigens* es una bacteria halófila que sintetiza o acumula solutos compatibles, entre ellos las ectoínas, para adaptarse a las condiciones de estrés osmótico. En esta bacteria la homeostasis del hierro está muy ligada a su capacidad de osmoadaptación y, por tanto, a la síntesis de estos solutos. Así, los requerimientos de hierro, la acumulación intracelular de Fe y la producción de sideróforos están relacionados con la concentración salina del medio, siendo ambos máximos a baja salinidad (0,6 M NaCl) y disminuyendo con el aumento de la salinidad (2,5 M NaCl). En esta bacteria, el control de estos sistemas implicados en la homeostasis de Fe depende principalmente de dos metaloreguladores de la superfamilia Fur, Fur1 y Fur2, que controlan, además, la acumulación de ectoínas. En este estudio, mediante ensayos CAS y espectrometría ICP-OES, se ha analizado en cepas deficientes en los dos reguladores (*fur1*, *fur2* y *fur1fur2*), tanto la producción de sideróforos como su correlación con la acumulación intracelular de Fe, en función de la salinidad, y en condiciones limitantes o de exceso de Fe. Sin embargo, al no observarse siempre una correlación, se realizó un análisis adicional sobre la implicación de otros sistemas de captación de Fe, independientes de sideróforos, y su regulación. Nuestros resultados muestran que alguno de estos sistemas están osmoregulados y que, en función de la salinidad, su expresión depende de la concentración extracelular de Fe. Además, están controlados por ambos reguladores Fur, aunque actuando de forma diferente, en función de las condiciones ambientales.

Financing: Agencia Estatal de Investigación PID2019-111273RB-I00/AEI/10.13039/501100011033 y Red de Microorganismos extremófilos (RED2018-102734-T)



### Identificación de endosimbiontes de ciliados de tortugas terrestres mediante análisis genético

**Noelia Gómez-Sánchez**<sup>1</sup>, Elvira Rodríguez-Rubiano<sup>1</sup>, Lorena Esteban-Sánchez<sup>1</sup>, Juan José García-Rodríguez<sup>1</sup>, Francisco Ponce-Gordo<sup>1</sup>, Federico Navarro-García<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense, Departamento Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza de Ramón y Cajal, s/n, Madrid, España

En diversos grupos de ciliados se han descrito microorganismos endosimbiontes, si bien su importancia biológica no ha sido todavía establecida. En la mayoría de los casos, estos simbiontes se han identificado mediante microscopía electrónica, sin que existan más datos al respecto. En este trabajo hemos llevado a cabo la identificación genética de algunos simbiontes de los ciliados *Geimania kyphodes* y *Geimania teleacus*, parásitos de tortugas terrestres, a partir de muestras fecales de tortugas del género *Geochelone* mantenidas en el Zoo-Aquarium y en el parque zoológico Faunia, de Madrid. A partir de esas muestras se han aislado tanto quistes como trofozoítos por aspiración con pipetas Pasteur modificadas, lavados en solución salina y centrifugaciones diferenciales, extrayéndose su ADN total mediante kits comerciales. La amplificación por PCR con cebadores específicos de un fragmento de ADN que codifica la subunidad 16S del ARNr sólo ha permitido detectar la presencia de arqueas con similitud a los géneros *Methanomassiliicoccus* y *Methanocorpusculum*.

## La variabilidad de los efectos en fitness de los plásmidos contribuye a la persistencia de los plásmidos en comunidades bacterianas

**Aída Alonso-del Valle**<sup>1</sup>, Ricardo León-Sampedro<sup>2</sup>, Jerónimo Rodríguez-Beltrán<sup>3</sup>, Rafael Peña-Miller<sup>4</sup>, Álvaro San Millán<sup>1</sup>

(1) Centro Nacional de Biotecnología, Departamento de Biotecnología Microbiana, Madrid, España

(2) Institute of Integrative Biology, Department of Environmental Systems Science, ETH Zurich, Zurich, Switzerland

(3) Hospital Universitario Ramón y Cajal (IRyCIS), Servicio de Microbiología, Madrid, España

(4) Center for Genomic Sciences, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Mexico

La persistencia de los plásmidos en las poblaciones bacterianas está fuertemente influenciada por los efectos en fitness asociados a éstos. Sin embargo, los efectos en fitness de los plásmidos en bacterias naturales permanecen inexplorados. En este estudio, determinamos los efectos en fitness de uno de los principales plásmidos de resistencia antibiótica, pOXA-48 en aislados de enterobacterias de la microbiota intestinal humana. Nuestros resultados muestran que, aunque pOXA-48 produce una reducción general del fitness bacteriano, estos efectos son pequeños en la mayoría de los hospedadores, detectándose incluso, efectos beneficiosos en varios aislados. Además, el análisis filogenético mostró una relación entre los efectos en fitness de pOXA-48 y la filogenia bacteriana, contribuyendo a explicar la epidemiología del plásmido. La incorporación de nuestros resultados experimentales a un modelo sencillo de dinámica poblacional reveló un nuevo conjunto de condiciones para la estabilidad de los plásmidos en las comunidades bacterianas, en las que la persistencia de los plásmidos aumenta con la diversidad bacteriana y se hace menos dependiente de la conjugación. Estos resultados ayudan a explicar la alta prevalencia de los plásmidos en poblaciones bacterianas naturales diversas, como la microbiota intestinal humana.

Financing: Trabajo financiado por el European Research Council, bajo el programa Horizonte 2020 de la Unión Europea (ERC grant PLASREVOLUTION)

### Desarrollo de una RT-qPCR múltiple para la detección simultánea de los virus SARS-CoV-2, Influenza A y otros coronavirus estacionales.

**Eduardo Pelegrí Martínez**<sup>1</sup>, Xabier Guruceaga Sierra<sup>1</sup>, Leire Martín Souto<sup>1</sup>, Idoia Buldain Gárriz<sup>1</sup>, Ana Abad Díaz de Cerio<sup>1</sup>, Aitziber Antorán Díaz<sup>1</sup>, Aitor Rementería Ruiz<sup>1</sup>, Alazne Domínguez Monedero<sup>2</sup>, Mikel Gallego Rodrigo<sup>2</sup>, Oscar Martínez Expósito<sup>2</sup>, Maitane Aranzamendi Zaldumbide<sup>2</sup>, Andoni Ramírez García<sup>1</sup>

(1) Fungal and Bacterial Biomics Research Group, Universidad del País Vasco, Departamento de Inmunología, microbiología y parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Barrio Sarriena, s/n, Leioa, Bizkaia, España

(2) Biocruces Bizkaia Health Research Institute, Hospital Universitario Cruces, Bilbao, España

La actual situación de pandemia mundial causada por el virus SARS-CoV-2 ha evidenciado la necesidad de llevar a cabo diagnósticos rápidos y masivos para frenar su evolución. Para ello, la RT-qPCR es la herramienta de referencia recomendada por la Organización Mundial de la Salud y, dada la elevada demanda internacional de estos kits, resulta interesante disponer de sistemas propios. En este trabajo, considerando la más que probable hipótesis de que el SARS-CoV-2 no sea erradicado y coexista con otros virus respiratorios durante los próximos años, hemos desarrollado sistemas de RT-qPCR múltiple capaces de discriminar entre SARS-CoV-2, gripe (Influenza A) y los coronavirus humanos estacionales HCoV-OC43 y HCoV-HKU1. Para cumplir este propósito, se diseñaron cebadores y sondas específicos de los genes de la nucleocápside (N) y la espícula (S) de SARS-CoV-2, la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRP) de HCoV-OC43 y HCoV-HKU1, y el gen de la matriz (M1/M2) de la gripe. Además, en el diseño se incluyeron cebadores y sonda control para el gen RPP30 humano que, dado su diseño exón-exón, nos sirvió para monitorizar la calidad de la muestra y la eficiencia de la extracción y retrotranscripción del ARN. Nuestro trabajo ha demostrado la robustez de los ensayos que son capaces distinguir con una alta sensibilidad y especificidad SARS-CoV-2 de la gripe y de otros coronavirus estacionales. Además, ofrece una alternativa accesible, económica y no dependiente de kits comerciales a hospitales y laboratorios con recursos económicos limitados o ante situaciones de falta de suministro.

Financing: Financiación por el Gobierno Vasco (2020333042 e IT1362-19). XG y LMS beneficiarios becas predoctorales Gobierno Vasco.

## Estudio en *Bacillus subtilis* de la resistencia a antibióticos mediada por GlpK

**Carlos Molina Santiago**<sup>1</sup>, David Vela Corcía<sup>1</sup>, Luis Díaz Martínez<sup>1</sup>, Antonio de Vicente<sup>1</sup>, Diego Romero<sup>1</sup>

(1) Universidad de Málaga / IHSM, Microbiología, Ciencias, Bulevar Luis Pasteur, Málaga, España

El aumento de bacterias multi-resistentes a antibióticos es un problema a nivel mundial que provocará más de 10 millones de muertes al año en 2050 según la OMS. Por tanto, es prioritario comprender cómo las bacterias resisten a este tipo de moléculas. Además de los mecanismos de resistencia a antibióticos conocidos hasta el momento, recientemente se ha propuesto un papel clave de genes del metabolismo en la resistencia bacteriana. Mediante la utilización de *Bacillus* como modelo, estudiamos el papel de GlpK, la enzima con actividad glicerol kinasa implicada en la transformación de glicerol en glicerol 3-fosfato, en la resistencia a antibióticos en Gram-positivos. Los resultados obtenidos muestran que mutaciones puntuales en GlpK provocan un amplio cambio en la expresión de genes. La activación de distintas rutas involucradas en la adquisición de fuentes de carbono, metabolismo de lípidos, movilidad, esporulación, señalización y genes implicados directamente en la resistencia a antibióticos, sugieren un papel complementario de GlpK al catabolismo de glicerol. Estos resultados en conjunto con los obtenidos mediante ensayos metabolómicos no dirigidos y el uso de microscopía confocal han permitido determinar cambios en la composición lipídica de la membrana celular, así como en sus propiedades físico-químicas caracterizado por un incremento en la rigidez de la membrana, lo que dificultaría la entrada de ciertos compuestos antimicrobianos al interior celular. El análisis a nivel proteico nos permitirá dilucidar el posible papel complementario de GlpK como regulador transcripcional y por tanto conectar la resistencia a antibióticos con la activación o represión de ciertas rutas metabólicas.

Financing: ERC Starting Grant (BacBio 637971) Plan Nacional de I+D+i (PID2019-107724GB-I00). Programa Juan de la Cierva Incorporación.

### Mapa plasmídico de *Salmonella enterica*

**Arancha Peñil Celis**<sup>1</sup>, Santiago Redondo Salvo<sup>1</sup>, Maria Pilar Garcillán Barcia<sup>1</sup>, Luis Vielva<sup>1</sup>, Kaitlin A Tagg<sup>2</sup>, Hattie Webb<sup>2</sup>, Fernando de la Cruz<sup>1</sup>

(1) Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (CSIC-Universidad de Cantabria), Calle Albert Einstein, 22, Santander, España

(2) Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA

Los genes de resistencia a los antibióticos se propagan rápidamente por transferencia genética horizontal, principalmente transportados por plásmidos. De hecho, los plásmidos parecen ser los actores más importantes en la evolución a corto plazo de patógenos bacterianos, como se ejemplifica en las enterobacterias. Por lo tanto, razonamos que será relevante identificar cuál es la importancia relativa de diferentes unidades taxonómicas plasmídicas (PTUs) en la diseminación de genes de resistencia a antibióticos en microorganismos patógenos. A través de una combinación de genómica funcional y metadatos asociados a los plásmidos, ofrecemos un diagnóstico de los plásmidos más relevantes en la diseminación de genes de virulencia y resistencia a antibióticos en *Salmonella enterica*, así como información sobre la ecología de los brotes multirresistentes.

## Mapa global del plasmidoma procariótico

**Santiago Redondo Salvo**<sup>1</sup>, Raúl Fernández López<sup>1</sup>, María Pilar Garcillán Barcia<sup>1</sup>, Fernando de la Cruz<sup>1</sup>

(1) Universidad de Cantabria, Microbiología y Genómica, Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, C/ Albert Einstein, 22, Santander, España

Los plásmidos median la transferencia genética horizontal de genes de virulencia, resistencia a antibióticos y otros factores adaptativos entre las poblaciones bacterianas. El análisis de la composición genómica de 10.000 plásmidos de referencia y su identidad por pares de secuencias proporcionó un mapa global del plasmidoma procariótico (1). En este mapa, los plásmidos se organizan en grupos discretos a los que hemos denominado unidades taxonómicas plasmídicas (o PTUs por las siglas en inglés de Plasmid Taxonomic Units), las cuales muestran alta identidad promedio de nucleótidos entre sus miembros. En este conjunto de datos identificamos un total de 276 PTUs en el dominio Bacteria, 83 de ellos en el orden Enterobacterales, y definimos el rango de hospedador característico de cada PTU. Más del 60% de los plásmidos en el mapa global están ubicados en grupos cuyo rango de hospedador supera la barrera de especie. La información generada se recogió en una web interactiva (<https://castillo.dicom.unican.es/PlasmidID>) que sirvió de base para desarrollar la herramienta bioinformática COPLA (2), un algoritmo automático para asignar la PTU a un plásmido en función de su secuencia (<https://castillo.dicom.unican.es/copla>). Proponemos una clasificación taxonómica jerarquizada que incluye clases (por homología de la relaxasa MOB), familias (por homología del sistema conjugativo MPF) y especies o PTUs (por homología del esqueleto plasmídico). 1. Redondo-Salvo S et al. Pathways for horizontal gene transfer in bacteria revealed by a global map of their plasmids. *Nature Communications*. 2020 Jul 17;11(1):3602. 2. Redondo-Salvo S et al. COPLA, a taxonomic classifier of plasmids. *bioRxiv*. 2020 Dec 16;2020.12.15.422809.

Financing: Ayudas Doctorados Industriales 2017. MINECO, DI-17-09164 Programa de Doctorados Industriales 2018 de la Universidad de Cantabria

### **BacLive, una innovadora herramienta para el estudio de dinámica de poblaciones e interacciones microbianas.**

**Alicia Isabel Pérez Lorente**<sup>1</sup>, Carlos Molina Santiago<sup>1</sup>, John Pearson<sup>2</sup>, María Victoria Berlanga Clavero<sup>1</sup>, Antonio de Vicente Moreno<sup>1</sup>, Diego Romero Hinojosa<sup>1</sup>

(1) Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea, La Mayora, Universidad de Málaga (IHSM-UMA-CSIC), Microbiología, Ciencias, Bulevar Louis Pasteur 31, Málaga, España

(2) Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología, BIONAND, Unidad de Nanoimagen, Málaga, España

En la naturaleza, las bacterias se encuentran frecuentemente formando comunidades bacterianas conocidas como biofilms. Las interacciones inter o intra-específicas pueden alterar notablemente la estructura de la comunidad y la forma en que se relaciona con el entorno. Hasta ahora, la mayor parte de la información sobre interacciones bacterianas se ha obtenido mediante técnicas microbiológicas clásicas, limitando nuestra capacidad para el estudio de estas interacciones a nivel celular y su visualización in vivo. En este trabajo presentamos el desarrollo de una metodología no invasiva para el estudio de la progresión de la formación de biofilms o la dinámica de las interacciones bacterianas que tienen lugar en estas comunidades. Igualmente, mostramos el uso de un innovador script de procesamiento de imágenes (BacLive, <https://github.com/BacLive>) para poder analizar los datos obtenidos a partir de estudios de microscopía de fluorescencia de alta resolución de una forma rápida y sencilla empleando Fiji/ImageJ. BacLive ofrece al usuario una estimación del movimiento de la población durante su crecimiento para calcular las variaciones de posición en el eje Z a lo largo del tiempo. De esta forma, sólo se adquieren las secciones en el plano Z correspondientes a las zonas donde hay crecimiento microbiano y no aquellas secciones sin información útil. El estudio de diversos ejemplos ha confirmado la utilidad de BacLive en la generación de imágenes en 2D y 3D de forma simple y eficiente y su empleabilidad en estudios de ecología microbiana.

Financing: PID2019-107724GB-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación y la ERCouncil StG (BacBio 637971). A.I. Pérez-Lorente posee un contrato predoctoral (FPU19/00289).



## TasA y CalY poseen un papel diferencial en la multicelularidad de *Bacillus cereus*

Ana Álvarez-Mena<sup>1</sup>, Luis Díaz-Martínez<sup>1</sup>, Joaquín Caro-Astorga<sup>1</sup>, Oscar Kuipers<sup>2</sup>, Antonio de Vicente<sup>1</sup>, Diego Romero<sup>1</sup>

(1) Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Universidad de Málaga, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Bulevar Louis Pasteur 31 (Campus Universitario de Teatinos), 29071, Málaga, España

(2) University of Groningen, Department of Molecular Genetics, Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute, Centre for Synthetic Biology, Groningen, The Netherlands

Miembros del grupo *Bacillus cereus* son patógenos humanos responsables de recurrentes intoxicaciones alimentarias asociadas al consumo de verdura y comida procesada contaminada. El desarrollo de comunidades bacterianas, también conocidas como biofilms, y la formación de esporas, son pasos esenciales para la supervivencia y transmisión de esta bacteria. Los estudios con la especie *Bacillus subtilis*, relacionada filogenéticamente con *B. cereus*, han demostrado que una subpoblación celular se diferencia en productoras componentes de la matriz extracelular. Las proteínas amiloides forman parte de dicha matriz, se caracterizan por presentar una alta tendencia a fibrilar y participan de forma multivalente en la fisiología bacteriana. En *B. cereus* hemos identificado dos genes ortólogos al gen *tasA* de *B. subtilis*, denominados *tasA* y *calY*, respectivamente, y hemos demostrado que las proteínas para las que codifican tienen propiedades amiloides. Mutantes simples en cada uno de estos genes inducen alteraciones en la formación de biofilms, pero de forma diferente: mientras que el anillo de  $\Delta$ *tasA* se desprende de la superficie del pocillo a las 72 horas, el  $\Delta$ *calY* presenta un menor grosor. En estudios a nivel celular hemos demostrado la existencia de subpoblaciones con diferentes patrones de expresión: i) las que expresan ambos, ii) sólo se expresa *calY*, o iii) ninguno de ellos. Adicionalmente hemos observado cambios en la expresión de genes entre cada una de las cepas mutantes y la silvestre. Los resultados preliminares que se mencionan en este resumen indican que ambas proteínas parecen desempeñar funciones diferentes pero complementarias dentro del programa multicelular de *B. cereus*.

Financing: AGL2016-78662-R, PID2019-107724GB-I00 Ministerio de Ciencia e Innovación; ERC Starting Grant (BacBio637971). Ana Álvarez posee FPI (BES-2017-081275) Ministerio de Ciencia e Innovación.

### De la célula al ecosistema: estudio de la actividad metabólica de Pelagibacter y sus virus mediante la técnica BONCAT

**Maria Alvarez Sanchez<sup>1</sup>**, Manuel Martinez Garcia<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alicante, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Facultad de Ciencias, C/San Vicente del Raspeig s/n 03080, San Vicente del Raspeig, Alicante, España

Uno de los retos fundamentales a los que se enfrenta la microbiología ambiental al indagar en la fisiología, diferenciación de nicho y actividad de los microorganismos, es la necesidad de recurrir a técnicas independientes de cultivo, las cuales se basan en la reconstrucción de genomas sin la necesidad de cultivo. Pelagibacter o SAR11 es la bacteria marina más abundante de todo el planeta. Tiene un papel importante en el ciclo del carbono, así como sus virus, ya que tras su lisis celular por la infección vírica se liberan enormes cantidades de carbono en los océanos. SAR11 es un grupo muy extenso, existiendo diferentes ecotipos en función de variaciones geográficas, temporales o estacionales. Para estudiar las células de SAR11 metabólicamente activas, sus virus y diferenciarlas de las inactivas, emplearemos la técnica BONCAT. Esta técnica se basa en la incorporación de aminoácidos sintéticos en las proteínas de nueva síntesis, y su marcaje se revela por fluorescencia mediante química click. De esta manera, las células metabólicamente activas serán fluorescentes. Hemos conseguido aplicar esta técnica para muestras de agua del Mar Mediterráneo, identificando las bacterias metabólicamente activas. Por otra parte, combinaremos esta técnica con la hibridación in situ de células vivas o "live"-FISH que nos permitirá seleccionar específicamente células SAR11 activas mediante separación por citometría de flujo y posterior secuenciación, estudiando así su genoma y el de sus virus infectivos, permitiendo ahondar en el conocimiento de las variaciones temporales en la microdiversidad de SAR11 activas en cada momento, así como de sus predadores virales.

Financing: Organismo Financiador: Department of Energy (EEUU) Referencia: SS451675 DOE-CALTECH

## El plásmido IncR como reservorio de la metiltransferasa ArmA en un entorno clínico veterinario a lo largo de una década

**Carlos Serna**<sup>1,2</sup>, Bosco R. Matamoros<sup>1,2</sup>, Jose F. Delgado-Blas<sup>1,2</sup>, Natalia Montero<sup>1,2</sup>, Marta E. García<sup>1</sup>, Jose Luis Blanco<sup>1</sup>, Bruno González-Zorn<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Av. Puerta de Hierro, s/n, Madrid, España

(2) Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Madrid, España

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una de las principales amenazas para la salud humana y animal en el siglo XXI. El entorno hospitalario supone un importante reservorio de la RAM mediada por plásmidos. Los plásmidos IncR se han identificado recientemente a nivel mundial portadores de genes de resistencia dentro de la familia Enterobacteriaceae. El objetivo de este estudio fue realizar un análisis comparativo en plásmidos IncR portadores de ArmA para comprender su dinámica epidemiológica. Se obtuvieron cinco aislados de *Klebsiella pneumoniae* procedentes de perros y gatos entre 2008-2010. Además, en 2019 se identificó en el mismo hospital un aislado procedente de un caballo perteneciente al complejo *Enterobacter cloacae*, detectándose en todos ellos el gen *armA* mediante PCR. Los aislados fueron secuenciados utilizando las tecnologías Illumina y Nanopore para resolver sus estructuras genómicas e identificar los plásmidos portadores de *armA*, que fueron anotados y analizados con herramientas bioinformáticas. Observamos que todos los aislados portaban *armA* en un plásmido IncR que compartía una estructura muy similar. Todos los plásmidos presentaban una región de multiresistencia en un transposón compuesto similar a Tn1548. Curiosamente, el aislado de *E. cloacae* obtenido de un caballo en 2019 contenía un plásmido IncR que presentaba gran similitud con los encontrados 10 años antes en perros y gatos en el mismo hospital veterinario. En este trabajo identificamos un plásmido IncR portador de *armA* que se transfiere horizontalmente entre diferentes especies bacterianas y que es responsable de la prevalencia de *armA* en un hospital veterinario durante una década.

Financing: Este proyecto está financiado con una beca de doctorado FPU del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (FPU18/04196).

### Formación de biofilms en la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC7120: factores implicados en su desarrollo y regulación por proteínas FUR

Irene Oliván Muro<sup>1,2</sup>, Andrés Sandoval<sup>1,2</sup>, Jorge Guío Martínez<sup>1,2</sup>, Germán Alonso<sup>1,2</sup>, Jesús Arenas<sup>3,4</sup>, Emma Sevilla<sup>1,2</sup>, Andrés González<sup>1,2,5</sup>, María F. Fillat<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Zaragoza, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias, Pedro Cerbuna, 12, Zaragoza, España

(2) Universidad de Zaragoza. Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas complejos (BIFI), Mariano Esquillor, Edificio I+D Campus Río Ebro, Zaragoza, España

(3) Universidad de Zaragoza, Departamento de Patología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Calle Juan José Lorente, 19, Zaragoza, España

(4) Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Avda. Montañana, 930, Zaragoza, España

(5) Instituto de Investigación Sanitaria Aragón, Avda. San Juan Bosco, 13, Zaragoza, España

Los biofilms de cianobacterias pueden ser de interés tanto por sus potenciales aplicaciones, como la bioadsorción de metales en aguas contaminadas, como por sus riesgos ambientales, dada su mayor resistencia a xenobióticos y condiciones adversas. La matriz extracelular que conforma un biofilm aporta integridad estructural y resistencia, siendo de particular importancia su contenido en exopolisacáridos (EPS). Los EPSs secretados por las cianobacterias, que suponen una reserva de nutrientes y protección contra la desecación, tienen naturaleza aniónica, lo que permite el secuestro de cationes metálicos. Los biofilms en bacterias heterótrofas han sido estudiados en mayor profundidad, pero quedan incógnitas por resolver acerca de los biofilms fototróficos y los factores que condicionan su formación. Hemos observado en nuestro laboratorio que la formación de biofilms y secreción de EPSs en la cianobacteria filamentosa y fijadora de nitrógeno *Anabaena* sp. PCC7120 se ven afectados por estreses como el estrés salino o la deficiencia de nitrógeno. Además, los reguladores transcripcionales FurA, FurB y FurC, que controlan múltiples aspectos de la fisiología de *Anabaena* sp. PCC7120, podrían participar en la regulación de la formación de biofilms y secreción de EPSs. A través de estudios bioinformáticos para identificar proteínas clave en la formación de biofilms en *Anabaena* sp. PCC7120, combinados con análisis transcripcional comparativo de la estirpe silvestre con variantes afectadas en la síntesis de estos reguladores transcripcionales, así como ensayos de cambio de la movilidad electroforética (EMSA), hemos definido nuevos elementos clave en la formación de biofilms fototróficos y avanzado en el estudio de su regulación.

Financing: Investigación financiada por BFU2016-77671-P/FEDER(MINECO), PID2019-104889GB-I00 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades) y E35\_17R Biología Estructural (Gobierno de Aragón).

## Novel Two-Component Antitermination System Present at the Start of Many Conjugation Operons

**Wilfried Meijer**<sup>1</sup>, Andrés Miguel Arribas<sup>1</sup>, Jorge Val Calvo<sup>1</sup>, César Gago Córdoba<sup>1</sup>, José María Izquierdo<sup>1</sup>, David Abia<sup>1</sup>, Ling Juan Wu<sup>2</sup>, Jeff Errington<sup>2</sup>

(1) Centro de Biología Molecular, Severo Ochoa, Intereactions with the Environment, Sciences, C. Nicolas Cabrera 1, 28049, Madrid, Spain

(2) Centre for Bacterial Cell Biology, Biosciences Institute, Newcastle University, NE4AX Newcastle Upon Tyne, Newcastle, UK

Several cellular processes involve many genes, which are often clustered in large operons. Processive antitermination (P-AT) systems are embedded in several of such operons. The best-studied P-AT systems are the N and Q antiterminator proteins of phage  $\lambda$ . Association of an antitermination factor with a transcription-elongation-complex (TEC) allows the altered TEC to bypass terminator signals. Most of the relatively few P-AT systems known are based on a protein, but in two P-AT systems the antitermination factor is an RNA molecule. The biological function of P-AT systems is not very clear. Here, we describe the discovery of novel P-AT systems that are located at the start of many conjugation operons; named ConAn P-AT systems. Contrary to known P-AT systems, conAn systems are composed of two components: an RNA moiety responsible for antitermination, and a protein required for processivity. The conAn system of the *B. subtilis* plasmid pLS20 was studied in detail. Its very large conjugation operon contains >20 transcriptional terminators. Five randomly chosen terminators, as well as terminators from another plasmid, were antiterminated by the conAn system. We also addressed the function of the conAn system and showed that it allows differential expression of subsets of conjugation genes. In addition, we provide evidence that the conAn system contributes to strict regulation of the conjugation genes by minimizing the effects of spurious transcription. Finally, conAn systems have different host ranges. This has important implication for the spread of antibiotic resistance and other pernicious genes by conjugation.

Financing: PID2019\_108778GB\_C21 (AEI/FEDER, EU) to WJJM; RTI2018-098517-B100 to JMI; and a Wellcome Investigator grant [209500] to JE

### Caracterización funcional de la proteína amiloide TasA en la formación de las fibras amiloides en *Bacillus subtilis*

Jesús Cámara-Almirón<sup>1</sup>, Laura Domínguez García<sup>1</sup>, Antonio de Vicente<sup>1</sup>, Diego Romero<sup>1</sup>

(1) Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea, La Mayora -Departamento de Microbiología,, Universidad de Málaga, Bulevar Louis Pasteur, 31 (Campus Universitario de Teatinos), Málaga, España

La formación de biofilms representa una respuesta bacteriana adaptativa al medio ambiente. En *Bacillus subtilis* se ha demostrado que la capacidad de formación de biofilm sobre la superficie de la planta contribuye positivamente a la persistencia y antagonismo frente a hongos. Trabajos previos de nuestro grupo han demostrado las propiedades amiloides de TasA, principal componente proteico de la matrix extracelular, y su papel adicional en la fisiología bacteriana así como adaptación a la vida de *Bacillus* en la filosfera. El objetivo de este trabajo ha sido determinar las regiones implicadas en las propiedades amiloides y funcionales de TasA. La digestión de TasA con proteínasa K, demostró la existencia de una región resistente a la proteólisis y correspondiente a la mitad amino terminal de la proteína, que denominamos núcleo amiloide. El análisis bioinformático de este núcleo, probó la existencia de repeticiones imperfectas de aminoácidos y segmentos amiloidogénicos que podrían ser importantes para el montaje de la fibra amiloide y la formación del biofilm. El análisis mediante unión a colorantes específicos, microscopía electrónica de transmisión, y estudios de agregación, han demostrado las propiedades amiloides del núcleo. Además, se han estudiado variantes de TasA con mutaciones puntuales en ciertos aminoácidos específicos dentro de este núcleo amiloide y potencialmente amiloidogénicos. En conclusión, TasA, al igual que otras proteínas amiloides, posee un núcleo altamente "empaquetado" y resistente a degradación proteolítica, proporcionando la robustez necesaria para ensamblar un polímero. Además, hemos encontrado aminoácidos específicos que podrían contribuir o bien al papel estructural o fisiológico de TasA.

Financing: AGL2016-78662-R y PID2019-107724GB-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación; European Research Council Starting Grant (BacBio 637971).



## Caracterización de genes de resistencia a antibióticos en elementos genéticos móviles de aislados procedentes de infecciones asociadas a dispositivos médicos

**Verónica Patricia Bernabé Quispe**<sup>1</sup>, Mercedes Cervera Alamar<sup>1,2</sup>, José Manuel Pérez Royo<sup>1</sup>, Amparo Valentín Martín<sup>1,3</sup>, M<sup>a</sup> Ángeles Tormo Mas<sup>1</sup>

(1) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Infección grave, Avenida Fernando Abril Martorell, Valencia, España

(2) Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir, Instituto Valenciano de patología, Carrer de Quevedo, Valencia, España

(3) Hospital Universitario y Politécnico La Fe, microbiología, Avenida Fernando Abril Martorell, Valencia, España

Las infecciones asociadas a dispositivos médicos (IAD), como las infecciones asociadas a catéteres o a prótesis articulares, son particularmente relevantes entre las infecciones relacionadas con la atención sanitaria, representando una seria amenaza para la salud pública. La patogenicidad de *Staphylococcus* spp se debe a su habilidad para persistir y multiplicarse en diferentes entornos, junto con su capacidad para producir una gran variedad de factores de virulencia. Muchos de estos factores, entre los que se incluyen genes de resistencia a antibióticos, formación de biopelículas, toxinas o superantígenos, están codificados por elementos genéticos móviles (EGMs) y son diseminados mediante transferencia horizontal. En este trabajo nos centramos en la caracterización de genes de resistencia a antibióticos codificados tanto en Islas de patogenicidad como en bacteriófagos de *Staphylococcus coagulasa* negativos de aislados de pacientes con infecciones asociadas a catéteres, o a prótesis articulares, para ello, tras su secuenciación masiva, se realizó un análisis *in silico*, obteniendo los mapas genéticos de estos EGMs. Estos análisis permitieron la identificación de diferentes genes relacionados con resistencia a antibióticos y metales pesados, como el ácido fusídico o a trimetoprima, entre otros. Para confirmar que estos genes conferían resistencia, se clonaron y se realizaron diferentes pruebas de susceptibilidad. Los resultados de este estudio han demostrado la presencia algunos de genes de resistencia a antibióticos que no habían sido previamente descritos en estos EGMs, confirmando que estos EGMs están adquiriendo constantemente nuevos factores de virulencia y contribuyendo a su diseminación y por tanto complicando enormemente el tratamiento de IAD.

Financing: Trabajo financiado gracias a las ayuda SAF2017-82251-R del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universdades de España a Tormo-Mas MA.



### Funcionalización de biofilms mediante la ingeniería de la proteína amiloide Bap

**Leticia Matilla**<sup>1</sup>, Agustina Taglialegna<sup>1</sup>, Iñigo Lasa<sup>2</sup>, Jaione Valle<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agrobiotecnología (IDAB). CSIC-Gobierno de Navarra, Avenida Pamplona 123, Pamplona, España

(2) Navarrabiomed. UPNA-IDISNA, Departamento de Salud, Calle de Irunlarrea 3, Pamplona, España

Las fibras amiloides son un elemento estructural común de la matriz extracelular del biofilm en diversas bacterias. La capacidad de autoensamblaje de las proteínas amiloidogénicas, junto con la estabilidad y robustez de las nanofibras que generan, convierten a los amiloides en complejos proteicos con excepcionales cualidades para la construcción de filamentos funcionales a escala nanométrica con posibles propiedades terapéuticas. Los amiloides facultativos tienen además la ventaja de desempeñar una doble función. La proteína en su estado nativo puede actuar como adhesina, y en la conformación amiloide como andamiaje de la matriz extracelular del biofilm. Utilizando como modelo de amiloide facultativo la proteína Bap de *Staphylococcus aureus*, hemos ingenierizado la región amiloide N-terminal de Bap con diferentes dominios funcionales. La expresión de estas proteínas ha dado lugar a diversas nanoestructuras funcionalizadas que, en función de las condiciones ambientales, están asociadas a la superficie de las células o como parte de la matriz extracelular del biofilm. La segunda estrategia para funcionalizar fibras amiloides ha consistido en la complementación exógena de bacterias con el dominio amiloide N-terminal de Bap recombinante funcionalizado con diferentes etiquetas. La ventaja de este sistema es que las cepas derivadas de la complementación exógena no contienen material genético modificado. Estas estrategias nos permiten crear por primera vez amiloides facultativos funcionales y modificables que pueden ser empleados como herramientas biotecnológicas.

## Análisis genómico y filogenético de bacteriófagos con actividad lítica y potencial de control biológico de la bacteria fitopatógena *Ralstonia solanacearum*

**Belén Álvarez**<sup>1,2</sup>, Àngela Figàs-Segura<sup>1</sup>, José Francisco Català-Senent<sup>1</sup>, María M. López<sup>3</sup>, Elena G. Biosca<sup>1</sup>

(1) Universitat de València (UV), Departamento de Microbiología y Ecología, Valencia, España, correspondencia: Elena.Biosca@uv.es

(2) Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), Departamento de Investigación Aplicada y Extensión Agraria, Madrid, España

(3) Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Valencia, España

*Ralstonia solanacearum* produce marchitez bacteriana, una de las enfermedades de plantas más destructivas. Mientras que el control químico en campo supone un impacto ambiental, las estrategias de control biológico permiten agrosistemas más sostenibles. Se aislaron tres bacteriófagos (fagos) líticos de *R. solanacearum*, vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 con capacidad de biocontrol en agua ambiental y planta, pero solo se realizó una identificación inicial, siendo su caracterización genómica fundamental para comprender mejor su biología. Por ello se secuenciaron los genomas de los tres fagos y se sometieron a un análisis bioinformático. También se observó su morfología por microscopía electrónica. La secuenciación se realizó con la tecnología Illumina SBS. Para la anotación genómica, la predicción de CDS se realizó con RASTtk, utilizando Glimmer3 y Prodigal, y se revisó utilizando BLASTp y HHpred. Adicionalmente se utilizó Virfam para la detección de las proteínas de los módulos estructurales. Los análisis filogenéticos se realizaron con VICTOR y VIRIDIC, con una selección de fagos capaces de infectar *R. solanacearum* y la especie fitopatógena estrechamente relacionada *R. pseudosolanacearum*. Se construyó un árbol proteómico con ViPTree. Los resultados indicaron que los genomas de vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 tienen un tamaño entre 40.408 y 40.887 pb con casi un 59% G+C, 52 CDS en vRsoP-WF2 y vRsoP-WM2 y 53 en vRsoP-WR2. Los tres fagos pertenecen a una misma especie dentro de los Gyeongsanvirus, familia Autographiviridae (anteriormente Podoviridae). El conjunto completo de datos aportados por estos análisis permitirá una mayor comprensión de su capacidad para el control biológico de *R. solanacearum*.

Financing: Proyecto RTA2015-00087-C02-02, cofinanciado por el INIA, el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad y los Fondos FEDER.

## Oxidative stress genes involved in the virulence-dependent susceptibility to antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*

**Pedro Barata Coelho**<sup>3,4</sup>, Ruben Fernandes<sup>1,2</sup>, Carina Silva<sup>1</sup>, Marco Oliveira<sup>1</sup>, Marlene Veiga<sup>1</sup>, Sara Sá<sup>1</sup>, André Vieira<sup>3</sup>, Carla Guedes<sup>1</sup>, Pilar Bayilina<sup>1,2</sup>

(1) Centro Hospitalar Universitário do Porto, Patologia Clínica, Porto, Portugal

(2) Escola Superior de Saúde (ESS) do Politécnico do Porto, Portugal

(3) Centro Hospitalar Universitário do Porto, Patologia Clínica, Porto, Portugal

(4) Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal

*Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative opportunistic pathogen which rarely causes disease in healthy people. *P. aeruginosa*, in particular strain PAO1 is also a biological model for studying virulence and bacterial social traits, such as quorum sensing, SOS response among other. Antibiotic response is dependent, among several other factors, to the response to environmental stress conditions. The present study aims to understand the role of 10 PAO1 oxidative gene mutants in the response to antibiotic stress in elastase, protease and pyocyanin-dependent virulence factors. PAO1 was stressed to several antibiotics (penicilins, cephalosporins, macrolides, and quinolones), and the virulence proteins were measured by means of spectroscopic methods. Viability was measured by means of Erythrosin B. PAO1 GGT, GLO1, RubA2, GSH A mutants were the most susceptible to the production of virulence-dependent factors.

Financing: Nothing to declare

## The synergic effect of antibiotics is dependent of oxidative stress genes in *Pseudomonas aeruginosa*

Ruben Fernandes<sup>1,2</sup>, **Pedro Barata Coelho**<sup>3,4,5</sup>, Carla Guedes<sup>1</sup>, Frantz Gojon<sup>1</sup>, Marco Oliveira<sup>1</sup>, Marlene Veiga<sup>1</sup>, Sara Sa<sup>1</sup>, Carina Silva<sup>1</sup>, Pilar Baylina<sup>1,2</sup>

(1) Laboratório de Biotecnologia Médica e Industrial (LaBMI), Porto Research, Technology and Innovation Center (PORTIC) do Politécnico do Porto, Portugal

(2) Escola Superior de Saúde (ESS) do Politécnico do Porto, Portugal

(3) Centro Hospitalar Universitário do Porto, Patologia Clínica, Porto, Portugal

(4) Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal

(5) I3S- Universidade do Porto, Porto, Portugal

*Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative opportunistic pathogen commonly found in Cystic fibrosis, infected wound of the diabetic foot among others. Clinical management of such infection depends deeply on the antibiotic therapy. Antibiotic response is dependent, among several other factors, to the response to host stress conditions, such as low-grade inflammation, metabolic conditions and oxidative stress and to social bacteria response such as quorum sensing and biofilm formation. *P. aeruginosa*, in particular strain PAO1 is also a biological model for studying bacterial biofilm formation. The present study aims to understand the antibiotic synergic response (ampicillin, ceftazidime, ciprofloxacin) in biofilm formation / degradation of 10 PAO1 oxidative gene mutants. Viability was measured by means of Erythrosin B and biofilm formation was measured by Crystal Violet assay. PAO1 GRLX, SEPHS 1, Rub A1, where the strains with a most pronounced biofilm formation and combination of ceftazidime::ciprofloxacin were most efficient in this biological model. The results are interesting, and although they are encouraging, they should be taken with caution.

### Predicción y validación experimental de nuevas cajas de FurC (PerR) en las regiones promotoras del genoma de *Anabaena* sp. PCC7120.

**Cristina Sarasa-Buisan**<sup>1</sup>, Jorge Guio<sup>1</sup>, María L. Peleato<sup>1</sup>, María F. Fillat<sup>1</sup>, Emma Sevilla<sup>1</sup>

(1) Universidad de Zaragoza, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular e Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos, Facultad de Ciencias, C/ Pedro Cerbuna, 12, Zaragoza, España

La proteína FurC (PerR) es un regulador transcripcional perteneciente a la familia FUR (Ferric Uptake Regulator) de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC7120. Dentro de esta familia, FurC fue descrita como el regulador de respuesta a estrés por peróxido (PerR)<sup>1</sup>, sin embargo, estudios recientes revelan que FurC también controla la expresión de genes relacionados con multitud de procesos como la fotosíntesis, la homeostasis del hierro y el metabolismo de nitrógeno, destacando su participación en la regulación de genes involucrados en la diferenciación de heterocistos y la fijación de nitrógeno<sup>2,3</sup>. Con el objetivo de ampliar el conocimiento sobre el regulon directo de FurC, en este trabajo se realizó la búsqueda y validación de nuevas secuencias de unión de FurC en el genoma de *Anabaena* sp. PCC7120. Para ello, se creó una matriz de predicción a partir de las secuencias de unión al DNA de FurC más conservadas descritas previamente<sup>3</sup> y se escaneó en las regiones promotoras extraídas del genoma. Los resultados obtenidos fueron validados por ensayos de EMSA y Real Time PCR, revelando 24 nuevas dianas directas de FurC, que pertenecían a las categorías esperadas como estrés oxidativo, homeostasis del hierro, fotosíntesis y diferenciación de heterocistos, pero también a categorías novedosas entre las que destacan varios genes involucrados en el metabolismo del carbono y funciones reguladoras. Referencias:[1] Yingping F., et al. *Environ Microbiol Rep.* 2014 Oct;6(5):468-75[2] Sevilla E., et al. *Plant Cell Physiol.* 2019 Aug 1;60(8):1778-1789[3] Sarasa-Buisan C., et al. *Environ Microbiol.* 2021 May 2. Epub ahead of print. PMID: 33938105.

Financing: Esta investigación ha sido financiada con el proyecto (PID2019-104889GB-I00) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. Gobierno de España

## Génesis de cassettes de integrón

**Lucía García Pastor**<sup>1</sup>, Céline Loot<sup>2</sup>, Amalia Nieto-Prieto<sup>1</sup>, Filipa Trigo da Roza<sup>1</sup>, Paula Blanco<sup>1</sup>, Alberto Hipólito Carrillo de Albornoz<sup>1</sup>, Ester Vergara<sup>1</sup>, Didier Mazel<sup>2</sup>, José Antonio Escudero<sup>1</sup>  
(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad Animal - VISAVET, Facultad de Veterinaria, Av. Puerta de Hierro, Madrid, España.  
(2) Institut Pasteur, Unité de Plasticité du Génome Bactérien, Département Génomes et Génétique, Paris, France.

Los integrones son plataformas genéticas que permiten a las bacterias captar, almacenar y reorganizar nuevos genes embebidos en pequeños elementos móviles denominados cassettes. La integrasa del integrón es capaz de captar cassettes mediante la recombinación de su sitio attC con el attI de la plataforma del integrón. Se desconoce como se generan los cassettes en la naturaleza, es decir, cómo un gen sedentario puede asociarse con un sitio attC y convertirse en un cassette de integrón móvil. Nuestro trabajo tiene como objetivo dilucidar los mecanismos de génesis de cassettes de novo. Para ello queremos desarrollar un sistema de captura de cassettes y testarlo con ADN que no contiene cassettes. Este sistema de captura se basa en el attI4 del SuperIntegron (SI) de *Vibrio cholerae*. El sitio attI4 parece canónico, y está compuesto de dos cajas de 7bp (L y R) separadas por 5 bp. Para poder diseñar nuestro sistema de captación, necesitamos el paso de un ORF por attI4 sin perder su actividad en recombinación. Durante el desarrollo del sistema el sitio attI4 ha demostrado tener un comportamiento más complejo porque su tasa de recombinación depende de un contexto genético más amplio. Respetando este contexto, hemos podido introducir un ORF con un RBS fuerte sin comprometer la actividad de attI4. Sin embargo, la expresión de este gen parece bimodal lo que impediría el correcto diseño de una herramienta de captura. Actualmente estamos explorando las bases genéticas de esta observación y su implicación biológica.

Financing: Programa Atracción de Talento de la Comunidad de Madrid. European Research Council Starting Grant. Ministerio de Economía, Industria y Competitividad. Programa Excelencia.

### La delección del dominio I2 no es esencial para la actividad ancestral de la Integrasa

**Francisco Manuel Ojeda García**<sup>1</sup>, Lucía García Pastor<sup>1</sup>, Alberto Hipólito Carrillo de Albornoz<sup>1</sup>, Ester Vergara González<sup>1</sup>, José Antonio Escudero<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad-VISAVET, Facultad de Veterinaria, Avenida Puerto de Hierro, Madrid, España

Las integrasas de integrón gobiernan las reacciones de captación y reordenación de cassettes en los integrones. Pertenecen a las tirosín (Y) -recombinasas, una familia de proteínas ubicuas que recombinan sustratos de ADN doble-hebra mediante el intercambio secuencial de las dos hebras. Sin embargo, las integrasas de integrón han adquirido la capacidad de reconocer y recombinar ADN monohebra (el sitio attC del cassette) manteniendo la recombinación doble-hebra (el sitio attI en el integrón). Esta función moderna es posible gracias a la adquisición del dominio I2 que permite reconocer elementos estructurales de los sitios attC evitando el segundo intercambio de hebras, que sería deletéreo. Este dominio ha sido descrito como esencial para la actividad de la integrasa. Recientemente hemos demostrado que las integrasas conservan una débil actividad ancestral bona fide (la recombinación de dos sitios attI) y hemos conseguido una integrasa hiperactiva para esta reacción (10.000x). Esta integrasa contiene el dominio I2, aunque la reacción ancestral no implica sustratos monohebra. En este proyecto hemos querido obtener una integrasa estructuralmente similar a sus ancestros, las Y-recombinasas. Para ello hemos construido 19 mutantes en los que hemos quitado de forma secuencial el dominio I2. Hemos medido su actividad ancestral con un ensayo de recombinación attI x attI en el cromosoma. La pérdida de actividad en estos mutantes es gradual y se conserva tras deleccionar hasta 16 de los 19 aminoácidos del dominio. Nuestros datos apuntan a que el dominio I2 no es esencial para la función ancestral de las integrasas.

Financing: Programa Atracción de Talento de la Comunidad de Madrid. European Research Council Starting Grant. Ministerio de Economía, Industria y Competitividad. Programa Excelencia.



## One Health: ArmA en *Enterobacter hormaechei* ST171

**Bosco R. Matamoros**<sup>1,2</sup>, Carlos Serna<sup>1,2</sup>, Ana Hernández<sup>1</sup>, Natalia Montero<sup>1,2</sup>, Marta García<sup>1</sup>, Jose Luis Blanco<sup>1</sup>, Bruno Gonzalez-Zorn<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Madrid, España

(2) Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Madrid, España

La resistencia a los antimicrobianos es uno de los mayores problemas de Salud Pública actualmente. Los aminoglucósidos, junto con betalactámicos y quinolonas, son la clase antibiótica más efectiva para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias de la familia Enterobacteriaceae. Sin embargo, la emergencia de las metiltransferasas adquiridas del ARNr 16S amenazan el uso de esta clase antibiótica. De los 1452 aislados procesados por el Hospital Clínico Veterinario Complutense, 30 enterobacterias fueron seleccionadas para este estudio por presentar resistencia a aminoglucósidos. De ellas, un solo aislado procedente de un caballo presentaba altos niveles de resistencia a aminoglucósidos, además de resistencia a quinolonas y betalactámicos. La secuenciación de este aislado demostró que pertenece al grupo *Enterobacter cloacae* complex secuenciotipo 171. Concretamente, se relaciona con el grupo filogenético *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis*. Esta especie bacteriana de reciente identificación fluctúa entre seres humanos y animales, y presenta interesantes características ecológicas y evolutivas. El análisis de su estructura genómica reveló que el aislado portaba dos plásmidos que presentaban genes de resistencia: un IncC de 186 kb y un IncR de 70 kb. Este último portaba los genes *armA*, *blaDHA-1* y *qnrB4*, lo que explica su perfil de resistencia. Este es el primer análisis amplio de la especie *Enterobacter hormaechei* en animales y seres humanos. Además, la metiltransferasa *armA* nunca ha sido identificada en un aislado procedente de un caballo a nivel mundial. La resistencia codificada en el plásmido IncR y su asociación con *Enterobacter hormaechei* representa una grave amenaza clínica.

### Adaptación de plásmidos ColE1-like a nuevos hospedadores bacterianos

**Emilia Wedel**<sup>1,2</sup>, Cristina Bernabe-Balas<sup>1,2</sup>, Manuel Ares-Arroyo<sup>1,2</sup>, Natalia Montero<sup>1,2</sup>, Bruno Gonzalez-Zorn<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Madrid, España

(2) Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Madrid, España

Los plásmidos pequeños multicopia son plásmidos movilizables que pueden diseminarse mediante la transferencia horizontal de genes. Esto contribuye a la propagación de la resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, los mecanismos que intervienen en la adaptación plásmido-huésped no se conocen totalmente. Aquí describimos por primera vez las bases de un nuevo mecanismo de adaptación plasmídico a nuevas familias bacterianas. pB1000, un plásmido ColE1-like de Pasteurellaceae que porta la beta-lactamasa ROB-1, nunca se ha descrito en *Escherichia coli*. Cuando se propaga en *E. coli* DH5 $\alpha$ , se pierde rápidamente de la población bacteriana. Para explorar posibles cambios adaptativos, realizamos experimentos de evolución compensatoria de pB1000 en *E. coli* DH5 $\alpha$  durante 500 generaciones bajo presión selectiva. Se identificaron dos tipos diferentes de modificaciones que dan lugar a una ampliación o cambio del rango de hospedadores. Por un lado, observamos que los SNPs en el origen de replicación condujeron a un mayor número de copias del plásmido y dieron lugar a un cambio en el rango de huéspedes de pB1000. Asimismo, la adquisición de secuencias de inserción (ISs) cromosómicas que interrumpen un ORF40, disminuyeron la carga biológica y ampliaron el rango de huéspedes del plásmido. Distintos ensayos realizados sobre este marco de lectura abierto nos indican que el ORF40 codifica para un péptido tóxico en *E. coli*. En conclusión, este estudio demuestra que pB1000 es capaz de ampliar su rango de hospedador mediante pequeñas variaciones en su secuencia, incluyendo la captación sitio-específica de diversas ISs, con distintas consecuencias biológicas.

Financing: "This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No. 765147".

## **Análisis de la microbiota intestinal mediante metaproteómica: diferentes procesamientos de la muestra favorecen la detección de determinados phyla**

**Carmen García Durán**<sup>1</sup>, Raquel Martínez López<sup>1</sup>, Inés Zapico<sup>2</sup>, Enrique Pérez<sup>2</sup>, Eduardo Romeu<sup>2</sup>, Javier Arroyo<sup>1</sup>, María Luisa Hernández<sup>2</sup>, Aida Pitarch<sup>1</sup>, Lucía Monteoliva<sup>1</sup>, Concha Gil<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040, Madrid, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Unidad de Proteómica, Facultad de Farmacia, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040, Madrid, España

La metaproteómica es el estudio a gran escala de todas las proteínas presentes en una muestra biológica en un momento determinado. El empleo de esta técnica para el estudio de la microbiota gastrointestinal no sólo permite descifrar el perfil taxonómico de las comunidades microbianas ahí presentes sino además tener una visión global de las diferentes funciones metabólicas desarrolladas por la microbiota en ese momento. También permite detectar proteínas humanas que pueden ser de interés por su interacción con la microbiota. En este trabajo se evaluaron diferentes métodos tanto del procesamiento inicial de la muestra como de la rotura de los microorganismos (ambos pasos críticos en la obtención de proteínas) llegándose a la conclusión de que la combinación de una disgregación más prolongada de la muestra junto con un paso de sonicación favorece el incremento del número total de péptidos y proteínas identificadas. Así mismo, se observó que el uso de la sonicación mejora la detección de proteínas pertenecientes a determinados phyla como Firmicutes, Actinobacteria y Fusobacteria, mientras que la identificación de Proteobacteria y Bacteroidetes se vio favorecida con la rotura mecánica utilizando bolitas de vidrio. Se observó también que la sonicación produjo una disminución de las proteínas humanas identificadas respecto a la rotura mecánica con bolitas. Los perfiles taxonómicos y funcionales obtenidos con los distintos protocolos descritos en este trabajo proporcionan a los investigadores la información necesaria para escoger el protocolo adecuado para el estudio de ciertas enfermedades que se sospeche estén relacionadas con microorganismos específicos de la microbiota gastrointestinal.

InGEMICS-CM B2017/BMD3691 de Comunidad de Madrid, RTI2018-094004-B-100 del Ministerio de Ciencia e Innovación, REIPI (RD16/0016/0011) y PRB3 (PT17/0019/0012) del ISCIII.

**Microbiología Medio Acuático**  
**Presentación Oral**

**Diseño de sondas fluorescentes basadas en sideróforos para el estudio y detección de *Aeromonas salmonicida***

**Diego Rey-Varela**<sup>1</sup>, Javier Cisneros-Sureda<sup>2</sup>, Jaime Rodríguez<sup>2</sup>, Miguel Balado<sup>1</sup>, Carlos Jiménez<sup>2</sup>, Manuel L. Lemos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Microbiología y Parasitología, Instituto de Acuicultura, Santiago de Compostela, España

(2) Universidad de A Coruña, Departamento de Química Fundamental, Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA), A Coruña, España

*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, el agente causal de la furunculosis en peces, produce dos tipos de sideróforos con un grupo catecol, amonabactina y acinetobactina, que permiten su multiplicación dentro del hospedador. La conjugación de diferentes compuestos con sideróforos permite su internalización en las células bacterianas a través de los receptores de sideróforos. En este trabajo se sintetizaron tres conjugados fluorescentes basados en la unión de fluoróforos a análogos biscatecol de la amonabactina. Los conjugados difieren en el fluoróforo empleado, en la longitud de la cadena que une las dos unidades de catecol y en la posición de unión del fluoróforo al análogo de amonabactina. El primer conjugado, que porta el fluoróforo NBD unido al grupo amino libre del análogo, no mostró actividad siderófora. El segundo conjugado, con el fluoróforo NBD unido en el mismo punto que la fenilalanina o el triptófano del sideróforo natural, mostró actividad siderófora, por lo que era transportado al citoplasma, pero no mostró fluorescencia. Finalmente, el tercer conjugado, que contiene el fluoróforo sulforrodamina B, mostró resultados prometedores como sonda, ya que puede ser internalizado por las células de *A. salmonicida* a través del receptor específico FstC y las células mostraron fluorescencia cuando se observaron al microscopio de fluorescencia. Esta sonda demostró ser altamente específica para especies del género *Aeromonas* pudiendo ser útil en trabajos futuros para un estudio detallado del transporte de sideróforos, para seguir las infecciones in vivo, así como para la detección de *Aeromonas* en plantas acuícolas con el fin de anticipar futuros brotes.

Financing: Este trabajo fue financiado mediante el proyecto RTI2018-093634-B-C21/C22 (AEI/FEDER) y las becas GRC2018/018 y GRC2018/039 de la Xunta de Galicia.

## DNA Viral Quasispecies In The Oceans and Beyond: the tale of one of the most abundant virus in our oceans

**Manuel Martinez Garcia**<sup>1</sup>, Marina Vila Nistal<sup>1</sup>, Francisco Martinez Hernandez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alicante, Departamento Fisiología, Genética y Microbiología, 03080

The discovery and identification of abundant viruses that account for a large pool of carbon and nutrients and have a major role in the viral shunt is paramount to build accurate ecological models. Guided by the emergent methodology based on single-virus genomic (SVGs) in combination with other omic approaches (e.g. droplet digital PCR, metagenomics and targeted population sequencing), I will show the biological and ecological features of the uncultured marine virus named vSAG 37-F6, which is the putative most abundant virus in the oceans and that was recently discovered by our group at the University of Alicante. This virus, intriguingly, has been overlooked by other techniques for many years. In this talk, I will present our recent results on the biogeography, microdiversity and other evolutionary traits, and discuss whether the concept of viral quasispecies commonly used for RNA viruses also apply to this mysterious, hidden and very abundant virus in the sea that has an enormous impact on marine biogeochemical cycles

Financing: Spanish Ministry of Science and Innovation (RTI2018-094248-B-I00), Gordon and Betty Moore Foundation (grant 5334) and Generalitat Valenciana (ACIF/2015/332 and APOSTD/2020/237).

### **AraC1 es el principal activador transcripcional que modula la expresión dependiente de la temperatura del sideróforo piscibactina en *Vibrio anguillarum***

**Marta A. Lages<sup>1</sup>**, Manuel L. Lemos<sup>1</sup>, Miguel Balado<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Compostela, Microbiología y Parasitología, Biología, Instituto de Acuicultura, Rúa de Constantino Candeira, 15705, Santiago de Compostela, A Coruña, Santiago de Compostela, España

El sistema de sideróforos de la piscibactina es un factor de virulencia esencial en patógenos de peces como *Vibrio anguillarum* o *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. Está codificado en la isla de patogenicidad irp-HPI, un elemento génico ampliamente distribuido en Vibrionaceae. En trabajos anteriores demostramos que en *V. anguillarum* los genes irp se expresan preferentemente a temperaturas bajas (<20°C). Sin embargo, se desconoce el mecanismo de regulación que controla dicha expresión. En este trabajo se construyeron mutantes para los posibles reguladores araC1 y araC2, codificados en la isla irp-HPI, así como para los reguladores generales toxRS y H-NS y se analizaron los patrones de expresión de los promotores del sistema de la piscibactina (paraC1 y pfrpA) en cada mutante. Los resultados muestran que la delección de araC1 bloquea la expresión de los genes de biosíntesis y transporte de la piscibactina, y que los reguladores ToxRS y H-NS tienen efectos indirectos en la expresión de dichos genes. De los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que AraC1 es esencial para la activación de los genes de la isla irp-HPI que codifican la síntesis y transporte de piscibactina. No obstante, la regulación de los genes de la piscibactina es compleja ya que también parecen participar elementos de regulación generales como ToxR-S y H-NS. Las islas genómicas a menudo codifican genes relacionados con la fitness cuya expresión debe integrarse en la transcriptómica de la bacteria receptora. La isla irp-HPI y el sideróforo piscibactina es un buen modelo para estudiar dicha integración.

Financing: Este trabajo fue financiado mediante los proyectos PID2019-103891RJ-100, RTI2018-093634-B-C21/C22 (AEI/FEDER, EU) y GRC2018/018 de la Xunta de Galicia.



## Autofagia como mecanismo de defensa frente a nanotubos de cobre en el microorganismo modelo *Tetrahymena thermophila*

Álvaro Morón García<sup>1,2</sup>, Francisco Amaro Torres<sup>1</sup>, Ana Martín González<sup>1</sup>, Juan Carlos Gutiérrez<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, C/ José Antonio Novais, 12, Madrid, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, C/ José Antonio Novais, 12, Madrid, España

Las peculiares propiedades físico-químicas de las nanopartículas de cobre las han convertido en uno de los nanomateriales más comercializados en la actualidad con aplicaciones en biomedicina y diversos sectores industriales. Sin embargo, las mismas propiedades son responsables también de sus efectos citotóxicos, siendo necesario evaluar los riesgos que su uso representa para los organismos. Empleando como modelo el ciliado *T. thermophila* analizamos los efectos citotóxicos y genotóxicos de nanotubos de cobre (Cu-NTs) a corto plazo. Mediante citometría de flujo y RT-PCR cuantitativa se detectó la generación de estrés oxidativo y la activación de diferentes sistemas de defensa celular tras 1 hora de exposición a Cu-NTs, destacando la sobreexpresión de metalotioneínas, enzimas de reparación del ADN, y distintos sistemas antioxidantes. A las 24 h se observó daño intenso en el ADN mediante ensayos cometa. Además, la exposición a Cu-NTs activó la autofagia, observándose un aumento significativo de la expresión de genes ATG (autophagy-related genes), y un abundante número de autofagosomas conteniendo mitocondrias dañadas y Cu-NTs, observados mediante microscopía electrónica de transmisión y fluorescencia. La importancia de la autofagia como mecanismo de defensa frente a Cu-NTs se confirmó por citometría de flujo empleando diferentes inhibidores (wortmanina y MRT68921). El bloqueo de la autofagia en células tratadas con Cu-NTs aumentó la mortalidad celular en más de un 15%. Los resultados de este trabajo confirman la utilidad de *T. thermophila* como modelo para el estudio de los mecanismos de toxicidad de nanopartículas metálicas, y los sistemas de defensa celulares frente a estos contaminantes emergentes.

Financing: Esta investigación se ha llevado a cabo a través del proyecto CGL2016-75494-R concedido por el Ministerio de Economía y Competitividad.



### Dinámica y selección de comunidades halófilas extremas sometidas a estrés osmótico cíclico

**Esteban Bustos Caparrós**<sup>1</sup>, Tomeu Viver<sup>1</sup>, Roth E. Conrad<sup>2</sup>, Fanus Venter<sup>3</sup>, Konstantinos T. Konstantinidis<sup>2</sup>, Rafael Bosch<sup>1</sup>, Ramon Rosselló-Móra<sup>1</sup>

(1) Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA), Departamento de biodiversidad animal y microbiana, C/ Miquel Marquès, 21, Esporles, España

(2) Georgia Institute of Technology, School of Civil Environmental Engineering, 311 Ferst Drive, EST Building, Atlanta, United States

(3) University of Pretoria, Biotechnology Institute (FABI), Pretoria, South Africa

La salinidad es uno de los principales factores abióticos que determina la estructura y dinámica de las poblaciones microbianas. Las comunidades halófilas extremas presentan una elevada resistencia a los cambios producidos por perturbaciones ambientales. Para observar cómo una población evoluciona frente a cambios ambientales recurrentes se realizó un experimento en forma de mesocosmos, que consiste en dilución y concentración de sales de salmuera de forma cíclica. Las salmueras, procedentes de las salinas de S'Avall (Mallorca), tras alcanzar el punto de saturación de sales (>34%), se diluyeron hasta un 13% en el primer mesocosmos y 20% en el segundo, se dejaron evaporar, y se repitieron los procesos. La dinámica de las poblaciones microbianas se analizó mediante la secuenciación de los metagenomas en la serie temporal, en intervalos de 5% de salinidad y durante los 3 meses de verano. El experimento permitió identificar una disminución de la diversidad paulatina a nivel inter- como intra-específica tras el choque osmótico, acentuándose en el mesocosmos con mayor dilución aplicada (13%). Además, el análisis basado en MAGs (Metagenome Assembled Genomes) de los principales genotipos permitió identificar distintos ecotipos dominantes para cada salinidad, que se permutarían y que presentan diferenciación funcional debido a su distinta composición génica que ayudarían a su adaptación a los cambios ambientales. En general, las especies dominantes mantienen su preponderancia y probablemente la variabilidad genética que se observa a lo largo de la transición debe ser responsable del mantenimiento de sus papeles funcionales en el sistema y por tanto de su éxito ecológico.

Financing: Ministerio de ciencia e innovación Gobierno de España (MICROMATES PGC2018-096956-B-C44; MARBIOM RTC-2017-6405-1), incluyendo fondos (FEDER). Contrato predoctoral FPI 2019 (PRE2019-088016)

## Dinámicas temporales de los parámetros cinéticos de las actividades enzimáticas leucina aminopeptidasa, $\beta$ - y $\alpha$ -glucosidasa en aguas superficiales costeras.

**Naiara Abad Trueba**<sup>1</sup>, Ainhoa Uranga<sup>1</sup>, Zuriñe Baña<sup>1</sup>, Begoña Ayo<sup>1,2</sup>, Itxaso Artolozaga<sup>1</sup>, Iñigo Azúa<sup>1</sup>, Jesús María Arrieta<sup>3</sup>, Juan Iriberrí<sup>1,2</sup>, Santos J. González-Rojí<sup>4,5</sup>, Marian Unanue<sup>1</sup>

(1) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Inmunología, Microbiología y Parasitología, Ciencia y Tecnología, Sarriena S/N. 48940, Leioa, España

(2) Centro de Investigación en Biología y Biotecnología Marinas Experimentales (PiE-UPV/EHU), Areatza Hiribidea, 47, 48620, Plentzia, España

(3) Centro Oceanográfico de Canarias, Instituto Español de Oceanografía (IEO), Vía Espaldón, Parcela 8, Santa Cruz de Tenerife, 38180, Santa Cruz de Tenerife, España

(4) University of Bern, Oeschger Centre for Climate Change Research (OCCR), Hochschulstrasse 4, 3012, Berna, Suiza

(5) University of Bern, Climate and Environmental Physics (CEP), Sidlerstrasse 5, 3012, Berna, Suiza

Los procariotas heterótrofos, mediante secreción de enzimas extracelulares, son capaces de hidrolizar la materia orgánica del agua de mar en compuestos de bajo peso molecular, de modo que ya pueden ser incorporados para su posterior procesamiento. En este trabajo se planteó la hipótesis de que cambios estacionales en la disponibilidad de la materia orgánica y/o en la composición de la comunidad bacteriana pudieran tener efecto en el conjunto de enzimas que son secretadas en aguas superficiales de la estación costera de Armintza (Bizkaia). Para verificar esta hipótesis, se recogieron 27 muestras de agua de mar de superficie ente febrero de 2011 y septiembre de 2013 con periodicidad mensual. En ellas, se determinaron los parámetros cinéticos de las actividades enzimáticas leucina aminopeptidasa,  $\beta$ -glucosidasa y  $\alpha$ -glucosidasa mediante el ajuste a modelos de distinta complejidad, y además se midieron otras variables ambientales. Los resultados obtenidos revelaron la existencia de un modelo multifásico que refleja la actividad simultánea de dos sistemas enzimáticos, de alta y baja afinidad, resultado de los marcados gradientes de concentración de materia orgánica presentes en el medio marino. Con el objetivo de profundizar en la asociación de los parámetros cinéticos y las variables ambientales del ecosistema, se construyó un mapa de relaciones basado en las correlaciones contemporáneas y desplazadas en el tiempo. El análisis reveló que el desarrollo de los blooms estacionales de fitoplancton eucariota y procariota actúan como mecanismo selectivo en la comunidad bacteriana, favoreciendo a aquellos miembros capaces de secretar isoenzimas específicas para degradar la materia orgánica liberada.

Financing: Becas: GV-EJ (N. A.); UPV/EHU (A. U., Z. B.) Proyectos investigación: CTM2010-19308 (MICIU); GIU 10/17, GIU 14/24 y GIU 17/143 (UPV/EHU)

### Estudio de las metaloproteasas en el patógeno de bivalvos *V. europaeus*

Clara Martínez<sup>1</sup>, Sergio Rodríguez-Rodríguez<sup>1</sup>, Juan L. Barja<sup>1</sup>, Javier Dubert<sup>1</sup>

(1) Universidade de Santiago de Compostela, Departamento de Microbioloxía e Parasitoloxía, Edificio CIBUS- Facultade de Bioloxía, Rúa Lope Gómez de Marzoa, s/n 15782, Santiago de Compostela, España

Los criaderos constituyen la única solución viable para proporcionar la gran cantidad de semilla que demanda la acuicultura de bivalvos de alto valor comercial (ostras, almejas...), debido a la imposibilidad de obtenerla a partir de los bancos naturales [1]. La vibriosis es la enfermedad bacteriana más importante que afecta a la producción de bivalvos en estas instalaciones. Entre las principales especies patógenas, *Vibrio europaeus* (Veuro) es un patógeno emergente que ha sido aislado de manera recurrente durante los últimos años asociado a mortalidades masivas de bivalvos detectadas en los criaderos de los principales países productores (Francia, España, Chile y USA) [1]. La patogenicidad de Veuro ha sido demostrada en un amplio rango de bivalvos de interés en acuicultura y afecta a distintos estadios de su ciclo vital [1]. Las metaloproteasas constituyen un importante factor de virulencia ampliamente estudiado en vibrios patógenos [2]. A partir del análisis in-silico del genoma de Veuro, hemos encontrado dos metaloproteasas codificadas en el cromosoma 2, una con un 75% de similitud con VtpA de *V. coralliilyticus* RE22 y otra con un 71% de similitud con EmpA de *V. anguillarum* M93Sm. En el presente estudio hemos mutado ambas proteasas con el fin de determinar por primera vez en esta especie el papel que juegan estas proteínas en la virulencia. [1] Rojas y col. (2021). *J. Invertebr. Pathol.* 180:107542.[2] Galvis y col. (2021). *Antibiotics* 10:291.

Financing: Este trabajo ha sido financiado gracias a la agrupación estratégica de BioReDes y a la Xunta de Galicia (ED481B 2016/032)

## Impacto citotóxico de dos filtros UV sobre la microalga *Chlamydomonas reinhardtii*: de un panel de biomarcadores a una evaluación integrada del estrés

**Carmen Rioboo**<sup>1</sup>, Laura Anido<sup>1</sup>, Marta Esperanza<sup>1</sup>, Marta Seoane<sup>1</sup>, Ángeles Cid<sup>1</sup>

(1) Universidade da Coruña, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Campus da Zapateira s/n, A Coruña, España

La identificación del riesgo ecotoxicológico debido a la exposición de los organismos acuáticos a contaminantes ambientales es fundamental para la toma de decisiones en la gestión medioambiental. Sin embargo, los múltiples efectos, letales y subletales, que estos compuestos producen en las especies acuáticas provoca que la evaluación del impacto tóxico de los contaminantes sea compleja. En este trabajo, la microalga dulceacuícola *Chlamydomonas reinhardtii* se expuso a 2 benzofenonas (BPs), BP-3 y BP-4, filtros UV habitualmente detectados en aguas continentales y oceánicas. Los objetivos fueron: (1) evaluar su citotoxicidad mediante una batería de biomarcadores, incluyendo marcadores de señalización celular (aumento del Ca<sup>2+</sup> libre), estrés oxidativo (peroxidación lipídica), proliferación celular (proliferación y actina F), muerte celular programada (actividad caspasa, fragmentación nuclear y autofagosomas) y mecanismos de resistencia a xenobióticos (bombas de extrusión), y (2) valorar el impacto global de cada BP mediante un índice de Respuesta Integrada de Biomarcadores (RIB) a partir de la información generada por los biomarcadores analizados. Todos los biomarcadores presentaron respuestas de diferente intensidad en función de la BP ensayada, siendo aquellos con mayor peso en el índice RIB los relacionados con el bloqueo de la proliferación y la inducción de muerte celular programada. Integrando la información de los biomarcadores para cada contaminante, este índice indica que la citotoxicidad producida en *C. reinhardtii* por la BP-3 es superior a la producida por la BP-4. En resumen, los índices RIB pueden convertirse en herramientas robustas para la evaluación sistemática de la susceptibilidad de organismos acuáticos a contaminantes utilizando múltiples biomarcadores.

Financing: CTM2017-88668-R

**Microbiología Medio Acuático**  
E-poster

**Papel de las sustancias exopoliméricas en la precipitación de barita en medios marinos**

**Fadwa Jroundi**<sup>1</sup>, María Teresa GONZALEZ-MUÑOZ<sup>1</sup>, Adina PAYTAN<sup>3</sup>, Francisca MARTINEZ-RUIZ<sup>2</sup>

(1) Universidad de Granada, Microbiología, Ciencias, Av Fuentenueva s/n, Granada, España

(2) Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra (CSIC- UGR), Granada, España

(3) Universidad de California Santa Cruz, Institute of Marine Sciences, Estados Unidos

El ciclo biogeoquímico del Bario está íntimamente relacionado con el ciclo del carbono. Este último incluye diversos reservorios, siendo el océano de especial importancia por ser la productividad marina el principal sumidero de CO<sub>2</sub>. Consecuentemente, conocer las variaciones en productividad es esencial para desvelar cual ha sido la respuesta oceánica al cambio global. En este sentido la barita (BaSO<sub>4</sub>) constituye un excelente indicador de productividad marina. Tanto en el registro sedimentario como en medios actuales, una alta concentración de Ba se asocia a una alta tasa de productividad biológica. Sin embargo, los mecanismos de precipitación del Ba en aguas oceánicas (generalmente subsaturadas en Ba) siguen siendo enigmáticos. Los resultados obtenidos del trabajo experimental sobre precipitación bacteriana de barita han permitido demostrar el papel de las bacterias y las sustancias exopoliméricas (EPS) en la precipitación de este mineral. Además, observaciones en medios naturales también han puesto de manifiesto la relación entre la actividad bacteriana y la barita. Esta se forma abundantemente en la zona mesopelágica a profundidades en las que se produce la mayor degradación de la materia orgánica. En esta comunicación se presentan los resultados del análisis detallado de esta barita, mediante microscopía electrónica, poniendo de manifiesto que se forma a partir de una fase precursora amorfa, rica en fosfato, que evoluciona a sulfato de Ba de mayor cristalinidad. Ello resulta de particular relevancia dada la relación del Ba con la reconstrucción de la productividad biológica pasada, la acumulación de materia orgánica y, en definitiva, con el ciclo del carbono

Financing: Proyecto PID2019-104624RB-I00 (Plan Nacional I+D+i), Proyecto P18-RT-3804 y Grupos RNM 179 y BIO 103 (Junta de Andalucía)

## Mejillones ¿reservorios de *Vibrio* spp.?

Arkaitz Almaraz Herce<sup>1</sup>, Beñat Zaldibar Aramburu<sup>2,3</sup>, María González Rivacoba<sup>1</sup>, Josu González Peña<sup>1</sup>, Ivan Laviada Pérez<sup>1</sup>, Enrique Ezcurra Zubizarreta<sup>1</sup>, Maite Orruño Beltrán<sup>1,3</sup>, **Inés Arana Basabe**<sup>1,3</sup>

(1) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Barrio Sarriena s/n, Leioa, España

(2) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Zoología y Biología Celular Animal, Facultad de Ciencia y Tecnología, Barrio Sarriena s/n, Leioa, España

(3) Research Centre for Experimental Marine Biology and Biotechnology (PIE-UPV/EHU), Areatza Hiribidea, 47, Plentzia, España

El género *Vibrio*, que incluye especies patógenas para humanos y animales marinos, prevalece en multitud de hábitats acuáticos caracterizados por factores bióticos y abióticos fluctuantes. En las últimas décadas ha aumentado la detección de cepas patógenas facultativas y la incidencia de enfermedades relacionadas con el uso de aguas contaminadas, y se atribuye a las alteraciones experimentadas en los océanos por efecto del cambio climático. *Vibrio* es capaz de colonizar animales marinos que actuarían como reservorios y vectores. Sería el caso de los bivalvos, invertebrados filtradores cuyo proceso de alimentación también atrapa bacterias. Hemos estudiado la capacidad de *V. harveyi* para colonizar *Mytilus galloprovincialis* utilizando una cepa de *V. harveyi* ATCC 14126T modificada para expresar la proteína GFP (*V. harveyi gfp*). Los mejillones, recogidos en el estuario de Butrón, se mantuvieron 6 días en tanques conteniendo agua de mar. Se transfirieron a botellas con 600 mL de agua de mar (previamente esterilizada) inoculada con una densidad final de 107 *V. harveyi gfp*/mL. Se introdujeron 6 mejillones por botella que se mantuvieron a 20 C, sin agitación y con aireación continua. Periódicamente, se recogieron muestras de agua y heces para análisis microbiológico y mejillones para análisis microbiológico e histológico. Los resultados obtenidos mostraron que: 1. *V. harveyi gfp* es una herramienta adecuada para este estudio. 2. *M. galloprovincialis*, ya en la primera media hora, acumulaba *V. harveyi* en gónada, branquia e intestino. Con el tiempo, la densidad bacteriana en los órganos disminuyó, sin llegar a la eliminación tras 5 días. Se detectó *Vibrio* en heces.

Financing: Grupos de Investigación de la UPV/EHU, Proyecto GIU17/41



## Efecto en la virulencia y la respuesta inmune del hospedador de sustituciones en el extremo 3' del RNA1 de betanodavirus

**Juan Gémez Mata**<sup>1</sup>, Alejandro Manuel Labella Vera<sup>1</sup>, Sandra Souto Pereira<sup>2</sup>, Maria Isabel Bandín Matos<sup>3</sup>, Juan Jose Borrego García<sup>1</sup>, Esther García Rosado<sup>1</sup>

(1) Universidad de Málaga, Instituto de Biotecnología y Desarrollo Azul, IBYDA, Microbiología, Ciencias, campus teatinos sn 29071, Málaga, España

(2) University Paris-Saclay, INRAE, UVSQ, VIM, Jouy-en-Josas, Francia

(3) Universidad de de Santiago de Compostela, Instituto de Acuicultura, Microbiología y Parasitología, Santiago de Compostela, España

El agente etiológico de la necrosis nerviosa viral (NNV) es el virus de la necrosis nerviosa (VNN), familia Nodaviridae, género Betanodavirus, cuyo genoma está compuesto por dos segmentos, RNA1 y RNA2. Los betanodavirus se clasifican en cuatro especies: SJNNV, TPNNV, RGNNV, y BFNNV. Además, se ha detectado la presencia de recombinantes como la cepa wt160 (RGNNV/SJNNV) aislada de lenguado (*Solea senegalensis*), que causa una mortalidad del 100% en esta especie. Este aislado presenta diferencias en la región 3' no codificante (NCR) en ambos segmentos cuando se compara con las cepas de referencia de cada especie. Para evaluar el efecto en la virulencia de las sustituciones encontradas en la región 3' NCR del RNA1 de wt160, se han desarrollado dos recombinantes con mutaciones en las posiciones 3073 y 3093, haciendo el RNA1 de los mismos similar a la cepa RGNNV de referencia. La infección producida por los recombinantes r3073 y r3093 disminuyó la mortalidad a 29,3% y 25,3%, respectivamente. El análisis de la respuesta inmune de lenguado frente a las infecciones por estos recombinantes se ha evaluado mediante un chip 112-OpenArray® (Gémez et al., 2020). Al comparar la expresión de genes expresados diferencialmente (DEG) tras la infección con los mutantes con la inducida por el virus salvaje, se han detectado un mayor número de genes expresados significativamente diferente a los 2 días post-inoculación (dpi), si bien a los 3 dpi el número total de DEG fue mayor tanto tras la infección con los mutantes como con el virus salvaje.

Financing: Estudio financiado por los proyectos AGL2014-54532-C2 and RTI2018-094687-B-C22, Ministerio de Ciencia e Innovación (MINECO/AEI/FEDER, UE).



## Polisacáridos de *Porphyridium cruentum* presentan actividad antiviral diferencial frente a infecciones causadas por VHSV y VNN

**Patricia Moreno García**<sup>1</sup>, Geovanna Parra Riofrio<sup>2</sup>, Roberto Abdala Díaz<sup>3</sup>, Esther García Rosado<sup>1</sup>, Eduardo Uribe Tapia<sup>2</sup>, M. Carmen Alonso Sánchez<sup>1</sup>, Julia Béjar Alvarado<sup>4</sup>

(1) Universidad de Málaga, Instituto de Biotecnología y Desarrollo Azul (IBYDA), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus Teatinos, sn 29071, Málaga, España

(2) Universidad Católica del Norte, Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

(3) Universidad de Málaga, Instituto de Biotecnología y Desarrollo Azul (IBYDA), Departamento de Ecología y Geología, Facultad de Ciencias, Campus Teatino sn 29071, Málaga, España

(4) Universidad de Málaga, Instituto de Biotecnología y Desarrollo Azul (IBYDA), Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, Facultad de Ciencias, Campus de Teatinos sn 29071, Málaga, España

Los microorganismos del medio marino constituyen una importante fuente de compuestos cuya utilización en la prevención y/o tratamiento de enfermedades de etiología viral está siendo sugerida en los últimos años. En concreto, diversos estudios demuestran que los polisacáridos de *Porphyridium cruentum* presentan funciones biológicas en mamíferos, entre ellas acción antiviral, siendo un buen candidato para analizar su posible papel frente a patologías víricas de peces cultivados. En este trabajo se ha evaluado la actividad de los polisacáridos de *P. cruentum* frente a la infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral (VHSV, genotipo I), y el virus de la necrosis nerviosa (VNN, genotipo RGNNV). El análisis se ha realizado in vitro mediante dos aproximaciones: (a) evaluando la capacidad de los polisacáridos de bloquear la unión virus-célula, y (b) su papel durante el proceso de replicación vírica. En cada ensayo se analizó la replicación viral mediante cuantificación de genoma vírico a diferentes tiempos post-inoculación (p.i.). Los resultados muestran actividad de los polisacáridos de *P. cruentum* frente a la infección por VHSV en ambas aproximaciones, observándose disminución significativa de genoma viral a las 24 y 36 h p.i. en las células tratadas con el polisacárido respecto a las no tratadas. Por el contrario, no se ha observado actividad frente a VNN, indicando que los polisacáridos de *P. cruentum* presentan actividad antiviral diferencial, dependiente del patógeno.

Financing: AGL2017-84644-R, Ministerio de Ciencia e Innovación (MINECO/AEI/FEDER, UE) y P18-RT-1067, Junta de Andalucía. G.P. beca ANID-PFCHA (2018- No. 21180059).

## Estudio de expresión de genes implicados en el carácter probiótico de *Shewanella putrefaciens* Pdp11 en distintas condiciones de cultivo

Alba Rincón Agüera<sup>1</sup>, **Olivia Pérez Gómez**<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Carmen Balebona<sup>1</sup>, Miguel Angel Moriñigo Gutierrez<sup>1</sup>, Pedro Seoane Zonjic<sup>2</sup>, Silvana Teresa Tapia Paniagua<sup>1</sup>

(1) Universidad de Málaga, Grupo de biocontrol y prevención de enfermedades en acuicultura, Departamento de Microbiología, Facultad de ciencias, Av Bulevar Luis Pasteur,31,29010, Málaga, España

(2) Universidad de Málaga, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de ciencias, Av Bulevar Luis Pasteur,31,29010, Málaga, España

*Shewanella putrefaciens* Pdp11 es una cepa descrita como probiótica para especies cultivadas como *Solea senegalensis* y *Sparus aurata*. Entre sus propiedades están los efectos inhibitorios frente a patógenos, mejora de la fisiología del animal, mejor composición corporal, microbiota intestinal, entre otras. Su genoma se secuenció y se comparó con el genoma de otras bacterias patógenas de su misma especie. Se determinaron 15 genes presentes sólo en su genoma y ausentes en las otras cepas. Estos genes estaban implicados en la síntesis de proteínas relacionadas con posibles características probióticas como la resistencia a bilis, colonización y mecanismos de regulación. Los resultados obtenidos presentaron un crecimiento más favorable de *S. putrefaciens* Pdp11 en distintas condiciones de ensayo, como a pH básico, medio rico en nutrientes y a 15°C de temperatura de cultivo. Asimismo, el cultivo de *S. putrefaciens* Pdp11 en un medio rico en nutrientes y suplementado con una dieta comercial, fomentan la expresión de genes relacionados con la colonización, la resistencia a bilis y la regulación.

Financing: AGL2017-83370-C3-3-R

## Efecto de la temperatura y/o la salinidad en la supervivencia de 2 especies de *Vibrio*

Elixabet Ogayar Sandoval<sup>1</sup>, Arkaitz Almaraz Herce<sup>1</sup>, Maite Orruño Beltrán<sup>1,2</sup>, **Inés Arana Basabe**<sup>1,2</sup>

(1) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Barrio Sarriena s/n, Leioa, España

(2) Research Centre for Experimental Marine Biology and Biotechnology (PIE-UPV/EHU), Areatza Hiribidea, 47, Plentzia, España

*Vibrio* se encuentra en ambientes acuáticos diversos, sedimentos y/o asociado a organismos en todo el mundo, aunque se ha indicado que las condiciones más favorables para su detección son ambientes cálidos (>18 C) con una salinidad baja (<25‰NaCl). Por tanto, los cambios derivados del calentamiento global supondrían una ventaja para su multiplicación. En este trabajo se ha estudiado el efecto combinado de temperatura y salinidad, en condiciones de escasez o ausencia de nutrientes, en la supervivencia de *V. harveyi* CECT 525 y de 2 aislados ambientales (*V. harveyi* y *V. cyclitrophicus*). Para ello, se inoculó agua de mar estéril, natural o artificial diluida, con aprox. 108 vibrios/mL y se incubaron, en las condiciones seleccionadas, en oscuridad y con agitación. Las temperaturas de incubación se seleccionaron considerando que 12 C y 20 C corresponden a las temperaturas medias de las aguas costeras en la CAPV en época fría y cálida, respectivamente; y 30 C representaría el posible escenario extremo debido al calentamiento global. Las salinidades corresponden a agua dulce o continental (0,5‰), aguas de transición (15‰), agua de mar mesohalina (30‰) y agua de mar polihalina (35,5‰); así como la salinidad del agua de mar natural (37‰). Se determinaron las densidades de *Vibrio* totales, viables y cultivables y la longitud celular media. En este trabajo se encontraron diferencias en los patrones de supervivencia entre cepas ambiental y de colección y entre las especies ambientales por efecto de la temperatura, la salinidad o la combinación ambos factores.

Financing: Proyectos CGL2015-70929-R (MINECO) y GIU17/41 (UPV/EHU) y beca predoctoral PIF15/101 a E.O. (UPV/EHU)

### Efecto del triclosán en la aparición de resistencia cruzada

Borja Fernández Retuerto<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Blanca Sánchez<sup>1</sup>

(1) IMDEA Agua, Parque Científico Tecnológico de la Universidad de Alcalá. Avenida Punto Com, 2, 28805, Alcalá de Henares, España

Durante mucho tiempo no se ha considerado un riesgo para la salud la presencia en el medio ambiente de bajas concentraciones de diferentes compuestos, como los antibióticos y los biocidas. Sin embargo, se ha observado, en el caso de los antibióticos, que la presencia de bajas concentraciones puede seleccionar microorganismos resistentes. En el caso de los biocidas, apenas hay estudios sobre su efecto en la aparición de resistencia. En este trabajo se ha estudiado el efecto de la exposición a un biocida, el triclosán, que se encuentra en diferentes productos de uso habitual, como jabones, cremas, colutorios, etc y que puede llegar al medio ambiente en bajas concentraciones, sobre la adquisición de resistencia no solo a este biocida, sino a otros biocidas y diferentes antibióticos, lo que se conoce como resistencia cruzada. Para ello se ha usado una cepa modelo de *Escherichia coli*, microorganismo presente de forma natural en el medio ambiente. Se observó que la presencia de triclosán en bajas concentraciones, por debajo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del microorganismo, o no tuvo ningún efecto o solo se seleccionaron resistentes de bajo nivel, a diferencia de cuando se expuso a altas concentraciones, donde se observaron niveles altos de resistencia a triclosán, en comparación con la cepa original. En ambas situaciones, la presencia de triclosán no produjo la aparición de resistentes a otros biocidas o antibióticos, sugiriendo que la aparición de resistencia a este biocida puede ser algo específico.

Financing: Financiado por la Consejería de Educación, Juventud y Deporte de la Comunidad de Madrid y por el Fondo Social Europeo

## Identificación de proteínas de membrana externa y extracelulares relacionadas con la virulencia en *Tenacibaculum maritimum*

**M. Pilar Escribano**<sup>1</sup>, Miguel Balado<sup>1</sup>, Manuel L. Lemos<sup>1</sup>, Beatriz Magariños<sup>1</sup>

(1) Universidade de Santiago de Compostela, Microbiología y parasitología, Biología/Instituto de Acuicultura, Santiago de Compostela 15782, Santiago de Compostela, España

*Tenacibaculum maritimum*, agente causante de la tenacibaculosis marina, afecta a gran variedad de peces a nivel mundial. En los Bacteroidetes, el T9SS, los sistemas de asimilación de hierro, la adhesión a superficies hidrófobas o los productos extracelulares son importantes factores de virulencia. Tras el análisis del genoma completo de *T. maritimum* se encontraron los componentes del T9SS, las proteínas de la maquinaria deslizante (Gliding motility) y un grupo de genes que parece estar involucrado en la síntesis de bisucaberina, un sideróforo tipo hidroxamato, y al menos 13 genes que codificarían transportadores dependientes de TonB (TBDT). En el presente trabajo hemos analizado la presencia de los productos de todos estos genes mediante un enfoque proteómico. Las proteínas de membrana externa reguladas por hierro se identificaron comparando cultivos en condiciones de restricción y exceso de este separándolas mediante SDS-PAGE. Las bandas obtenidas se identificaron mediante MALDI-TOF (LC MSMS). Los resultados indican que todos los TBDT candidatos se expresaron en condiciones restrictivas de hierro, confiriendo posiblemente a *T. maritimum* la capacidad de utilizar varios sideróforos distintos. Además, se analizaron los productos extracelulares mediante UPLC-QTOF-MS encontrando un total de 140 proteínas, entre ellas varias de las posibles proteínas que forman parte de la maquinaria de adhesión y T9SS (4 liproteínas Gld, 3 adhesinas, 6 peptidasas, 2 superóxido dismutasas, 3 nucleasas y 1 lectina). Estos datos preliminares sugieren que tanto los TBDT identificados como el sistema T9SS podrían tener un papel fundamental en la virulencia de *T. maritimum* y en el desarrollo de la tenacibaculosis.

Financing: Este trabajo fue apoyado por RTI2018-093634-B-C21/C22 (AEI / FEDER, UE), Programa FEDER (Unión Europea) y GRC2018/018 (Xunta de Galicia)

### Análisis de la expresión de inmunogenes en doradas vacunadas en respuesta a la infección por LCDV-Sa

**Rocío Leiva-Rebollo**<sup>1</sup>, Juan Gémez-Mata<sup>1</sup>, Dolores Castro<sup>1</sup>, Juan J. Borrego<sup>1</sup>, Alejandro M. Labella<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Málaga, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus de Teatinos s/n, Boulevard Louis Pasteur, Málaga, España

El objetivo del presente estudio ha sido evaluar la respuesta inmune frente a la infección por Lymphocystis Disease Virus 3 (LCDV-Sa) en ejemplares de dorada (*Sparus aurata*) vacunados con un plásmido que codifica la proteína principal de la cápside del virus, con el fin de identificar inmunogenes relacionados con la protección inducida por la vacuna. Se utilizaron juveniles de dorada inyectados intramuscularmente con la vacuna (grupo vacunado) o el plásmido vacío (grupo placebo), así como con PBS (dos grupos). A los 30 d post-vacunación, los peces se inocularon con un aislado de LCDV-Sa (106 TCID<sub>50</sub>/pez), excepto uno de los grupos originalmente inyectado con PBS que se mantuvo como control no-infectado. Se tomaron muestras de riñón cefálico a los 1 y 3 d post-infección (dpi) (6 peces por tiempo) y se realizó un análisis de la expresión relativa de 49 inmunogenes de dorada utilizando la plataforma OpenArray®, basada en qPCR con sondas TaqMan, usando las muestras del control no-infectado como calibrador. Los resultados mostraron una mayor expresión diferencial de inmunogenes en los peces vacunados en comparación a los peces que recibieron el plásmido vacío o a los no vacunados. En todos los grupos experimentales se observó una sub-regulación génica a 1 dpi, que cambió a sobre-regulación a los 3 dpi. Además, en los peces vacunados se observó la estimulación temprana de la expresión del gen activador de recombinación (*rag1*) y una sobre-regulación tardía de *mx1* y *mx2*.

Financing: Proyecto P12-RNM-2261 (Junta de Andalucía)



## Análisis retrospectivo sobre los niveles de bacterias totales y Legionella detectados en torres de refrigeración

**Marta Sanchis Talón**<sup>1,2</sup>, María José Figueras Salvat<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Rovira i Virgili, Ciències Mèdiques Bàsiques, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, C/ Sant Llorenç, 21, Reus, Espanya

(2) Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV), Reus, Espanya

La neumonía denominada legionelosis se origina por la inhalación o microaspiración de aerosoles contaminados con Legionella pneumophila generados a partir de torres de refrigeración (TR), duchas u otros equipamientos. Según la legislación española (RD 865/2003) debe realizarse un análisis mensual de TR para la determinación de bacterias aerobias totales (BAT) y uno trimestral para la determinación de Legionella spp. (Lp). Si los resultados indican concentraciones  $>10.000$  ufc/mL y  $>100$  ufc/L, respectivamente es necesario realizar un análisis de Lp y acciones correctoras. Este estudio pretende determinar si el límite de  $10.000$  ufc/mL BAT es el adecuado para predecir presencia de Lp, realizando una evaluación retrospectiva de recuentos de BAT y de Lp obtenidos a partir de 1376 muestras de TR. Solo 238 (17.3%) fueron positivas para Lp (PL) y BAT, con una concentración (media geométrica, MG) de 177 ufc/L, y 135 ufc/mL, respectivamente. La MG de BAT en las muestras Lp negativas (NL) fue significativamente menor (83 ufc/mL,  $p < 0.05$ ) que en las muestras PL. En general se observó que cuando la concentración de BAT aumenta el número de las PL también aumenta de forma lineal. Sin embargo, solo el 10.7% de las PL se asociaron a concentraciones de BAT  $>10.000$  ufc/mL. La mayoría de las PL (87.5%) presentaban niveles de BAT  $\leq 100$  ufc/mL y mostraron concentraciones de Lp  $\leq 100$  ufc/L (50.0%) y  $< 1.000$  ufc/L (37.5%). Estos resultados sugieren que concentraciones de BAT  $\leq 100$  ufc/mL predicen mejor la presencia de Lp que el valor de  $>10.000$  ufc/mL incluido en la legislación vigente.



## Estudio del estado fisiológico de la comunidad bacteriana del biofilm en lagunas hipersalinas mediante el análisis de biomarcadores lipídicos

**Ariadna Vidal**<sup>1</sup>, Robert Benaiges-Fernandez<sup>1</sup>, Manuel Vieitez<sup>1</sup>, M. Mercedes Berlanga<sup>2</sup>, Andrea Butturini<sup>3</sup>, Jordi Urmeneta<sup>4</sup>

(1) Universitat de Barcelona, Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Diagonal, 643, Barcelona, España

(2) Universitat de Barcelona, Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient, Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio), Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Joan XXIII, 27-31, Barcelona, España

(3) Universitat de Barcelona, Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals, Facultat de Biologia, Diagonal, 643, Barcelona, España

(4) Universitat de Barcelona, Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio), Facultat de Biologia, Diagonal, 643, Barcelona, España

El desierto de Los Monegros destaca por sus lagunas endorreicas hipersalinas, interesantes desde el punto de vista microbiológico por la presencia de tapetes microbianos adaptados a condiciones de salinidad extrema. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el estado fisiológico de las comunidades del biofilm de la laguna de La Muerte (Bujaraloz, Zaragoza) a medida que se produce la desecación, mediante el uso de biomarcadores lipídicos. La caracterización del perfil lipídico de las muestras de tapetes microbianos permite evaluar las características de la comunidad con un método independiente de cultivo. A partir de muestras de sedimento, se han analizado los FAME's (Fatty Acid Methyl Ester) como indicadores de la biomasa microbiana viable, el estado fisiológico de las poblaciones, y la composición de la comunidad, para poder evaluar los cambios de las comunidades sometidas a la desecación. Los resultados no muestran estrés metabólico (ratio PLFAs trans/cis) en muestras superficiales, con valores inferiores a 0.05, mientras que en profundidad estos valores aumentan ligeramente con la desecación, oscilando entre 0.03 y 0.14. En cambio, sí se detecta que las poblaciones ralentizan su crecimiento (ratio ciclo/w7c) a medida que se produce el secado, con valores superiores a 1 en todas las muestras excepto en las superficiales de la época húmeda, que muestran un crecimiento moderadamente activo. En conclusión, todo parece indicar que la elevada salinidad no produce estrés metabólico a estas comunidades bacterianas, pero sí afecta a su velocidad de crecimiento a medida que disminuye la disponibilidad de agua.

Financing: Proyecto "Impacto de la sequía en sistemas acuáticos salinos extremos" (RTI2018-097950-B-C21) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCIUN)

## Evidencias de intercambio genético y generación de brotes de *Vibrio vulnificus* en piscifactorias

**Héctor Carmona-Salido**<sup>1,2</sup>, Belén Fouz Rodríguez<sup>1,2</sup>, Eva Sanjuán Caro<sup>1,2</sup>, Fernando González Candelas<sup>3,4</sup>, Carmen Amaro<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Valencia, Microbiología y Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Carrer del Dr. Moliner, 50, Burjassot, España

(2) Instituto Universitario de Biotecnología y Biomedicina (Universidad de Valencia), Facultad de Ciencias Biológicas, Carrer del Dr. Moliner, 50, Burjassot, España

(3) Unidad Mixta en Infección y Salud Pública (UV-FISABIO), Valencia, España

(4) Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I2SysBio), C/ Catedrático José Beltrán, 2, Paterna, España

*Vibrio vulnificus* es una bacteria cuyo habitat son los ambientes cálidos y ligeramente salinos, como los estuarinos y los marinos. Recientes estudios han demostrado que se está expandiendo a zonas que tradicionalmente eran más frías; por lo que se ha propuesto como un barómetro de cambio climático. Es además un patógeno capaz de infectar tanto a animales como a humanos, por lo que tiene un potencial zoonótico de importancia. De hecho, se han registrado casos de importancia ligados a piscifactorias que se localizan en el Norte de África, donde se dan las condiciones óptimas para crecer. Un estudio genómico llevado a cabo en 2018 clasifica la especie en 5 linajes y una patovariedad con capacidad de infectar a peces. Dicha capacidad viene dada por la presencia de un plásmido (pFv) que contiene información genética de dos genes que confieren resistencia al sistema inmunitario del pez y una toxina (RTX) ampliamente estudiada y caracterizada en varias especies del género *Vibrio*. En este trabajo, se muestran los resultados de un estudio genómico de diferentes cepas en el que se muestran diferentes pruebas, como el intercambio de pFv, que estarían siendo favorecidas por el ambiente en piscifactorias. Así, actualmente se ha visto que existen cepas con potencial zoonótico extendidas en 4 de los 5 linajes descritos en la especie.

Financing: Proyectos AGL2017-87723-P del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades más fondos FEDER y AICO/2020/076 de la Generalitat Valenciana.

## Estudio comparativo de la estequiometría de nutrientes NP en microorganismos heterótrofos y autótrofos

**M. Martín-Cereceda**<sup>1</sup>, A. de Cos-Gandoy<sup>2</sup>, A. Sánchez-Jiménez<sup>2</sup>, B. Pérez-Uz<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, CC. Biológicas, José Antonio Novais nº 2, Madrid 28040, España

(2) Universidad COmplutense de Madrid, Biodiversidad, Ecología y Evolución, CC. Biológicas, José Antonio Novais nº 2, Madrid 28040, España

El objetivo de este estudio es realizar un meta-análisis comparativo de cocientes de N:P, índice de homeostasis (H) y evaluación de la Growth Rate Hypothesis (GRH; Sterner and Elser 2002) en microorganismos autótrofos y heterótrofos. Para ello, se ha desarrollado una base de datos que recopila datos bibliográficos, así como otros adicionales que incluyen valores experimentales propios. Se han incluido aproximadamente 50 artículos de investigación independientes con información cuantitativa del aporte N:P del medio de cultivo, el contenido N:P intracelular y las tasas de crecimiento de microorganismos pertenecientes al Dominio Bacteria (cianobacterias y bacterias heterótrofas) y al Dominio Eukarya (algas incluidas en 7 grupos taxonómicos de Protistas fotoautótrofos). Los resultados obtenidos hasta el momento permiten concluir: a) Ninguna bacteria heterótrofa estudiada muestra plasticidad estricta en su contenido N:P. El patrón más común es la existencia de un gradiente de homeostasis; b) Los microorganismos fotosintéticos presentan mayor grado de plasticidad. Sin embargo, la perfecta flexibilidad en la composición química de las algas, representada tradicionalmente por *Scenedesmus* (Rhee 1978), no es la pauta general observada en los representantes microbianos fotótrofos analizados; c) La tasa de crecimiento ( $\mu$ ) está inversamente relacionada con el balance celular de N:P en fotótrofos cuando los cocientes NP del medio de cultivo son altos ( $N:P > 100$ ). Los resultados se discutirán en el contexto de los principios estequiométricos del fitoplancton y la actual teoría ecológica estequiométrica.

## Análisis de profagos de cepas bacterianas del coral blando *Alcyonium spp* y agua de mar

Irene Moscardó<sup>1</sup>, Lorena Rodríguez-Rubio<sup>1</sup>, Paula de Castro Fernández<sup>1,2</sup>, Conxita Avila<sup>2</sup>, **Elisenda Ballesté<sup>1</sup>**

(1) Universitat de Barcelona, Dept. de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Av. Diagonal 643, Barcelona.

(2) Universidad de Barcelona, Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals, Facultat de Biologia, Av/ Diagonal 643, Barcelona

Los corales son organismos sésiles que presentan microorganismos simbioses conformando lo que se denomina el holobionte. Los simbioses presentan un papel relevante tanto proporcionando capacidades metabólicas beneficiosas como actuando como una barrera de protección de posibles patógenos. Se ha observado que un 60% de bacterias marinas son lisógenos. Es decir, mantienen un fago temperado integrado en su cromosoma que puede inducirse con la activación de la respuesta SOS al sufrir un estrés. Esta inducción provoca la lisis de las bacterias hospedadoras desestabilizando la comunidad bacteriana del holobionte, afectando a la salud del organismo. En este estudio hemos analizado 50 cepas bacterianas aisladas en la Isla Livingston, Antártida (30 cepas de 3 individuos de *Alcyonium haddoni* y 20 del agua) y 50 cepas aisladas en el Mediterráneo, Blanes, Gerona (30 cepas de 3 individuos de *A. acaule* y 20 del agua). Las cepas fueron identificadas con la secuenciación del gen del 16S ARNr. Se analizó la presencia de posibles lisógenos mediante el uso de mitomicina C que activa la respuesta SOS y desencadena la inducción de profagos que salen al exterior provocando la lisis de las células bacterianas. Se consideraron posibles lisógenos cuando se detectó una diferencia en la DO600 de 0.3 entre el control y la cepa inducida. Así, se obtuvo que un 50% de las cepas antárticas y un 60% de las mediterráneas eran posibles lisógenos. Se purificaron los fagos inducidos de 3 cepas mediante gradiente con CsCl y se observó su morfología mediante microscopía electrónica de transmisión.

Financing: Presiones humanas y riesgos naturales: retos en el bentos marino antártico. Ref. PID2019-107979RB-I00. Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

### Estudio de la colonización de pellets ambientales de plástico por bacterias marinas y *E. coli*

Sara Domínguez-Llata<sup>1</sup>, Cristina García-Aljaro<sup>1</sup>, Anna Sanchez-Vidal<sup>2</sup>, **Elisenda Ballesté**<sup>1</sup>

(1) Universitat de Barcelona, Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia., Av/ Diagonal 643, Barcelona

(2) Universitat de Barcelona, Departament de Dinàmica de la Terra i de l'Oceà, Ciències de la Terra, Martí i Franquès, s/n, Barcelona

Los microplásticos se detectan en todos los confines del planeta, generando una preocupación global. Son colonizados rápidamente por microorganismos formando un biofilm que puede incluir patógenos cuando su fuente es por ejemplo una EDAR. Por lo tanto, los microplásticos acaban funcionando como agentes flotantes capaces de diseminar especies más allá de su hábitat siendo un potencial riesgo. En este estudio hemos realizado tres mesocosmos para estudiar la colonización bacteriana de una mezcla de pellets de plástico (80% polietileno y 20% polipropileno) entre 2-5mm obtenidos en una playa. Los pellets se incubaron en 20L de agua de mar con una concentración inicial de  $\sim 10^6$  bacterias/ml y se añadió 104 ufc/ml de una mezcla de 3 cepas de *E. coli* aisladas de agua residual. Se mantuvieron a 18°C con aireación y circulación del agua. Se recogieron MPs a distintos tiempos: 1, 2, 5, 12, 19 y 26 días. Observamos la formación del biofilm mediante microscopia electrónica de escaneo. Después de 1-2 días de incubación se observaron bacterias aisladas adheridas, y a los 5 días se observó el biofilm ya formado. Se han cuantificado las bacterias totales tras la tinción con DAPI, cuantificado el gen de 16S ARNr mediante qPCR y bacterias cultivables en agar marino llegando a una concentración de unas  $10^6$  células, cg y ufc por pellet a los 12 días, manteniéndose o incrementando levemente hasta los 26 días. Se detectó *E. coli* en Chromocult en el MP el día 1 y hasta el día 5 en un caso ( $\sim 2 \cdot 10^2$  ufc/pellet).

Financing: Microplásticos como caballo de Troya de patógenos y resistencias antimicrobianas. Ref. PID2019-108957GA-I00. Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

## Impact of sewer overflows on the dynamics of antibiotic resistance genes in the Têt river (Cerdanya-Rosselló, France)

**Anna Pico Tomàs**<sup>1,2</sup>, Alexandre Sànchez-Melsió<sup>1,2</sup>, Mégane Noyer<sup>3,4</sup>, José Luís Balcázar<sup>1,2</sup>, Carles M. Borrego<sup>1,5</sup>, Carmen Palacios<sup>3,4</sup>

(1) Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA), C/ Emili Grahit, 101, 17003 Girona, Espanya

(2) Universitat de Girona (UdG), Facultat de ciències, C/ Maria Aurèlia Capmany, 69, 17071 Girona, Espanya

(3) Université Perpignan Via Domitia (UPVD), CEFREM, UMR5110, CEFREM, UMR5110, Avenue Paul Alduy, 52, 66860 Perpignan, France

(4) CNRS, CEFREM, UMR5110, Avenue Paul Alduy, 52, 66860 Perpignan, France

(5) Universitat de Girona (UdG), Grup d'Ecologia Microbiana Molecular, Institut d'Ecologia Aquàtica, C/ Maria Aurèlia Capmany, 69, 17071 Girona, Espanya

El Têt es un río costero típico del mediterráneo que nace en los Pirineos Orientales (Francia) y está afectado principalmente por actividades agrícolas y urbanas. Su localización geográfica impone un régimen hidrológico caracterizado por largos periodos de sequía y por lluvias estacionales cortas pero intensas, que causan a menudo el desbordamiento de colectores de agua residual (CAR). Estos desbordamientos conllevan la entrada en el curso fluvial de microorganismos del agua residual, muchos de ellos resistentes a antibióticos. Nuestro objetivo ha sido el de evaluar el impacto de los CAR sobre la abundancia de genes de resistencia a antibióticos (ARG, i.e. *sul1*, *ermB*, *tetM*, *qnrS*, *blaKPC*, *blaOXA-48* y *mcr1*) y del integrón de clase I (*int11*) a través de muestreos antes y durante el desbordamiento durante dos episodios de inundación en 2015 y 2017. Aunque los resultados demostraron que la abundancia relativa de ARG (normalizada con respecto al 16S rRNA) fue variable y dependiente del gen analizado, los CAR causaron una entrada importante de resistencias a antibióticos en el río, ya que la abundancia de cada gen durante el desbordamiento fue mayor que su nivel basal antes de éste. Aunque en nuestro estudio la entrada de genes de resistencia fue diluida posteriormente por el aumento de caudal del río debido a las precipitaciones intensas, debe tenerse en cuenta que los CAR no siempre van acompañados de un aumento del caudal con lo que su impacto en la diseminación de las resistencias a antibióticos en el ecosistema fluvial merece una especial atención.



### Diversidad y estructura de las comunidades bacterianas en procesos de potabilización por metabarcoding del gen 16S rRNA

**Anna Pinar-Méndez**<sup>1,3</sup>, Belén Galofré<sup>1</sup>, Owen S. Wangensteen<sup>2</sup>, Anicet R. Blanch<sup>3</sup>, Cristina García-Aljaro<sup>3</sup>

(1) Aigües de Barcelona, Empresa Metropolitana de Gestió del Cicle Integral de l'Aigua, General Batet, 1-7, 08028 Barcelona, España

(2) UiT The Arctic University of Norway, Norwegian College of Fishery Science, Tromsø, Norway

(3) Universitat de Barcelona, Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística. Secció Microbiologia, Virologia i Biotecnologia, Facultat de Biologia, Diagonal, 643, 08028 Barcelona, España

El conocimiento de las comunidades bacterianas presentes en las estaciones de tratamiento de agua potable (ETAP) es de gran utilidad para anticipar posibles incidencias en el funcionamiento de la planta. En este estudio se monitorizaron las comunidades bacterianas presentes en una ETAP de tratamiento avanzado en Barcelona mediante secuenciación masiva del gen 16S rRNA (v4). En esta ETAP el agua superficial de río se preoxida con dióxido de cloro y se decanta. A continuación, se realiza una filtración con arena y justo después hay una entrada de agua subterránea. A partir de ahí el proceso sigue dos líneas: 1) ozonización y filtración por carbón activado granular; 2) ultrafiltración, ósmosis inversa y remineralización. Las dos líneas convergen en una cámara de mezcla antes de ser clorada e impulsada a la red de distribución. Se realizaron un total de 8 muestreos en 9 etapas del proceso de tratamiento (72 muestras). Se obtuvieron más de 25 millones de secuencias que se agruparon en un total de 10190 SV. Los resultados mostraron Proteobacteria y Bacteroidota como los filos dominantes en el agua de río, así como a lo largo de todo el proceso hasta la cloración final, momento en el que pasaron a dominar Cyanobacteria seguido de Proteobacteria. En el agua subterránea se detectó una mayor variedad de filos. En relación con la diversidad de especies, las muestras más diversas se correspondieron con el agua de entrada (río y agua subterránea), el filtro de carbono, así como también la cámara de mezcla.

Financing: Pla de Doctorats Industrials de la Generalitat de Catalunya (2016 DI083) e Institut de Recerca de l'Aigua (IdRA)

## Composición de la comunidad bacteriana de esponjas y corales blandos y efecto del calentamiento del agua de mar

**Paula de Castro-Fernández**<sup>1</sup>, Elisenda Ballesté<sup>2</sup>, Conxita Avila<sup>1</sup>, Cristina García-Aljaro<sup>2</sup>

(1) Universidad de Barcelona, Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales IRBio, Facultad de Biología, Av. Diagonal, 643, 08028, Barcelona, España

(2) Universidad de Barcelona, Departamento de Genética, Microbiología y Estadística, Facultad de Biología, Av. Diagonal, 643, 08028, Barcelona, España

La comunidad microbiana de esponjas (Porifera) y corales blandos (Cnidaria) juega un papel fundamental en prácticamente todos los aspectos de la forma, función y fitness del huésped. En este estudio se ha caracterizado la comunidad bacteriana mediante metabarcoding del gen 16S ARNr de esponjas y corales de 3 climas diferentes: templado (Mediterráneo; *Agelas oroides*, *Alcyonium acaule*), tropical (Guam; *Acanthella cavernosa*, *Sinularia* sp.) y polar (Antártida; *Mycale acerata*/*Dendrilla antarctica*, *Alcyonium haddoni*). Así mismo, se han realizado mesocosmos con el fin de evaluar el efecto del calentamiento del agua en las comunidades microbianas de estos en acuarios mantenidos a diferentes temperaturas y tiempos (Mediterráneo: 15, 20, 25°C, 2 semanas; Guam: 29, 32, 33 °C, 1 semana; Antártida: 0, 5, 10 °C, 4 semanas). Para cada especie, se extrajo ADN del tejido de 5 individuos y paralelamente, se filtró agua del mar y de los acuarios recogida junto a las muestras. En general, en los invertebrados predominan los filo Proteobacteria y Bacteroidota, y en algunos casos Chloroflexi o Cyanobacteria. En el agua de mar hay menos diversidad y las Proteobacteria son más abundantes, dominando la clase Gammaproteobacteria. En los animales, la abundancia de Alfa- y Gammaproteobacterias es similar. Además, presentan filo apenas presentes en el agua, como Planctomycetota, Cyanobacteria, Patescibacteria o Chloroflexi. La exposición a una temperatura del agua superior a la ambiental provocó una disminución de Bacteroidota en todas las especies y un aumento de Firmicutes, Campylobacterota y Cyanobacteria en algunos casos, aumentando las Gammaproteobacterias tras la exposición a la máxima temperatura.

Financing: Este estudio fue financiado por el proyecto de investigación BLUEBIO (CGL2016-78901/ANT).

**Microbiología Industrial**  
**Presentación Oral**

**Bacterias Magnetotácticas como Agentes de Hipertermia Magnética**

**Lucía Gandarias**<sup>1</sup>, David Gandia<sup>2</sup>, Ana García Prieto<sup>3</sup>, Alfredo García Arribas<sup>2,4</sup>, Alicia Muela<sup>1</sup>, María Luisa Fernández Gubieda<sup>2,4</sup>

(1) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Inmunología, Microbiología y Parasitología, 48940, Leioa, España

(2) Basque Center for Materials Applications and Nanostructures (BCMaterials), 48940, Leioa, España

(3) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Física Aplicada, 48013, Bilbao, España

(4) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Electricidad y Electrónica, 48940, Leioa, España

Según la OMS el cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo, lo cual hace necesario explorar nuevas posibles terapias. Cada vez son más los que estudian el potencial de ciertas bacterias como nanorobots para combatir enfermedades ya que poseen características, como su capacidad de autopropulsarse y de nadar respondiendo a estímulos externos, que las hacen ideales para este fin. Entre estos microorganismos, las bacterias magnetotácticas presentan una gran ventaja: su capacidad para sintetizar nanopartículas magnéticas (magnetosomas) que les confieren la posibilidad tanto de ser detectadas y guiadas fácilmente utilizando campos magnéticos externos, como de poder utilizarse como agentes terapéuticos en tratamientos de hipertermia magnética. En este trabajo presentamos la eficacia de *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 en un estudio de hipertermia magnética realizado in vitro con células A549 de carcinoma pulmonar. Primero, se ha estudiado la interacción entre células cancerosas y bacterias MSR-1 y la ruta de endocitosis utilizada para internalizarlas. Después, se ha comprobado que las bacterias MSR-1 no causan un efecto citotóxico sobre las células para por último realizar un ensayo de hipertermia magnética aplicando un campo alterno. Nuestros resultados son prometedores ya que hemos observado que las células A549 internalizan de manera activa las bacterias MSR-1 sin que ello les cause un efecto citotóxico. Además, hemos comprobado que la hipertermia magnética con MSR-1 es efectiva ya que causa un detrimento de la viabilidad celular y afecta a la capacidad de réplica de las células cancerosas [1]. [1] Gandia D, Gandarias L, et al. *Small* 15 (2019) 1902626.

## Desarrollo de un consorcio sintético *Synechococcus elongatus*-*Azohydromonas lata* para la producción de bioplásticos a partir de luz y CO<sub>2</sub>

**Sara Baldanta Callejo**<sup>1</sup>, Loreine Agulló<sup>1</sup>, Belén Fernández<sup>1</sup>, Igor Martínez<sup>2</sup>, Juan Nogales<sup>2</sup>, Jose Luis García<sup>1</sup>, Beatriz Galán<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas - CSIC, Biotecnología Microbiana y de Plantas, C/ Ramiro de Maetzu 9, Madrid, Esapaña

(2) Centro Nacional de Biotecnología - CISC, Biología de sistemas, C/ Darwin 3, Madrid, España

Actualmente, las cianobacterias están atrayendo gran atención en aplicaciones biotecnológicas como la producción de bioplásticos debido a que los requisitos para su crecimiento son mínimos. No obstante, su uso implica la optimización genética del metabolismo para lograr la sobreproducción del compuesto de interés. Además, un enfoque de monocultivo generalmente requiere una extensa investigación y desarrollo para optimizar cada cepa. Por todo ello, los estudios biotecnológicos más recientes apuntan al uso de consorcios microbianos sintéticos como una estrategia más eficaz para resolver biotransformaciones complejas. En este trabajo, se ha desarrollado un consorcio impulsado por la luz y CO<sub>2</sub> formado por la cianobacteria *Synechococcus elongatus* y la bacteria heterotófica *Azohydromonas lata* para producir bioplásticos. En nuestro consorcio sintético, la cianobacteria *Synechococcus elongatus* SBG363 se utilizó para producir sacarosa a partir de CO<sub>2</sub> y luz solar. La sacarosa se secreta al medio de cultivo y permite el crecimiento de *A. lata*, que acumula PHA. Previo al co-cultivo, optimizamos las condiciones de crecimiento y producción de bioplásticos por *A. lata* en el medio de cianobacterias BG11, utilizando diferentes concentraciones de sacarosa. Descubrimos que un medio con mayor concentración de fosfato era suficiente para un crecimiento robusto y una buena producción de PHA. Nuestros resultados indican una buena compatibilidad de los miembros del consorcio en el mismo medio de cultivo, mostrando que el consorcio sintético *S. elongatus* - *A. lata* es una herramienta prometedora para la bioproducción de compuestos de interés a partir de CO<sub>2</sub>.

Financing: ALGATEC-CM (P2018/BAA-4532)

### **Ferrocinas, un nuevo antibiótico frente a las bacterias multirresistentes: Biosíntesis y Bioactividad.**

**Carolina Cano Prieto<sup>1</sup>**, Harald Gross<sup>1</sup>

(1) Universidad de Tübingen, Departamento de Biología farmacéutica, Facultad de Matemáticas y Ciencias Naturales, Auf der Morgenstelle 8, Tübingen, Alemania

Las bacterias resistentes a múltiples antibióticos son un grave problema de la salud pública requiriendo una urgente necesidad de nuevos fármacos. Aquí presentamos a las ferrocinas como candidato a nuevos tratamientos. Ferrocina A y sus tres congéneres son lipodecapéptidos producidos por *Pseudomonas fluorescens* YK-310. Esta familia de péptidos no-ribosomales (NRP) fueron descritos por primera vez hace treinta años y ya mostraban un gran potencial frente a las bacterias Gram negativas del panel ESKAPE, especialmente frente a la bacteria nosocomial *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, su ridículo nivel de producción (2'1 gramos por cada 1.300 litros de cultivo) ha hecho inviable su desarrollo biotecnológico y farmacéutico. Por ello, nuestra investigación se ha centrado en la caracterización del agrupamiento génico biosintético (BGC) y su regulación para una mejora de la producción. BGC consta de seis genes estructurales de los cuales cuatro codifican para una sintetasa de péptidos no-ribosomales (NRPS), dos elementos génicos implicados en la regulación y un transportador. La ferrocina A y sus derivados tienen la capacidad de inhibir dicha LspA de *Pseudomonas* sp. a partir de 1 mg en bioensayos en placa. LspA es una proteína esencial para la maduración y secreción de las lipoproteínas bacterianas cuya inhibición impide el desarrollo bacteriano. Por tanto, las ferrocinas actúan en una diana terapéutica no muy común. Además, para resistir a la acción de su propio antibiótico, el genoma de *Pseudomonas fluorescens* YK-310 contiene en el BGC de las ferrocinas una segunda LspA filogenéticamente alejada de las LspA canónicas.

Financing: Finanziado por: CMFI (Cluster of Excellence of University of Tübingen) y DZIF (German Center for Infection Research)

## Consortios hongo-bacteria para la producción de ácido láctico como precursor de PLA

Sandra Galea-Outón<sup>1</sup>, Alicia Prieto<sup>1</sup>, Jorge Barriuso\*<sup>1</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Dpto. Biotecnología Microbiana y de Plantas, c/ Ramiro de Maeztu, 9, Madrid, España

En las últimas décadas hemos sido testigos del impacto medioambiental que produce el plástico convencional. Tanto su producción desde fuentes no renovables como sus residuos son altamente contaminantes, lo que ha impulsado el desarrollo de plásticos de base biológica (obtenidos desde biomasa, una fuente renovable) y/o biodegradables (que se pueden descomponer mediante mecanismos biológicos). El ácido poli-láctico (PLA) es un poliéster que reúne ambas propiedades y presenta características similares a las de ciertos plásticos de origen petroquímico (como el PET, PP y PS). El precursor de este bioplástico es el ácido láctico (LA), obtenido mediante la fermentación de azúcares que pueden proceder de biomasa vegetal. Las bacterias ácido-lácticas (BAL) están entre los microorganismos con mayor capacidad para llevar a cabo la fermentación ácido-láctica. En este estudio se ha ensayado la fermentación del almidón (polisacárido compuesto de amilosa y amilopectina de difícil degradación) utilizando consorcios microbianos, como sustrato modelo para producir LA. Para ello, se ha realizado un screening de 17 hongos con potencial amilolítico, seleccionando las 3 especies con mayor capacidad degradativa para evaluarlas en cultivos mixtos con dos cepas de BAL (una amilolítica y otra no). Para mejorar la cooperación entre estos microorganismos, también se ha estudiado el efecto de la adición de moléculas señalizadoras de quorum sensing (QS). Sorprendentemente, los rendimientos fueron mejores en los consorcios con la cepa BAL no amilolítica y se incrementó la producción de LA por el efecto de algunas moléculas de QS.

Financing: Programa RETOPROSOST-2-CM, P2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid) Proyecto BioSFerAH2020-LC-SC3-2019-NZE-RES-CC-884409(EU) Proyecto GLYSUSRTI2018-093683-B-I00 (MICIU/AEI/FEDER)



## Estudio de cepas de actinomicetos aisladas del tracto intestinal y heces de las larvas del cerambícido *Cerambyx welensii*.

**Ramón I. Santamaría Sánchez**<sup>1</sup>, Ana Martínez-Carrasco<sup>1</sup>, Ricardo Sánchez de la Nieta<sup>1</sup>, Luis M. Torres-Vila<sup>2</sup>, Raul Bonal<sup>3</sup>, Jesus Martín<sup>4</sup>, Jose R. Tormo<sup>4</sup>, Fernando Reyes<sup>4</sup>, Olga Guenilloud<sup>4</sup>, Margarita Díaz Martínez<sup>1</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)/Universidad de Salamanca (USAL), Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), C/Zacarías González 2, Salamanca, España

(2) Junta de Extremadura, Servicio de Sanidad Vegetal, Consejería de Agricultura DRPyT, Avda. Luis Ramallo s/n, Badajoz, España

(3) Universidad de Extremadura, Grupo de Investigación Forestal. Instituto INDEHESA, Escuela de Ingeniería Forestal, Avda. Virgen del Puerto 2, Cáceres, España

(4) Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Avda. del Conocimiento 34, Granada, España

Los actinomicetos constituyen un importante grupo de bacterias Gram positivas presentes en diferentes hábitats complejos en los que a veces forman parte otros organismos superiores como los insectos xilófagos. En este estudio nos centramos en el aislamiento de actinomicetos de larvas del escarabajo *Cerambyx welensii* y en el estudio de sus enzimas hidrolíticas y producción de antibióticos. Estas larvas son estrictamente xilófagas y se alimentan de la madera de encina (*Quercus ilex* L.) y alcornoque (*Quercus suber* L.). Se seleccionaron 24 colonias con fenotipo actinomiceto de las que 17 aislados mostraron algunas de las siguientes actividades hidrolíticas: 9 tenían actividad celulolítica, 9 tenían actividad xilanolítica, 14 tenían actividad amilasa y 11 tenían actividad proteasa. Además, siete no presentaron ninguna de las actividades hidrolíticas ensayadas. En 14 de las cepas se observó actividad antibiótica sobre la bacteria Gram positiva *Micrococcus luteus*. Sin embargo, no se obtuvo actividad antibiótica sobre *Escherichia coli* ni antifúngica sobre *Saccharomyces cerevisiae*. Entre las moléculas detectadas se encuentran alpiniamida A, alteramidas A y B, coproporfirina III, deferoxamina, demetilennocardamina, dihidropicromicina, nocardamina, picromicina, estreptanoato, surugamidas A, B, C, D y E, tirandamicinas A y B y valinomicina. Curiosamente, también se obtuvieron varios compuestos no identificados, lo que abre la posibilidad de descubrir nuevas moléculas con actividad antibiótica. La identificación (mediante secuenciación de su 16SRNA) de los 10 más activos nos permitió comprobar que seis de ellos pertenecen al género *Streptomyces*, dos al género *Amycolatopsis* y dos están incluidos en el género *Nocardopsis*.

Financing: El laboratorio de R.I.S. y M.D. está financiado por los proyectos BIO2015-66958-R (MINECO/FEDER), PID2019-107716RB-I00 (MINECO/FEDER) y SA036G19 (Castilla y León).

## Potencial biotecnológico de levaduras como promotoras del crecimiento en cultivos

**María Hernández Fernández<sup>1</sup>**, Gustavo Adolfo Cordero Bueso<sup>1</sup>, Marina Ruiz Muñoz<sup>1</sup>, Jesús Manuel Cantoral Fernández<sup>1</sup>

(1) Universidad de Cádiz, Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Avenida República Árabe Saharaui, s/n, Puerto Real, España

La agricultura se enfrenta al desafío de satisfacer la demanda de alimentos producida por una creciente población humana mundial. Hasta la fecha, la mayoría de los métodos utilizados para que ésta sea sostenible es la aplicación de fertilizantes y pesticidas sintéticos. Esto conlleva una importante pérdida de la diversidad microbiana del suelo y un aumento de la contaminación ambiental. Como consecuencia, el uso de microorganismos beneficiosos se presenta como una estrategia útil para la intensificación sostenible de la producción de cultivos. Estos microorganismos y sus subproductos son, a menudo, agroinsumos orgánicos ecológicos que aumentan la sostenibilidad y la salud del suelo y, por lo tanto, se consideran la mejor alternativa a los fertilizantes químicos. Entre los microorganismos beneficiosos utilizados destacan las bacterias y los hongos. Similarmente, las levaduras aisladas a partir de uvas de la vid silvestre también parecen brindar un gran enfoque sostenible. En el presente trabajo, se propone evaluar el potencial biotecnológico de levaduras con capacidad antifúngica contra *Botrytis cinerea* para promover el crecimiento in vitro en plantas de soja (*Glycine max*) como organismo modelo, estudiando su mecanismo de acción y analizando sus metabolitos secundarios promotores del crecimiento. Utilizar levaduras vivas o subproductos de su metabolismo como biofertilizante y biopesticida podría ser una alternativa sostenible, económica y socialmente aceptada, a la vez que respetuosa con el medio natural y compatible con la producción de cultivos de manera segura.

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

### Clonación y expresión heteróloga de los genes de producción de equol de *Adlercreutzia equolifaciens*

**Baltasar Mayo**<sup>1,2</sup>, Lucía Vázquez<sup>1,2</sup>, Javier Rodríguez<sup>1,2</sup>, Ana Belén Flórez<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Microbiología y Bioquímica, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Paseo Río Linares s/n, 33300-Villaviciosa, España

(2) Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Avenida de Roma s/n, 33011-Oviedo, España

El equol es el metabolito derivado de las isoflavonas con mayor actividad estrogénica y poder antioxidante. Se le atribuyen grandes beneficios en la salud, sin embargo, solo el 25-50% de las personas pueden producirlo. El equol se sintetiza en el intestino a partir de la daidzeína por bacterias nutricionalmente exigentes y muy sensibles al oxígeno, lo que dificulta su empleo industrial. La clonación de la maquinaria involucrada en la producción de equol en huéspedes heterólogos fácilmente cultivables posibilitaría su producción biotecnológica y permitiría extender sus beneficios a toda la población. En este trabajo, se sintetizaron cuatro genes (*racemasa*, *tdr*, *ddr* y *dzr*) que codifican enzimas clave en la producción de equol en *Adlercreutzia equolifaciens* DSM19450T y se clonaron en *Escherichia coli* mediante un vector multicopia. La producción de equol por *E. coli* se demostró utilizando daidzeína y dihidrodaidzeína como sustratos. La construcción se clonó a su vez en un vector de bajo número de copias con amplio rango de hospedador en bacterias Gram-positivas. La nueva construcción se introdujo en cepas modelo de *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis*. Los clones de *L. casei* produjeron una pequeña cantidad de equol a partir de dihidrodaidzeína, pero no de daidzeína. Sin embargo, los clones de *L. lactis* no produjeron equol a partir de ninguno de los dos sustratos. Esta es la primera vez que se clonan y expresan los genes de *A. equolifaciens* involucrados en la formación de equol. Por su funcionalidad, los clones de *E. coli* podrían utilizarse para la producción biotecnológica de equol.

Financing: Este trabajo se financió con proyectos del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) (AGL2014-57820-R) y del Principado de Asturias (IDI/2018/000114).

## Identificación y caracterización de agrupamientos de genes biosíntesis de compuestos derivados de 3-amino-4-hidroxibenzoato en *Streptomyces*

**Ignacio Montero Ordóñez**<sup>1,2,3</sup>, Suhui Ye<sup>1,2,3</sup>, Coral García Gutierrez<sup>1,2,3</sup>, Carmen Méndez Fernández<sup>1,2,3</sup>

(1) Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional, Facultad de Medicina, Julián Clavería 6, Oviedo, España

(2) Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Fernando Bongera s/n, Edificio «Santiago Gascón» 1ª planta, Oviedo, España

(3) Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias, Facultad de Medicina, Julián Clavería 6, Oviedo, España

El 3-amino-4-hidroxibenzoato (3,4-AHBA) es una unidad estructural que forma parte de distintos compuestos bioactivos producidos por actinomicetos, como la grixazona A, la cremeomicina, el antitumoral asukamicina o el potente antibiótico platensimicina. La biosíntesis de 3,4-AHBA es catalizada por una 3,4-aldolasa que condensa el aspartato-semialdehído (ASA) y la dihidroxiacetona-fosfato (DHAP), y por una 3,4-AHBA-Sintasa que cicla y aromatiza el producto de la reacción anterior. Curiosamente, la identificación de los agrupamientos de genes de biosíntesis (BGC) que dirigen la biosíntesis de estos compuestos no son fáciles de identificar utilizando programas bioinformáticos como antiSMASH. Con el fin de identificar BGC para compuestos derivados de 3,4-AHBA, se ha realizado un cribado de la colección "CS" de cepas de *Streptomyces* simbiotes de hormigas de la tribu Attini, combinando amplificación por PCR con oligonucleótidos diseñados para amplificar genes codificadores de Aldolasas y/o Sintetas, y análisis bioinformáticos. Se han identificado 22 cepas que contienen BGC para compuestos derivados de 3,4-AHBA, de los cuales se han seleccionado cinco BGC para su caracterización en mayor profundidad: gri90, tio57, cre57, dar149 y hola14/147/149/131. Mediante la generación de mutantes, la sobreexpresión de genes reguladores positivos, la comparación de sus perfiles metabólicos y desreplicación de los compuestos producidos, se ha podido determinar que el cluster gri90 codifica grixazonas y el cluster dar149 codifica dariamidas.

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

**Microbiología Industrial**  
E-poster

Mejora de la productividad para producir esporas de *Bacillus subtilis* mediante fermentación continua en cascada

**Juan Moreno-Cid**<sup>1</sup>, Fuensanta Verdú Navarro<sup>1</sup>

(1) Bionet Engineering, RD Department, Parque Tecnológico de Fuente Álamo, 30320, Murcia, Spain

Los procesos de fermentación en continuo permiten un aumento de la productividad y una reducción de los costes de producción. En algunos casos, las limitaciones de implementarlos se deben a aspectos de equipamiento y tecnologías, o al propio ciclo del cultivo en sí, siendo generalmente el mantenimiento del cultivo en la fase exponencial el estado objetivo. En el caso de los productos de interés obtenidos por el género *Bacillus* spp, estos se producen generalmente durante la fase estacionaria cuando se forman las esporas. Para solventar esta limitación y poder implementar un proceso en continuo con una cepa de *Bacillus subtilis*, se aplicó una estrategia en cascada continua en un proceso de fermentación de múltiples etapas. Primero se caracterizó el crecimiento y el rendimiento de biomasa utilizando diferentes fuentes de carbono en un sistema multibiorreactor de sobremesa F0-BABY de Bionet. La estrategia para la fermentación continua en modo cascada se aplicó en dos biorreactores/fermentadores de sobremesa Bionet de hasta 3 litros y módulo para procesos en continuo, una unidad en modo quimiostato para la formación de biomasa y mantener el cultivo en fase exponencial, y el segundo para la esporulación aplicando una estrategia semicontinua por ciclos retirando el caldo final. Para el proceso de quimiostato se caracterizó un rango de tasas de dilución entre 0.05-0.5 h<sup>-1</sup>, y para los ciclos semicontinuos se utilizaron intervalos de 8-16 h para la cosecha de esporas. El objetivo principal de este estudio es presentar nuestra investigación en el desarrollo de procesos de fermentación continúa.

## Metaproteómica de bacterias acéticas durante la acetificación de vino y cerveza

**Juan Jesús Román Camacho**<sup>1</sup>, Inés María Santos Dueñas<sup>2</sup>, Teresa García Martínez<sup>1</sup>, Isidoro García García<sup>2</sup>, Juan Carlos Mauricio<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Departamento Química Agrícola, Edafología y Microbiología, Facultad de Ciencias, Edificio Severo Ochoa, planta baja, Ctra. N-IV-A, Km 396, 14014, Córdoba, Spain, Córdoba, España

(2) Universidad de Córdoba, Química Inorgánica e Ingeniería Química, Facultad de Ciencias, Edificio Marie Curie, planta baja, Ctra. N-IV-A, Km 396, 14014, Córdoba, Spain, Córdoba, España

La producción industrial de vinagre es el resultado de la actividad de una compleja microbiota de bacterias acéticas (BA) que producen, principalmente, ácido acético a partir de un medio alcohólico. Muchas BA presentan la gran dificultad de ser aisladas fuera de los ambientes en los que se desarrollan plenamente tales como cultivos sumergidos en biorreactores. No obstante, gracias a las "ciencias ómicas" se está incrementando el conocimiento existente sobre la diversidad de la microbiota que habita en estos entornos naturales tan agresivos. En este trabajo, a partir de un mismo cultivo iniciador, se ha analizado el comportamiento funcional de la microbiota en dos sustratos naturales: vino fino y cerveza artesana. Para ello, se ha analizado el metaproteoma y, más exhaustivamente, el perfil proteico de la especie predominante, *Komagataeibacter europaeus*, mediante LC/MS-MS en un proceso de acetificación controlado y operado en modo semicontinuo. Los resultados indicaron que no existen diferencias relevantes en la composición microbiana entre ambos sustratos, aunque sí se apreciaron variaciones significativas desde un punto de vista de proteómica cuantitativa. En el perfil de vinagre de vino fino, las diferencias en las principales actividades funcionales bacterianas entre la fase de final de carga (metabolismo de aminoácidos, metabolismo energético y biosíntesis de novo de purinas) y justo antes de la descarga (regulación de la síntesis de proteínas y respuesta a estrés) fueron mucho más acentuadas que en el perfil de vinagre de cerveza.

Financing: XXIII Programa Propio de Fomento de la Investigación 2018 (MOD 4.2. SINERGIAS, Ref XXIII. PP Mod 4.2) Universidad de Córdoba.



### Empleo de levaduras vínicas seleccionadas como modo de mitigar los efectos del cambio climático

**Francisco J. Martín García**<sup>1</sup>, Víctor Tirado<sup>2</sup>, Anna Puig Pujol<sup>2</sup>, Juan Carlos Mauricio<sup>1</sup>, Rafael A. Peinado Amores<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología, Facultad de Ciencias, Edificio Severo Ochoa, planta baja, Ctra. N-IV-A, Km 396, 14014, Córdoba, España

(2) Institute of Agrifood Research and Technology-Catalan Institute of Vine and wine (IRTA-INCAVI), Department of Enological Research, 08720, Vilafranca del Penedes, Barcelona, España

El sector vitivinícola en todo el mundo es consciente del impacto del cambio climático, viéndose afectado por el estrés hídrico, las altas temperaturas, o el desfase cada vez más acusado entre la madurez industrial y la madurez aromática y polifenólica. Entre otras consecuencias, destacan la elevada concentración de azúcar en vinos, la propensión a la contaminación bacteriana y los desajustes organolépticos en los productos. Numerosos estudios han constituido puntos de partida para desarrollar medidas que mitiguen dichos efectos a nivel de cultivos y de procesos fermentativos. Nuestra labor se fundamenta en testar varias levaduras osmotolerantes *Saccharomyces cerevisiae* aisladas de variedades de *Vitis vinífera* subesp. *sylvestris* de la región vitivinícola de Vilafranca del Penedès, Barcelona, para comprobar si presentan buena capacidad para fermentar en condiciones de cambio climático. El objetivo principal se basa en encontrar una o varias cepas autóctonas que puedan utilizarse como alternativas al uso de una levadura comercial, buscando así preservar la tipificación de los vinos propios de la zona. Con estas levaduras, se realizan fermentaciones de mostos con alta concentración de azúcar (250 g/L), a dos temperaturas diferentes (18 y 25 °C) y a dos concentraciones de SO<sub>2</sub> (0 y 75 mg/L) como agente antimicrobiano. Tras estudiar la cinética de fermentación, los parámetros enológicos de los vinos resultantes y sus perfiles aromáticos, se ha determinado la posibilidad de que, entre todas, haya una que presente un alto potencial para afrontar los efectos del cambio climático en la industria de la vid y el vino.

Financing: MINISTERIO DE CIENCIA, INNOVACIÓN Y UNIVERSIDADES. FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER). Ref. RTA2014-00016-C03-03

## Estudios adicionales de las 3-cetoesteroide-9- $\alpha$ -hidroxilasas de *Rhodococcus ruber* Chol-4 implicadas en la degradación de esteroides

Sara Baldanta Callejo<sup>1</sup>, Juana María Navarro Llorens<sup>1</sup>, Govinda Guevara<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Bioquímica y Biología Molecular, Biológicas, C/ José Antonio Novais 12, Madrid, España

En los últimos años, la bioquímica y genética del catabolismo de esteroides ha sido ampliamente estudiada en bacterias. Estos estudios han sido fundamentales para el desarrollo de aplicaciones biotecnológicas ya que mediante ingeniería metabólica de cepas que degradan esteroides pueden obtenerse intermediarios de valor industrial. No obstante, aún existen algunos retos que deben superarse para optimizar el sistema, uno de los mayores es entender cómo funciona y se regula la redundancia de los genes relacionados con el catabolismo de esteroides. Las KshAB y KstD son enzimas clave involucradas en la rotura aeróbica del núcleo de esteroides. *Rhodococcus ruber* Chol-4 contiene 3 genes kshAs, un solo gen kshB y 3 genes kstDs en su genoma. En el presente trabajo se ha evaluado el crecimiento de los mutantes simples kshA de *R. ruber* sobre diferentes sustratos de esteroides, se han analizado las regiones promotoras de estos genes y se ha seguido su expresión mediante qRT-PCR. Además, se estudió el nivel de transcripción de los genes kstDs en los mutantes ksh. Los resultados muestran que las isoformas KshA2B y KshA1B están involucradas en el metabolismo de AD, mientras que KshA3B y KshA1B contribuyen al metabolismo del colesterol en *R. ruber*. Además, en los mutantes simples kshA, la expresión de los genes kshA restantes y también de las kstD se reorganiza para que la cepa pueda sobrevivir en el sustrato esteroide. Estos datos dan una idea de la fina regulación de los genes de esteroides cuando están presentes en el genoma varias isoformas.

Financing: "Programa Retos Colaboración del Ministerio de Economía y Competitividad, MINECO" (Spain), project RTC-2014-2249-1.

### Obtención de mutantes de delección en *Bartonella Quintana* para la fabricación de un chasis en biología sintética

**Emilio Garrote-Sánchez<sup>1</sup>**, Jimena Solana<sup>1</sup>, Luis Gullón-Escobar<sup>1</sup>, Andrés Moya<sup>1</sup>, Rosario Gil<sup>1</sup>

(1) Programa de Biología de Sistemas Evolutiva de Simbiontes, Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I2SysBio), Universitat de València – CSIC, Paterna, España

El uso de microorganismos con genomas naturalmente reducidos con el objeto de fabricar un chasis celular adecuado es frecuente en Biología Sintética. Con esta finalidad, las bacterias endosimbiontes obligatorias, ya sean parasitas o mutualistas, están adquiriendo relevancia. La mayoría de endosimbiontes no son cultivables, lo que dificulta su manipulación. Sin embargo, *Bartonella quintana* str. Toulouse, el endosimbionte que hemos seleccionado para nuestro trabajo, puede crecer en cultivo y tiene la capacidad de infectar células de mamíferos, lo que le convierte en un buen modelo para diseñar un chasis con posibles aplicaciones biomédicas. Nuestro grupo ha diseñado DELEAT, una nueva pipeline para la determinación de regiones prescindibles basándose en la esencialidad de los genes. Ello nos ha permitido fabricar una serie de construcciones para eliminar aquellas regiones del genoma carentes de genes esenciales. Dichas construcciones han sido clonadas en un plásmido suicida, carente de origen de replicación en *B. quintana* pero que sí puede amplificarse en *Escherichia coli*. Seguidamente, hemos puesto a punto en nuestro laboratorio un protocolo de conjugación por biparental mating, usando *E. coli* S17-1 como donadora. Finalmente, se ha utilizado un doble sistema de selección positiva por antibiótico y selección negativa por sacarosa para el aislamiento de mutantes de delección, comprobándose mediante PCR la pérdida de la región deseada.

Financing: Este trabajo está financiado por PGC2018-099344-B-I00 (MICINN y ERDF) y PROMETEO/2018/133 (GVA/INNOVA).

## Variante glucosintasa de una $\beta$ -glucosidasa fúngica para la síntesis de glucósidos de moléculas fenólicas.

Lara Bejarano-Muñoz<sup>1</sup>, Juan A. Méndez-Líter<sup>1</sup>, Laura I. de Eugenio Martínez<sup>1</sup>, Alicia Prieto<sup>1</sup>, María Jesús Martínez Hernández<sup>1</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Biotecnología Microbiana y de Plantas, Calle Ramiro de Maeztu 9, Madrid, España

El hongo *Talaromyces amestolkiae* es un ascomiceto en proceso de estudio como fuente de glicosil hidrolasas (GH) para la valorización de biomasa vegetal, especialmente de residuos agroindustriales. Este hongo, entre otras GH, secreta altos niveles de  $\beta$ -glucosidasas. Estas enzimas son esenciales para completar la hidrólisis de la celulosa en procesos de sacarificación de la biomasa vegetal pero también, dependiendo de las condiciones de reacción, puede generar nuevos glicósidos mediante reacciones de transglicosilación. Para conseguir anular la capacidad de hidrólisis de estas enzimas, dirigiendo toda su actividad hacia la síntesis, se pueden obtener mutantes, por mutagénesis dirigida, cambiando el aminoácido nucleófilo o el residuo ácido/base del centro catalítico, dando lugar a variantes glucosintasas o tioglicoligasas, respectivamente. En este trabajo se estudió la variante glucosintasa E521G de la  $\beta$ -glucosidasa 1 de *T. amestolkiae*, se expresó en la levadura *Pichia pastoris*, se purificó y caracterizó, demostrando que es capaz de llevar a cabo reacciones de transglicosilación utilizando como aceptores compuestos fenólicos con interés en el sector alimentario y farmacológico. Los resultados obtenidos indican que esta enzima es capaz transglicosilar galato de epigallocatequina (EGCG), derivado antioxidante del té verde, vainillina, uno de los principales antioxidantes de la vainilla, y el ácido rosmarínico, otro potente antioxidante derivado del romero, aunque con diferente eficacia. Los mejores resultados se obtuvieron con EGCG, corroborando la formación de su glucósido mediante técnicas de espectrometría de masas. Los resultados sugieren que esta enzima puede ser una potente herramienta biotecnológica para la síntesis de nuevos glicósidos.

Financing: El trabajo está financiado por los proyectos GLYSUS RTI2018-093683-B-I00 (MCIU/AEI/FEDER) y RETOPROSOST2 S2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid)

### **Funcionalización enzimática de celulosa cristalina por monooxigenasas líticas de polisacáridos. Una aproximación sostenible para el desarrollo de nuevos materiales.**

**L. Verónica Cabañas-Romero**<sup>1,2</sup>, Carolina Buruaga-Ramiro<sup>1,2</sup>, Josefina Martínez<sup>1,2</sup>, Pilar Díaz<sup>1,2</sup>, Ramon I. Santamaría<sup>3</sup>, Susana V. Valenzuela<sup>1,2</sup>

(1) Universitat de Barcelona, Genética, Microbiología y Estadística, Biología, Avenida Diagonal 643, Barcelona, España

(2) Institute of Nanoscience and Nanotechnology (IN2UB), Barcelona, España

(3) Instituto de Biología Funcional y Genómica, Departamento de Microbiología y Genética, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Salamanca, España

La celulosa, principal componente de la biomasa vegetal, es de gran interés para su valorización tecnológica. Las enzimas pueden modificar las fibras de celulosa de forma sostenible y selectiva a diferencia de los tratamientos químicos y físicos, confiriéndoles propiedades novedosas y multifuncionales. Actualmente se está realizando un gran esfuerzo en caracterizar estas enzimas, por su gran potencial de biomodificación y valorización de sustratos renovables. Recientemente se han identificado y caracterizado un nuevo tipo de enzimas celulósicas, denominadas monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMOs). Su mecanismo de acción, desconocido hasta el año 2010 (Vaaje-Kolstad et al., 2010), despolimeriza los polisacáridos por ruptura oxidativa generando grupos carboxílicos. Esta actividad ha abierto un nuevo abanico de aplicaciones por la funcionalización que confiere al polisacárido que se diferencia de la tradicional hidrólisis enzimática. ShaLPMO10A, es una nueva LPMO proveniente de *Streptomyces halstedii* que se ha identificado y escogido por su potencial sobre fibras celulósicas. En el presente trabajo, hemos clonado y expresado exitosamente a ShaLPMO10A, en *Escherichia coli*. Mediante ensayos realizados sobre celulosa cristalina, se verificó su actividad oxidativa obteniendo productos oxidados en el carbono 1 de las subunidades de glucosa de las cadenas de celulosa. La caracterización bioquímica ShaLPMO10A a través del monitoreo de la formación de productos en la fracción soluble, indica que la enzima es activa sobre diferentes sustratos celulósicos y en un amplio rango de temperaturas lo cual la convierte en una excelente candidata para el desarrollo de cócteles enzimáticos para el desarrollo de nuevos materiales a partir de la biomasa lignocelulósica.

## Obtención de una variante glicosintasa a partir de una endoxilanasas fúngica para la síntesis de glicósidos con interés biotecnológico

**Ana Pozo-Rodríguez<sup>1</sup>**, Juan A. Méndez-Líter<sup>1</sup>, Laura I. de Eugenio<sup>1</sup>, Alicia Prieto<sup>1</sup>, Jorge Barriuso<sup>1</sup>, María Jesús Martínez\*<sup>1</sup>

(1) Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB), Biotecnología Microbiana y de Plantas, Ramiro de Maeztu 9, Madrid (28040), España

Las glicosilhidrolasas (GH), enzimas capaces de hidrolizar enlaces glicosídicos, tienen gran potencial en la valorización de residuos lignocelulósicos. Además de su capacidad hidrolítica, algunas de ellas llevan a cabo reacciones de transglicosilación, generando enlaces entre residuos glicosídicos y moléculas aceptoras. La síntesis de glicósidos tiene especial interés en el caso de antioxidantes, puesto que puede mejorar sus propiedades bioactivas. Esto puede conseguirse químicamente, pero la síntesis enzimática es más sostenible. El rendimiento de estas reacciones con enzimas nativas suele ser bajo, ya que los glicósidos terminan por ser hidrolizados, lo que puede solventarse mediante el desarrollo de variantes mutagénicas en las que se elimina o reduce drásticamente la actividad hidrolítica de la enzima. En este trabajo se comprobó que la endoxilanasas rXynSOS (familia GH10) del ascomiceto *Talaromyces amestolkiae*, expresada en *Pichia pastoris*, mostraba cierta actividad transglicosidasa, usando 4-nitrofenil  $\beta$ -xilobiósido (pNPX2) como donador. Sustituyendo el aminoácido nucleófilo E236 por uno neutro (E236G), se obtuvo una variante xilosintasa muy activa, con mayor eficacia que la enzima fúngica glicosilando distintas moléculas aceptoras, utilizando xilobiosa-flúor como donador. Se han sintetizado xilobiósidos de los ácidos gálico y rosmarínico, alcohol vainilínico, hidroquinona y 2-hidroxibencil alcohol. La formación de estos glicósidos se detectó por cromatografía en capa fina y espectrometría de masas y, en la actualidad, se están purificando para complementar su caracterización por RMN. Además, se ha observado que la variante xilosintasa de rXynSOS es capaz de sintetizar xilooligosacáridos de distinta longitud, que podrían tener aplicación como prebióticos.

Financing: Trabajo financiado por los proyectos GLYSUS RTI2018-093683-B-I00 (MCIU/AEI/FEDER) y RETOPROSOST2 S2018/EMT-4459 (Comunidad de Madrid)



### Estrategias para la producción enzimática de diferentes tipos de quitooligosacáridos a partir de quitina y quitosano

Noa Míguez<sup>1</sup>, Peter Kidibule<sup>2</sup>, Marina Minguet<sup>2</sup>, Helena Soto<sup>2</sup>, Elena Jiménez<sup>3</sup>, Paloma Santos-Moriano<sup>1,4</sup>, Antonio O. Ballesteros<sup>1</sup>, Julia Sanz-Aparicio<sup>3</sup>, María Fernández-Lobato<sup>2</sup>, **Francisco J. Plou Gasca**<sup>1</sup>

(1) Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, 28049 Madrid.

(2) Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain.

(3) Instituto de Química Física Rocasolano, CSIC, 28049 Madrid.

(4) Facultad de Ciencias Biomédicas y de la Salud, Universidad Europea de Madrid, 28670 Villaviciosa de Odón (Madrid).

La quitina, el segundo polímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa, está constituida por unidades de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) con enlaces  $\beta(1\ 4)$ . La hidrólisis de quitina o quitosano (su producto desacetilado) da lugar a una serie de quitooligosacáridos (COS) que contienen diferentes proporciones de D-glucosamina (GlcN) y GlcNAc, según el método empleado en su obtención. Los COS muestran propiedades interesantes como antimicrobianas, antioxidantes, antivirales, antitumorales, antiinflamatorios, neuroprotectores, antihipertensivos y prebióticos. Su actividad biológica depende en gran medida del grado de polimerización (DP), grado de desacetilación (DD) y patrón de acetilación (PA). En nuestro consorcio GLICOENZ (<http://www.glicoenz.org>) estamos desarrollando distintas estrategias para la obtención de COS con una composición química definida: COS totalmente acetilados (faCOS, formados exclusivamente por GlcNAc), COS parcialmente acetilados (paCOS, compuestos por GlcN y GlcNAc) y COS desacetilados (fdCOS, formados solo por GlcN). Para ello trabajamos con varias quitinasas (Chit33 y Chit42) de *Trichoderma harzianum*, que han sido expresadas en *Pichia pastoris*, además de otros extractos con actividad quitinolítica. Recientemente hemos empezado la búsqueda de enzimas con actividad quitina-desacetilasa, que nos permitirían un mayor control sobre el grado de acetilación de los COS. Las mezclas complejas que se obtienen en estas reacciones se caracterizan mediante cromatografía aniónica con detección amperométrica de pulsos (HPAEC-PAD) y espectrometría de masas MALDI-TOF. La estructura 3D de alguna de las quitinasas ha sido resuelta y además se han realizado estudios estructura-función para determinar los aspectos diferenciales que modulan la especificidad de estas enzimas.

Financing: Financiación: EU-EMFF-Blue-Economy-2018 (proyecto FISH4FISH-863697), MICINN Proyectos PID2019-105838RB-C31/C32/C33, Fundación Ramón Areces

## Análisis filogenómico de microorganismos contaminantes de cueros bovinos salados y terapia halofágica

ANA BELEN MARTIN CUADRADO<sup>1</sup>, **Francisco Nadal Molero**<sup>2</sup>

(1) UNIVERSIDAD DE ALICANTE, FISIOLÓGIA, GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA, Campus de San Vicente del Raspeig, Pabellón 12, CP 03960, Alicante, España

(2) UNIVERSIDAD DE ALICANTE, FISIOLÓGIA, GENÉTICA Y MICROBIOLOGIA, Campus de San Vicente del Raspeig, Pabellón 12, CP 03960, Alicante, España

Una de las metodologías más comunes en el tratamiento de cueros es la preservación por salado. Sin embargo, en este proceso los microorganismos halófilos pueden proliferar y causar grandes pérdidas económicas por la aparición de coloraciones indeseadas, debilitamiento y degradación de la piel. El primer objetivo de este trabajo es conocer la comunidad microbiana presente tanto en pieles "sana" como en pieles contaminadas. El segundo de los objetivos, aislar los procariotas mayoritarios y obtener fagos contra los mismos. Se han llevado a cabo la secuenciación de 35 librerías obtenidas a partir de muestras de piel (sana, rojiza, morada y negra) y otras 7 obtenidas a partir de biomasa presente en la sal industrial usada. Se amplificó la región V3-V4 del gen 16S-rRNA y se secuenció con Illumina-MiSeq 2x300 pb. El análisis bioinformático se realizó con el programa Quime (Caporaso et al. 2010) usando las bases de datos SILVA para su clasificación taxonómica. Los resultados mostraron una alta diversidad en pieles bien curadas y los géneros mayoritarios *Acinetobacter* y *Psychrobacter*. En pieles contaminadas con coloraciones esta biodiversidad disminuye y aunque las archaeas mayoritarias pertenecen a varios géneros de *Halobacterium*, *Natronococcus*, *Halovenus* y *Halorubrum*, la presencia casi monoclonal de una especie de *Pseudomonas* y de varios *Alkalibacillus* llegó a suponer hasta casi un 70% del total de la población microbiana en algunas pieles. Tras el aislamiento de más de 200 microorganismos, se han identificado los dos contaminantes mayoritarios y actualmente se está procediendo a su caracterización y aislamiento de fagos.

Financing: Comercial Industrial García Sánchez S.A. - Coingasa

**Microorganismos Patógenos**  
**Presentación Oral**

**Actividad de la IS6110 en Mycobacterium tuberculosis in vitro e in vivo**

**Jessica Comín Polo**<sup>1</sup>, Sofía Samper Blasco<sup>1,2,3</sup>

(1) Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Calle de San Juan Bosco, 13, 50009, Zaragoza, España

(2) Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Respiratorias (ciberes), España

(3) Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón, España

La secuencia de inserción (IS) 6110 es específica para el complejo Mycobacterium tuberculosis y codifica para una transposasa. Está descrito que esta IS puede afectar al metabolismo y patogénesis de la bacteria mediante la inactivación de genes o su sobreexpresión. Con el objetivo de conocer más sobre esta IS se realizaron dos aproximaciones: 1. Estudio del transcriptoma en fase de crecimiento exponencial y estacionaria de una cepa de tuberculosis, MtZ, cuya localización de las IS en el genoma era conocida. Los resultados observados fueron variados: la transcripción se interrumpe al llegar al punto de inserción, se produce una sobreexpresión del gen adyacente, o no se ve ningún efecto. Además, esta cepa tiene sobreexpresada la IS6110 con respecto a la cepa de referencia, y esta sobreexpresión es más acentuada en la fase estacionaria. 2. Estudio de las copias de la IS6110 en pacientes que habían tenido recaídas para analizar si existían cambios entre las ISs de los aislados de los diferentes procesos de la enfermedad mediante secuenciación genómica. En dos casos se observó que el aislado reactivado había ganado alguna IS, y en cuatro casos se observó que había perdido alguna. Esto implica que el salto de la IS ocurre con frecuencia durante la infección, en algunas bacterias prospera y en otras no. Como conclusión, la actividad de la transposasa es mayor en situaciones de estrés, como hemos comprobado in vitro para la cepa MtZ en fase estacionaria, y el estudio in vivo ha permitido observar los saltos durante la infección.

## Dextran-based single-chain nanoparticles improve the tobramycin and DNase I activity against mature biofilms by interacting with the extracellular matrix

Núria Blanco-Cabra<sup>1</sup>, Julie Movellan<sup>2</sup>, Marco Marradi<sup>2,3</sup>, Raquel Gracia<sup>2</sup>, Cristian Salvador<sup>2</sup>, Damien Dupin<sup>2</sup>, Iraida Loinaz<sup>2</sup>, Eduard Torrents<sup>1,4</sup>

(1) Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Bacterial Infections: Antimicrobial Therapies group, Baldori Reixac 15-21, Barcelona, España

(2) CIDETEC, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Parque Científico y Tecnológico de Gipuzkoa, Miramon Pasealekua, 196, Donostia-San Sebastián, España

(3) University of Florence, Department of Chemistry "Ugo Schiff", via della Lastruccia 13, Sesto Fiorentino, Italia

(4) Universitat de Barcelona, Departament de genètica, microbiologia i estadística, Facultat de biologia, Avinguda Diagonal. 643, Barcelona, España

The extracellular matrix protects the biofilm cells by reducing the diffusion of the antimicrobials. Tobramycin is an antibiotic extensively used to treat *P. aeruginosa* biofilms, but due to its positive charges, it is sequestered in the biofilm periphery by the extracellular's negative charges matrix, losing efficacy significantly. Several nano-based formulations have been designed and are nowadays used to increase the final concentration of the antibiotics at the infection site, but alternatives to increment the diffusion of this antibiotic into the biofilm are necessary. Dispersal of the biofilm extracellular matrix with enzymes like DNase I is another used therapy against biofilms that can increment antibiotic penetration and diffusion to reach the internal bacterial cells. Here, we combine the charge neutralization effect that the dextran-based single-chain polymer nanoparticles (DXT-SCPNS) provide to the tobramycin with the aid of the DNase I to break the matrix. The effect of these DXT-SCPNS against continuous and mature *P. aeruginosa* and *S. aureus* biofilms is studied. Moreover, the specific interaction of DXT-SCPNS with the different extracellular matrix components of the *P. aeruginosa* biofilm was carefully analyzed, characterized, and their interactions were studied, showing an improvement of the activity of the tobramycin and the DNase I.

Financing: MINECO, AEI, FEDER, EU (RTI2018-098573-B-100), CERCA and AGAUR (2017SGR-1079), FEDER, OS "La Caixa" and Basque Government (ELKARTEK/BMG19 refKK-2019/00015, ELKARTEK/BMG18 refKK-2018/00038).

### **Infecciones favorables de linajes de *Mycobacterium tuberculosis* con macrófagos de sus hospedadores favoritos inducen un nivel elevado de necrosis.**

**Carlos Gomis Olcina**<sup>1</sup>, Chantal Renau Mínguez<sup>1</sup>, Antonio Espert Rehues<sup>1</sup>, Nikolina Buksa<sup>2</sup>, Mireia Coscollà Devís<sup>1</sup>

(1) Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, PatoGenÓmica Bacteriana, C/Catedràtic Agustín Escardino, 9, Paterna, España

(2) University of Rijeka, Department of Biotechnology, Rijeka, Croacia

El complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) está compuesto por un grupo de bacterias con relación filogenética que causan la enfermedad de la tuberculosis (TB) en mamíferos. El MTBC es uno de los patógenos más importantes para la salud pública, ya que la TB causó más de 1.2 millones de muertes en 2018. Existen 13 linajes o ecotipos incluidos en el MTBC. Aunque MTBC tiene una estructura clonal y una baja variación genética entre sus integrantes, los ecotipos difieren entre ellos genéticamente y en el rango de hospedadores al que pueden infectar. En cuanto a la especificidad de hospedador, existen patógenos generalistas (aquellos con un amplio rango de hospedadores) y especialistas (aquellos con solo uno). La diversidad genética en patógenos intracelulares como *M. tuberculosis*, afecta a las interacciones específicas entre los receptores de la célula hospedadora y las proteínas bacterianas correspondientes, cambiando la respuesta inmune, por un lado, y la virulencia, por otro. En este trabajo, mostramos cómo la virulencia de distintos linajes de MTBC (como L5, L6, *M. bovis* y Chimpanzee Bacillus) cambia en infecciones favorables (con macrófagos del hospedador preferido) y no favorables (macrófagos de otros hospedadores). En este estudio, observamos cómo la viabilidad celular disminuye en las células infectadas con linajes adaptados a ellas. Adicionalmente, hemos observado una ratio de infección incrementada en infecciones favorables. Hemos encontrado un conjunto de diferencias fenotípicas, tanto en el patógeno como en el hospedador, entre las infecciones favorables y no favorables de macrófagos humanos y animales con linajes humanos y animales del MTBC.

Financing: Plan Retos de Investigación, del Ministerio de Ciencia e Innovación (RTI2018-094399-A-I00).

## Papel de la H<sup>+</sup>-ATPasa Pma1 en la homeostasis de pH, señalización y virulencia del hongo patógeno *Fusarium oxysporum*

Melani Mariscal Gómez<sup>1</sup>, Tânia R. Fernandes<sup>2</sup>, Antonio Serrano Salces<sup>3</sup>, Antonio Di Pietro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Campus Rabanales, Edificio Gregor Mendel, 14014, Córdoba, España

(2) Universidade do Porto, GreenUPorto – Research Centre on Sustainable Agrifood Production DGAOT, Faculdade de Ciências, Campus de Vairão, Rua da Agrária 747, Vairão, Portugal

(3) Université Côte d'Azur, CNRS, INSERM, Institute of Biology Valrose (iBV), Parc Valrose, Niza, Francia

El pH regula procesos fundamentales, incluido crecimiento, desarrollo y virulencia. En el hongo patógeno *Fusarium oxysporum*, los cambios en el pH extracelular inducen fluctuaciones rápidas y transitorias del pH citosólico (pH<sub>c</sub>), resultando en la reprogramación de las vías de señalización de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs). En el presente trabajo investigamos el papel de la H<sup>+</sup>-ATPasa de la membrana citoplasmática Pma1 en el control de la homeostasis del pH<sub>c</sub> y la señalización MAPK de *F. oxysporum*. Utilizando el derivado de GFP pHluorina como sensor ratiométrico de pH<sub>c</sub>, se observó que la inhibición farmacológica de Pma1 desencadena una rápida acidificación intracelular y activación de la cascada MAPK de la integridad celular. Además, utilizando una cepa que expresa una versión fluorescente de Pma1 observamos que la proteína se localiza preferentemente en la zona sub-apical de hifas en crecimiento. Ya que Pma1 es una proteína esencial, se generó un alelo *pma1-ts* sensible a alta temperatura (34°C), con dos mutaciones puntuales en el primer bucle citoplasmático, permitiendo así la inhibición rápida de la actividad Pma1. Por otro lado, se generó un mutante que carece de la caseína quinasa Ckl, que funciona como regulador negativo de Pma1, obteniendo así un aumento en la actividad de Pma1. Dicho mutante muestra elevada resistencia a la muerte celular inducida por ácido acético, así como una pérdida total de patogenicidad en plantas de tomate. Nuestros resultados representan un paso adelante en la comprensión del papel del pH<sub>c</sub> en la señalización y la virulencia de los patógenos fúngicos.

Financing: Proyecto BIO2016-78923-R (MICINN). MMG y TRF fueron apoyados con contrato FPI (MICINN) y un contrato Marie Curie ITN FUNGIBRAIN (FP7-PEOPLE-ITN-607963)



### **Análisis del potencial antiviral frente a Citomegalovirus de componentes de aceites esenciales**

**Estéfani García Ríos<sup>1</sup>**, Clara Martín Martín<sup>1</sup>, María Ruiz Rico<sup>2</sup>, José Manuel Barat<sup>2</sup>, Pilar Pérez Romero<sup>1</sup>

(1) Centro Nacional de Microbiología - Instituto de Salud Carlos III, Virología, Carretera Majadahonda - Pozuelo km. 2., Majadahonda, España

(2) Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria, Universitat Politècnica de València, Departamento de Tecnología de Alimentos, Camino de Vera s/n, Valencia, España

La infección por CMV es la principal causa infecciosa de enfermedad grave en pacientes inmunodeprimidos o con un sistema inmune inmaduro. Aunque en los últimos años ha mejorado mucho el tratamiento frente a la infección por CMV, el uso de los antivirales disponibles (ganciclovir, foscarnet, cidofovir, letermovir), además de su alto coste, está asociado a la selección de resistencias. Además, los largos periodos de tratamiento profiláctico en pacientes inmunosuprimidos pueden derivar en la selección de clones virales con menor susceptibilidad a los compuestos junto con los diversos efectos adversos asociados al tratamiento como neutropenia, mielosupresión y nefrotoxicidad. En consecuencia, se siguen realizando grandes esfuerzos para buscar nuevos enfoques terapéuticos. Una posible alternativa al uso de químicos con alta toxicidad es el uso de productos naturales con propiedades antimicrobianas como el eugenol, el timol y la vainillina. Utilizando estos compuestos hemos llevado a cabo un estudio toxicológico en células dianas de la infección por CMV en cultivo (ARPE-19 y MRC-5), así como un estudio de su actividad antiviral frente a CMV utilizando microscopía de fluorescencia. Los resultados obtenidos mostraron que el compuesto más citotóxico es el eugenol, seguido del timol y por último la vainillina con una citotoxicidad prácticamente nula. En cuanto a su capacidad para inhibir la infección por CMV en células en cultivo, destacan de nuevo el eugenol y el timol, en rangos de concentraciones menores a los considerados citotóxicos. Por tanto, los compuestos eugenol y timol podrían constituir buenas alternativas de tratamiento frente a los fármacos disponibles.

Financing: Estéfani García Ríos es beneficiaria de un contrato posdoctoral Sara Borrell del Instituto de Salud Carlos III

## Historia, azar y selección natural en la evolución de la resistencia a antibióticos

**Alfonso Santos Lopez**<sup>1,2</sup>, Christopher W. Marshall<sup>2,4</sup>, Allison L. Welp<sup>2</sup>, Caroline Turner<sup>2,5</sup>, Javier Rasero<sup>3</sup>, Vaughn S. Cooper<sup>2</sup>

(1) Hospital Universitario Ramón y Cajal, Microbiología, Carretera de Colmenar Viejo, Km9, Madrid, España

(2) Department of Microbiology and Molecular Genetics, and Center for Evolutionary Biology and Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, USA.

(3) Department of Psychology, Carnegie Mellon University, Pittsburgh, Pennsylvania, USA.

(4) Department of Biological Sciences, Marquette University, Milwaukee, Wisconsin, USA

(5) Current Address: Department of Biology, Loyola University Chicago, Chicago, Illinois, USA.

Como cualquier otro rasgo evolutivo, la resistencia a antibióticos está determinada por el papel de las fuerzas evolutivas que dirigen y limitan la evolución: la historia, el azar y la selección natural. En este trabajo, diseñamos experimentos de evolución *in vitro* para determinar y cuantificar los efectos del azar, la historia y la selección natural en la resistencia a antibióticos. La historia previa la establecimos propagando en medio líquido o en biofilms el patógeno *Acinetobacter baumannii* en presencia de ciprofloxacina. Para estudiar el papel de la selección natural, seleccionamos 6 clones resistentes a ciprofloxacina (3 propagados planktonicamente y 3 propagados en biofilms) con perfiles genéticos y fenotípicos únicos y los propagamos durante 80 generaciones en concentraciones crecientes de los antibióticos beta-lactámicos ceftazidima e imipenem. El papel del azar aparece en este experimento mediante la aparición de mutaciones en las diferentes réplicas propagadas. Las diferencias genéticas y fenotípicas mostradas por los seis clones se redujeron tras la exposición a los antibióticos beta-lactámicos. Todas las poblaciones expuestas a ceftazidima adquirieron mutaciones en *ftsI* y 17/18 de las expuestas a imipenem adquirieron mutaciones en la bomba de eflujo *adeB*. Sin embargo, la historia evolutiva produjo importantes contingencias. La selección previa en biofilms limitó la resistencia adquirida a los antibióticos beta-lactámicos y condujo una reversión frecuente de la resistencia previa a ciprofloxacina. Esta investigación demuestra que a pesar de las fuertes presiones selectivas que imponen los antibióticos que conducen a mutaciones paralelas, la historia juega un papel fundamental en la evolución de la resistencia a antibióticos.

Financing: NIH-U01AI124302 H2020-MSCA-IF-2019, 895671

### Concentraciones subinhibitorias de antimicrobianos modulan la actividad de los promotores de genes de la Resistance-Nodulation-Division en *Acinetobacter baumannii*

Sonia Prieto-Martin Gil<sup>1</sup>, Mireia López-Siles<sup>1</sup>, Ana Tajuelo<sup>1</sup>, Michael J. McConnell<sup>1</sup>

(1) Instituto de Salud Carlos III, Laboratorio de infecciones intrahospitalarias, Centro Nacional de Microbiología, Carretera Majadahondo-Pozuelo, km 2, Majadahonda, España

Las bombas de expulsión contribuyen a la resistencia a múltiples antimicrobianos en *Acinetobacter baumannii* debido a su capacidad para expulsar una amplia variedad de compuestos no relacionados estructuralmente. El objetivo de este estudio es caracterizar el efecto de concentraciones subinhibitorias de antibióticos y desinfectantes clínicamente relevantes sobre la actividad de los promotores de algunos miembros de la familia Resistance-Nodulation-Division (RND) en *A.baumannii*. Se clonaron las regiones del promotor de las bombas de expulsión AdeABC, AdeFGH y AdeIJK y del sistema regulador AdeRS de tres cepas diferentes de *A.baumannii* en un sistema reportero de luciferasa (pLPV1Z). La actividad de los promotores se evaluó cualitativa y cuantitativamente en cultivos en fase exponencial y estacionaria tras la exposición a concentraciones subinhibitorias de rifampicina, meropenem, tigeciclina, colistina, etanol y clorhexidina. Las concentraciones subinhibitorias de los compuestos probados tuvieron efectos variables sobre la actividad del promotor en función de la cepa, el compuesto probado y de la fase de crecimiento. Los cambios en fold-change en la actividad del promotor de AdeABC oscilaron entre 1,97 y 113,7, en AdeFGH entre -5,6 y 1,13, en AdeIJK entre -2,5 y 2, y en AdeRS entre -36,2 y -1,32. En conjunto, estos resultados indican que concentraciones subinhibitorias de antibióticos y desinfectantes clínicamente relevantes afectan a la actividad de los promotores de algunos miembros de la familia RND en *A.baumannii* de forma dependiente de la cepa y de la fase de crecimiento. Estos resultados pueden tener importantes implicaciones para el tratamiento de las infecciones causadas por este patógeno.

Financing: MLS-Programa Sara Borrell (ISCIII), AT-Programa de Garantía Juvenil (CAM).

## Estudio sobre la transmisión del plásmido pOXA-48 presente en el intestino de pacientes hospitalizados.

Ricardo León-Sampedro<sup>2</sup>, **Javier De la Fuente**<sup>1</sup>, Cristina Díaz-Agero<sup>3</sup>, Jerónimo Rodríguez-Beltrán<sup>3</sup>, Thomas Crellen<sup>4</sup>, Patrick Musicha<sup>4</sup>, Marta Hernández-García<sup>3</sup>, Carmen de la Vega<sup>3</sup>, Nieves López-Fresneña<sup>3</sup>, Patricia Ruiz-Garbajosa<sup>3</sup>, Rafael Cantón<sup>3</sup>, Ben S. Cooper<sup>4</sup>, Álvaro San Millán<sup>1</sup>

(1) Centro Nacional de Biotecnología CNB-CSIC, Calle Darwin, 3, 28049 Madrid (Cantoblanco-UAB), Madrid, Spain

(2) ETH Zurich, Department of Environmental Systems Science,, Institute of Integrative Biology,, Zurich, Switzerland

(3) Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

(4) Mahidol-Oxford Tropical Medicine Research, Mahidol University, Faculty of Tropical Medicine, Bangkok,, Thailand.

La resistencia a antibióticos es especialmente preocupante en los hospitales, donde las infecciones producidas por patógenos nosocomiales pueden aumentar la mortalidad y los costes asociados al tratamiento de los pacientes críticos. Uno de los grupos de mayor relevancia dentro de estos patógenos nosocomiales son las enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC), debido a que producen enzimas capaces de degradar antibióticos carbapenémicos utilizados como última línea terapéutica. La epidemiología de estas está regida por dos procesos: (i) la diseminación de clones EPC entre pacientes y (ii) la transferencia de plásmidos con genes de carbapenemasas entre enterobacterias de un mismo paciente. En este trabajo, se han combinado modelos mecanísticos con datos epidemiológicos de más de 9000 pacientes y los datos de secuenciación de 250 enterobacterias aisladas en el hospital durante un período de 2 años. El objetivo ha sido caracterizar las rutas de transmisión de la resistencia. Los resultados revelan eventos frecuentes de transmisión de clones de alto riesgo clínico (principalmente *Klebsiella pneumoniae* y esporádicamente *Escherichia coli*). También se identificaron ciertos lugares del hospital, como servicios específicos o habitaciones donde hubo una diseminación de dichos clones. Además, gracias a los datos de secuenciación se identificaron eventos de transferencia horizontal en el intestino de los pacientes, sugiriendo que estos eventos son habituales en la diseminación del gen de resistencia y abriendo la puerta a nuevas estrategias de intervención para controlar la diseminación de las EPC.

**Microorganismos Patógenos**  
**E-poster**

**Galleria mellonella como modelo de la interacción patógeno-huésped de Brucella**

**Aitor Elizalde-Bielsa**<sup>1,2</sup>, Maite Loperena-Barber<sup>1,2</sup>, Amaia Zúñiga-Ripa<sup>1,2</sup>, Raquel Conde-Álvarez<sup>1,2</sup>  
(1) Universidad de Navarra, Dpto. Microbiología y Parasitología, Pamplona, España  
(2) Instituto de Salud Tropical Universidad de Navarra (ISTUN)

La brucelosis es una enfermedad zoonótica distribuida mundialmente causada por bacterias del género *Brucella*. Estas bacterias Gram-negativas desarrollan una infección persistente y una enfermedad crónica gracias a modificaciones, entre ellas en su lipopolisacárido, que les permiten desarrollar una estrategia silenciosa que impide una activación temprana de la inmunidad innata, permitiendo así la persistencia bacteriana. En este contexto, se explora el modelo de *Galleria mellonella* como un modelo animal no mamífero muy interesante para el estudio de la interacción entre *Brucella* y la inmunidad innata. Las larvas de *G. mellonella* constituyen un modelo animal invertebrado en auge que está siendo cada vez más empleado en investigación biomédica. Al tratarse de un insecto, la inmunidad de *G. mellonella* comprende únicamente mecanismos innatos que funcionan conjuntamente para armar una respuesta efectiva contra los patógenos. En este trabajo, mostramos que *Brucella* también es capaz de impedir un reconocimiento inicial efectivo por parte de la inmunidad innata de *Galleria* debido a, entre otras, las ya descritas particulares propiedades del lipopolisacárido de *Brucella*. Como consecuencia, *Brucella* es capaz de multiplicarse en el interior de las larvas y de establecer una infección persistente. Por estos motivos, presentamos *G. mellonella* como un modelo alternativo muy interesante para estudiar la interacción patógeno-huésped de *Brucella* y proponemos nuevos experimentos para expandir el alcance de este prometedor modelo para la investigación en brucelosis.

Financing: Este proyecto ha sido apoyado por benefactores del Instituto de Salud Tropical Universidad de Navarra (ISTUN) y el MINECO (PID2019-107601RA-C32).

## Estudio de las diferencias entre dos brotes de tuberculosis usando secuenciación genómica

**Jessica Comín Polo**<sup>1</sup>, Sofía Samper Blasco<sup>1,2,3</sup>

(1) Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Calle de San Juan Bosco, 13, 50009, Zaragoza, España

(2) Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón, España

(3) Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Respiratorias (ciberes), España

Dos brotes de tuberculosis de características epidemiológicas muy diferentes fueron estudiados utilizando la secuenciación genómica para intentar elucidar las particularidades moleculares de las cepas responsables y la posible cadena de transmisión. El brote ara217 se caracterizó por una transmisión rápida, ya que afectó a 14 personas en cuatro años, centrado en un ambiente familiar y escolar, y en el que se descubrió un superdiseminador que contagió a la mayoría de casos. Por otro lado, el brote ara50, uno de los brotes más grandes de Aragón, estuvo circulando más de 25 años y afectó a un alto porcentaje de personas vulnerables (VIH+, drogadictos, indigentes y prisioneros). En ambos casos, las cepas causantes fueron del linaje 4, el prioritario en nuestra población, y presentaron diferentes SNPs en genes considerados factores de virulencia (7 en ara217 y 10 en ara50), así como en genes relacionados con algún aspecto de la infección (12 SNPs en ara217 y 3 en ara50). Ambas cepas tenían un SNP en el gen *mmaA4*, implicado en la modificación de ácidos micólicos, y por tanto en virulencia. La construcción del dendrograma permitió identificar diferentes sub-clusters para el ara50, entre ellos uno que agrupaba a 10 individuos cuyos aislados habían ganado un nuevo SNP que podría ser la causa de la expansión de esta variante por encontrarse en un gen implicado en la entrada en el macrófago. Ambas cepas mostraron eficacia en latencia, uno de los aspectos que dificulta trazar la cadena de transmisión en los brotes de tuberculosis.



### Eficacia de un purificador HEPA en la eliminación del SARS-CoV-2 del aire

**Susana Seseña Prieto**<sup>1</sup>, María Rodríguez Pérez<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> de los Llanos Palop Herreros<sup>1</sup>, Ana Rodríguez Cervantes<sup>3</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avda Calos III s/n, Toledo, España

(2) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Inorgánica, Orgánica y Bioquímica, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avda Calos III s/n, Toledo, España

(3) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avda Calos III s/n, Toledo, España

La COVID-19 es la enfermedad infecciosa responsable de la pandemia en la que nos encontramos, cuyo agente etiológico es un coronavirus de ARN monocatenario de sentido positivo denominado SARS-CoV-2. La transmisión ocurre por tres vías principales: 1) contacto entre personas, mediante gotitas de Pflügge o por contacto directo, 2) contacto con objetos y superficies contaminados, 3) aerosoles que contienen partículas víricas viables, siendo esta la vía predominante en espacios cerrados y mal ventilados. La ventilación de espacios interiores puede ser natural o mecánica y, cuando no existe garantía de que esta alcanza un nivel adecuado, es recomendable el uso de purificadores de aire. De los modelos disponibles en el mercado, aquellos con filtros HEPA son los más utilizados, pero cabría preguntarse ¿cuál es su eficacia en la eliminación del virus?. Para dar respuesta a esta pregunta, se ha llevado a cabo la optimización de un método para la detección del virus en el aire, utilizando un captador MD8 Airport (Sartorius) con filtros de gelatina y el posterior análisis de su ARN mediante q-PCR. Posteriormente, y para determinar la eficacia de uno de estos purificadores, se ha llevado a cabo un estudio en espacios interiores ocupados por enfermos sintomáticos de COVID en los que se tomaron muestras de aire antes y después de la utilización del purificador. Los resultados indican que: 1) el protocolo de análisis desarrollado es adecuado y 2) el uso del purificador tiene una eficacia de eliminación de partículas víricas en torno al 80%.

## Monitoring Gene Expression during a *Galleria mellonella* Bacterial Infection

Laura Moya Andérico<sup>1</sup>, Joana Admella<sup>1</sup>, Rodrigo Fernandes<sup>1</sup>, **Eduard Torrents Serra**<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Bioingeniería de Cataluña (IBEC), Bacterial Infections and antimicrobial therapies (BIAT), Baldiri Reixac 15-21. Barcelona, España.

(2) Universidad de Barcelona. Departamento de Genética, Microbiología y Estadística. Av. Diagonal 645. Barcelona. España.

*Galleria mellonella* larvae are an alternative in vivo model that has been extensively used to study the virulence and pathogenicity of different bacteria due to its practicality and lack of ethical constraints. However, the larvae possess intrinsic autofluorescence that obstructs the use of fluorescent proteins to study bacterial infections, hence better methodologies are needed. Here, we report the construction of a promoter probe vector with bioluminescence expression as well as the optimization of a total bacterial RNA extraction protocol to enhance the monitoring of in vivo infections. By employing the vector to construct different gene promoter fusions, variable gene expression levels were efficiently measured in *G. mellonella* larvae at various time points during the course of infection and without much manipulation of the larvae. Additionally, our optimized RNA extraction protocol facilitates the study of transcriptional gene levels during an in vivo infection. The proposed methodologies will greatly benefit bacterial infection studies as they can contribute to a better understanding of the in vivo infection processes and pathogen–mammalian host interactions (1). Ref: Moya-Andérico, L., Admella, J., Fernandes, R. and Torrents, E. (2020). Monitoring gene expression during *Galleria mellonella* bacterial infection. *Microorganisms*.8:1798.

Financing: MINECO (RTI2018-098573-B-100), Generalitat de Catalunya (2017SGR-1079), Catalan Cystic Fibrosis association and Obra Social "La Caixa". L.M.-A support (2017 FI\_B2 00830).

## Estudio de la incidencia clínica de acinetobacter baumannii multi-resistente en la población de pacientes del complejo hospitalario de Jaén

Laura Morales<sup>1</sup>, **Antonio Cobo Molinos**<sup>2</sup>, Carolina Roldán<sup>3</sup>, Beatriz Plata<sup>3</sup>, Antonio Gálvez<sup>1</sup>, Elena Ortega<sup>1</sup>

(1) Universidad de Jaén, Ciencias de la Salud, Ciencias Experimentales, Campus Las Lagunillas s/n CP23071, Jaén, España

(2) Universidad de Granada, Microbiología, Farmacia, Campus Universitario La Cartuja s/n CP 18011, Granada, España

(3) Complejo Hospitalario de Jaén, U.G.C. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Av. del Ejército Español, 10, 23007, Jaén, España

El aumento progresivo de microorganismos multi-resistentes en el ámbito hospitalario ha desencadenado actuaciones de control para frenar este problemático incremento, que compromete de manera directa a la medicina moderna. El objetivo de este trabajo es estudiar la incidencia de multi-resistencias en el género *Acinetobacter* a nivel clínico. Las cepas de *Acinetobacter baumannii* estudiadas se aislaron a partir de diferentes muestras clínicas de pacientes, identificándose mediante espectrometría de masas y analizando su multi-resistencia mediante antibiograma. De un total de 197 muestras analizadas, 34 correspondieron a la especie *Acinetobacter baumannii*, de las que 31 fueron seleccionadas para este trabajo por su especial resistencia a antibióticos, entre los que destacan Ticarcilina, Piperacilina/Tazobactam, Ceftacidima, Cefotaxima, Cefepime, Aztreonam, Ciprofloxacino y Levofloxacino. En cuanto a la incidencia en base al sexo del paciente, el 20,6% eran mujeres, mientras que el porcentaje más alto (79,4%) eran varones. Por franja de edad, el 71,4% de las mujeres que presentan a este microorganismo tienen un rango de edad de 31-65 años. En el caso de los hombres, el rango predominante es entre 31-65 años, seguido muy de cerca por el rango de 66-80 años. En cuanto al tipo de muestra en el que se ha aislado *Acinetobacter baumannii* multi-resistente, el mayoritario es el de aspirado, tanto bronquial como traqueal, seguido de orina y de sangre. Se detecta por tanto una elevada prevalencia de este microorganismo y en especial de estas cepas multi-resistentes, lo que apoya la urgente necesidad de describir nuevos antibióticos más eficaces para combatir a estos microorganismos.

Financing: Financiado por la Universidad de Jaén (ref. RS-AGR230)

## Mejora para tratar biofilm mixto de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* producido en heridas: colocación y dispersión mediante nanopartículas funcionalizadas.

**Alba Rubio-Canalejas**<sup>1</sup>, Sara Herbera<sup>1</sup>, Aida Baelo<sup>1</sup>, Nuria Blanco-Cabra<sup>1</sup>, Marija Vukomanovic<sup>2</sup>, Eduard Torrents<sup>1,3</sup>

(1) Instituto de Bioingeniería de Cataluña (IBEC), Bacterial Infections and antimicrobial therapies (BIAT), Baldiri Reixac 15-21. Barcelona, España.

(2) Institute Jozef Stefan. Advanced Materials Department, Jamova 39, Ljubljana, Slovenia.

(3) Universidad de Barcelona. Departamento de Genética, Microbiología y Estadística. Av. Diagonal 645. Barcelona. España.

Las heridas crónicas son un grave problema sanitario y económico en todo el mundo. Estas heridas están asociadas con infecciones crónicas polimicrobianas, siendo *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* dos de los patógenos oportunistas más comunes en ellas. La comunidad microbiana en las heridas está embebida dentro de una biopelícula (biofilm) formada por la sustancia polimérica extracelular (EPS). La EPS es una red formada por polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN extracelular (eDNA), que dificulta el transporte de antibióticos dentro del biofilm, siendo común la presencia de microorganismos con tolerancias antimicrobianas. Debido a esto, es necesario investigar en terapias que mejoren la penetrabilidad y eficacia de los antibióticos. En este contexto, nuestro objetivo principal es estudiar las interacciones y la colocación de *P. aeruginosa* y *S. aureus* dentro del biofilm para comprender su relación sinérgica. Para ello utilizamos un modelo optimizado de herida in vitro que permite el cocultivo de *P. aeruginosa* y *S. aureus* similar al observado in vivo. Con este modelo analizamos el efecto de diferentes estrategias de dispersión de biopelículas, como enzimas libres y funcionalizadas en nanopartículas, aplicadas junto con terapias antimicrobianas. Los ensayos antimicrobianos muestran que el tratamiento con nanopartículas de DNasa tiene una potente actividad antibiofilm; y con  $\alpha$ -amilasa y celulasa también, pero en menor grado. Por último, las imágenes de microscopía confocal (CLSM) proponen un modelo de colocación tridimensional que consiste en agregados bacterianos dentro de la estructura del biofilm, lo que podría estar asociado con la baja eficacia de los tratamientos antibiofilm sobre las bacterias.

Financing: MINECO (RTI2018-098573-B-100), Generalitat de Catalunya (2017SGR-1079), Catalan Cystic Fibrosis association and Obra Social "La Caixa". L.M.-A support (2017 FI\_B2 00830).

### Quimioterapia dirigida combinada con hipertermia mediada por el nanoensamblaje AS-48-BMNPs como nueva estrategia para el tratamiento local de enfermedades infecciosas

**Ylenia Jabalera**<sup>1</sup>, Manuel Montalban-Lopez<sup>1</sup>, Juan Jose Vinuesa-Rodriguez<sup>1</sup>, Guillermo R. Iglesias<sup>2</sup>, Mercedes Maqueda<sup>1</sup>, Concepcion Jimenez-Lopez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Granada, España

(2) Universidad de Granada, Departamento de Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Granada, España

La quimioterapia dirigida se ha posicionado como una novedosa alternativa al uso de tratamientos tradicionales frente a infecciones, ya que permite tanto la administración del fármaco en el sitio diana, como la posibilidad de aplicarlo en combinación con otras terapias. Todo ello, podría evitar la generación de resistencias, así como permitir un aumento local de las dosis de la molécula antibacteriana en el sitio diana y, por tanto, una mayor eficacia. En este estudio, se ha diseñado y caracterizado una nueva nanoformulación compuesta por el péptido antimicrobiano AS-48 y las nanopartículas magnéticas biomiméticas (BMNPs) mediadas por MamC, y se ha evaluado su efecto antibacteriano, en combinación (o no) con el tratamiento de hipertermia magnética. Así, se llevó a cabo la caracterización de la unión de AS-48 en los nanoensamblajes y la evaluación de su efecto contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Los resultados obtenidos demuestran que el nanoensamblaje AS-48-BMNPs presenta un fuerte efecto bactericida sobre las bacterias Gram-positivas, pero, sorprendentemente, también sobre *Escherichia coli* y, en combinación con el tratamiento de hipertermia magnética, sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Además, se analizó el mecanismo de acción del nanoensamblaje, revelando un efecto potenciador en la liberación del fármaco causado por la suma del pH ácido localizado en la superficie bacteriana y la hipertermia magnética. Este estudio supone un avance en el área a través del diseño de un nanoensamblaje para su potencial aplicación en el tratamiento local de infecciones, el cual presenta un potente efecto antibacteriano de amplio alcance.

Financing: MINECO (CGL2016-76723). Investigación en Salud ISCIII (PI20/01658). Programa Operativo FEDER-2014-2020 (A1-FQM-341-UGR18, C-FQM-497-UGR18, A-BIO-376-UGR18). UGR (PPJIB2019-01). FPU2016 (ref. FPU16\_04580). FEMS (FEMS-GO-2020-201).

## Tensioactivos sostenibles derivados de arginina: actividad antimicrobiana y sinérgica con antibióticos para su aplicación biomédica

**Maribel Farfán**<sup>1,2</sup>, Fernando Sapena<sup>1</sup>, Lourdes Pérez<sup>3</sup>, Aurora Pinazo<sup>3</sup>, Ana M. Marqués<sup>1</sup>

(1) Universidad de Barcelona, Sección de Microbiología, Departamento de Biología, Sanidad y Medio Ambiente, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona

(2) Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio), Universidad de Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona

(3) Instituto de Química Avanzada de Cataluña (IQAC) - CSIC, Departamento de Tensioactivos y Nanobiotecnología, C/Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un problema importante de salud mundial, impulsando la búsqueda de nuevos compuestos antimicrobianos y la aplicación de estrategias para combatirla, como el uso de adyuvantes de antibióticos. En este estudio se ha determinado la actividad antimicrobiana y sinérgica de tres tensioactivos catiónicos derivados de arginina, obtenidos por química verde: LAM (N $\alpha$ -Lauroil-L-argininametiléster); C3(CA)2 (N $\alpha$ ,N $\omega$ -bis(N $\alpha$ -caproilarginina) $\alpha$ , $\omega$ -propildiamida) y LANHC6 (N $\alpha$ -Lauroil-L-arginina hexil amida). Para cada tensioactivo se analizó su actividad antimicrobiana, determinando la concentración mínima inhibitoria (CMI) por el método de microdilución en caldo y la concentración mínima bactericida (CMB). Para determinar su papel como adyuvante de antibióticos, se estudiaron combinaciones sinérgicas in vitro con 4 antibióticos de uso clínico (amikacina, ampicilina, ciprofloxacina, tetraciclina). Primero se realizó un cribaje de efecto sinérgico con una concentración fija del tensioactivo frente a los antibióticos ensayados. Con las interacciones más prometedoras se realizó la metodología del tablero (checkerboard test), cruzando múltiples concentraciones de antibiótico y tensioactivo. Todos los ensayos se realizaron frente a dos cepas control (*Staphylococcus aureus* ATCC9144, *Escherichia coli* ATCC25922) y dos cepas resistentes (*S. aureus* MRSA ATCC43300, *E. coli* ESBL z-6949454). En los resultados preliminares obtenidos, destaca la actividad antimicrobiana del tensioactivo C3(CA)2 frente a bacterias Gram positivas y negativas, incluyendo cepas resistentes, y del tensioactivo LANHC6 frente a bacterias Gram positivas. Hasta el momento se han analizado 72 combinaciones de los 3 tensioactivos con los antibióticos del estudio (24 cribajes/producto) y las posibles sinergias detectadas se validarán con curvas de muerte.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto CTQ 2017-88948-P) y fondos FEDER



### **Mutaciones en la subunidad beta de la RNA polimerasa disminuyen la motilidad, patogenicidad y sensibilidad a cefalosporinas de *Acinetobacter baumannii*.**

Marc Gaona<sup>1</sup>, Jordi Corral<sup>1</sup>, Jordi Barbé<sup>1</sup>, **Jesús Aranda<sup>1</sup>**

(1) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Genètica i de Microbiologia. Grup de Microbiologia Molecular, Biociències

*Acinetobacter baumannii* es un patógeno gramnegativo que provoca infecciones hospitalarias y que posee una gran capacidad de adquirir resistencias a una amplia variedad de antimicrobianos. A pesar de que por la ausencia de flagelos el nombre de su género proviene del griego "akinetos" (inmóvil), existen cepas con distintas capacidades de movimiento: (i) twitching, impulsado por la extensión adhesión y retracción del pili de tipo IV; (ii) motilidad asociada a superficie, un movimiento independiente de apéndices y poco caracterizado; (iii) ambos tipos de motilidad; y (iv) inmóviles. En este trabajo, y a partir de una cepa clínica capaz de llevar a cabo los dos tipos de motilidad, se ha aislado un mutante espontáneo resistente a rifampicina que presenta la mutación R538H en RpoB, la subunidad beta de la RNA polimerasa. Esta mutación implica la pérdida de las dos formas de movimiento, además de reducir la patogenicidad y de aumentar la resistencia a cefalosporinas. A partir de estudios transcripcionales llevados a cabo con este mutante, se han seleccionado genes para la construcción de mutantes deficientes que demuestran una relación directa del pili de tipo IV y de transportadores de membrana con el twitching y la motilidad asociada a superficie, respectivamente. Además, estos estudios transcripcionales han puesto de manifiesto un descenso de la expresión de genes implicados en la síntesis de pared y división celular, que podrían explicar la resistencia a cefalosporinas, junto con una mayor expresión del activador SoxR, implicado en la expresión de bombas de expulsión de betalactámicos como las cefalosporinas.

Financing: Ministerio de Economía y Competitividad (BIO2016-77011-R).

## **Vibrio neptunius produce simultáneamente los sideróforos anfibactina y piscibactina, que actúan como factor de virulencia en moluscos bivalvos**

**Nestor Fabian Galvis Serrano**<sup>1</sup>, Juan L Barja<sup>1</sup>, Manolo L Lemos<sup>1</sup>, Miguel Balado<sup>1</sup>

(1) Universidad Santiago de Compostela, Microbiología y Parasitología, Instituto de Acuicultura y CIBUS, Biología, Universidad de Santiago de Compostela, 15705, Santiago de Compostela, España

*Vibrio neptunius* es una bacteria que habita en ambientes marinos y es un patógeno para los moluscos bivalvos. Es responsable de episodios de mortalidad de larvas y juveniles en los cultivos de almejas y ostras, afectando la producción y generando importantes pérdidas económicas. Sin embargo, las bases de patogenicidad de *V. neptunius* han sido poco estudiadas hasta ahora. En este trabajo identificamos in silico una región presente en *V. neptunius* que posiblemente codifica el sideróforo Piscibactina, como sistema de captación de hierro. En un trabajo anterior habíamos identificado y caracterizado la producción y transporte del sideróforo anfibactina en *V. neptunius*. La construcción de mutantes de la cepa *V. neptunius* PP-145.98 para la síntesis de anfibactina y piscibactina evidenció que la producción de sideróforos está regulada en respuesta a los niveles de hierro; además se determinó la importancia de la producción de estos sideróforos en la virulencia de *V. neptunius* mediante un bioensayo en almejas. Los resultados sugieren que la producción y transporte de los sideróforos anfibactina y piscibactina son necesarios para la plena virulencia del patógeno de bivalvos *V. neptunius*.

Financing: Fabián Galvis: Colciencias y el gobierno de Norte de Santander, Colombia; 'Pasaporte a la Ciencia' el Icetex, Colombia.

### Actividad antifúngica de moléculas dendríticas frente a biopelículas de *Candida glabrata* y evaluación en combinación con anfotericina.

Alba Torres-Cano<sup>1</sup>, Alba Elías-Rodríguez<sup>1</sup>, Natalia Gómez-Casanova<sup>1</sup>, Tania Lozano-Cruz<sup>2,3,4</sup>, Juan Soliveri<sup>1</sup>, Paula Ortega<sup>2,3,4</sup>, Rafael Gómez<sup>2,3,4</sup>, José Luis Copa-Patiño<sup>1</sup>, **Irene Heredero-Bermejo**<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alcalá, Departamento de Biomedicina y Biotecnología, Facultad de Farmacia, Campus científico tecnológico. Carretera Madrid-Barcelona km 33.100, Alcalá de Henares, España

(2) Universidad de Alcalá, Departamento de Química Orgánica e Inorgánica. Instituto de Investigación en Química, Andrés M. del Río, (IQAR), Facultad de Farmacia, Campus científico tecnológico. Carretera Madrid-Barcelona km 33.100, Alcalá de Henares, España

(3) Centro de Investigación en Red sobre Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)., Madrid, España

(4) Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Carretera Colmenar Viejo, Km 9, 100, 28034, Madrid, España

*Candida glabrata* es una de las especies del género *Candida* con mayor prevalencia en la actualidad, dependiendo de la localización geográfica. Tiene la capacidad de producir biopelículas, lo que le confiere una mayor resistencia a tratamientos antifúngicos clásicos. Por ello, es necesaria la búsqueda de nuevas moléculas con actividad antifúngica para el control y tratamiento de las infecciones producidas por estos patógenos, en especial en personas hospitalizadas e inmunodeprimidas. En este sentido, los compuestos dendríticos han surgido como una alternativa prometedora. En este trabajo se llevó a cabo el estudio de la actividad antifúngica de dos moléculas dendríticas, BDTL056 y BDTL059, frente a *C. glabrata*. Se evaluó su actividad para inhibir la formación de biopelículas y para erradicar la viabilidad de biopelículas ya formadas. Además, los dendrones se estudiaron en combinación con anfotericina, antifúngico de referencia. La citotoxicidad se evaluó en una línea celular humana y las alteraciones se observaron mediante microscopía. Los resultados mostraron que ambos compuestos inhibían la formación de biopelículas y tuvieron una concentración mínima de inhibición de biopelícula (CMIB) de 8 mg/L y una concentración mínima de daño de la biopelícula ya formada (CMDB) de 32 mg/L. El estudio en combinación con anfotericina mostró que había efecto sinérgico para ambos compuestos, consiguiéndose reducir las concentraciones de ambos y, en consecuencia, su citotoxicidad. Por ello, concluimos que las moléculas dendríticas podrían ser una alternativa al tratamiento y prevención de *C. glabrata*, tanto de forma individual como en combinación con antifúngicos de referencia.

Financing: Consorcio NANODENDMEDII-CM ref. B2017/BMD-3703 (Comunidad de Madrid-CAM), CCG19/CCS-022 (Universidad de Alcalá), CM/JIN/2019-020 (Comunidad de Madrid-CAM), CTQ2017-86224-P (MINECO)

## Dendrímeros zwitteriónicos capaces de prevenir la formación de biopelículas

**Natalia Gómez-Casanova**<sup>1</sup>, Ángela Martín-Serrano<sup>2</sup>, Juan Soliveri<sup>1</sup>, Francisco Javier de la Mata<sup>2,3,4</sup>, José Luis Copa-Patiño<sup>1</sup>, Irene Heredero-Bermejo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alcalá, Departamento de Biomedicina y Biotecnología, Facultad de Farmacia, Campus científico tecnológico. Carretera Madrid-Barcelona km 33.100, Alcalá de Henares, España

(2) Universidad de Alcalá, Departamento de Química Orgánica e Inorgánica. Instituto de Investigación en Química, Andrés M. del Río, (IQAR), Facultad de Farmacia, Campus científico tecnológico. Carretera Madrid-Barcelona km 33.100, Alcalá de Henares, España

(3) Centro de Investigación en Red sobre Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN). Madrid, España

(4) Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Carretera Colmenar Viejo, Km 9, 100, 28034, Madrid, España

Las biopelículas son comunidades formadas por microorganismos capaces de adherirse a las superficies, incluyendo hongos y bacterias. Estas estructuras confieren a los patógenos protección y resistencia frente a la respuesta del sistema inmune y frente a la acción de antifúngicos y antibacterianos. Para evitar la formación de biopelículas, han surgido distintas terapias antimicrobianas antiadhesivas. En este sentido, proponemos el uso de dendrímeros zwitteriónicos como terapia antiadhesiva. Los compuestos zwitteriónicos han sido ampliamente utilizados para aumentar la biocompatibilidad de los materiales y representan una estrategia prometedora para combatir a los microorganismos resistentes. Nuestro estudio muestra la síntesis y caracterización de cuatro nuevos compuestos dendrímeros zwitteriónicos (Generación 0, 1, 2 y 3). Su actividad antiadhesiva y antimicrobiana se evaluó en *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. La viabilidad se determinó utilizando el método colorimétrico basado en resazurina y su comportamiento se observó por microscopía confocal. Los resultados mostraron que los compuestos no mostraron actividad citotóxica ni hemolítica. Además, los dendrímeros G2 y G3 fueron los que tuvieron una mayor actividad inhibiendo la formación de biopelículas bacterianas, siendo el mejor compuesto el dendrímero G2. Por ello, se determinó que su actividad es dependiente de la generación. Estos resultados muestran el potencial de estos compuestos zwitteriónicos para la prevención de formación de biopelículas bacterianas. Por ello, la funcionalización de superficies y materiales con estos dendrímeros podría ser útil para el desarrollo de materiales biocompatibles en el campo de la biomedicina.

Financing: CCG20/CCS-013 (Universidad de Alcalá), CCG19/CCS-022 (Universidad de Alcalá), CM/JIN/2019-020 (Comunidad de Madrid-CAM), CTQ2017-86224-P (MINECO)

## Influencia de los inhibidores relebactam y captopril sobre la actividad de antibióticos carbapenémicos en enterobacterias productoras de carbapenemasas

Irene Pascual San Román<sup>1</sup>, Laura Pérez Martín<sup>1</sup>, Sofía Ramos Garrido<sup>1</sup>, Icíar Rodríguez-Avial Infante<sup>2</sup>, Esther Culebras López<sup>2</sup>, **M<sup>a</sup> José Valderrama Conde<sup>1</sup>**

(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, Biología, José Antonio Novais 12, Madrid, España

(2) Hospital Clínico San Carlos, Servicio de Microbiología, Plaza Cristo Rey, Madrid, España

Los antibióticos carbapénicos poseen un amplio espectro de actividad frente a las enterobacterias, aunque en los últimos años el número de microorganismos resistentes a este grupo de antibióticos ha ido en aumento. Como opciones terapéuticas actuales se han introducido a nivel clínico combinaciones de dos o tres carbapenémicos, así como asociación de éstos con inhibidores de carbapenemasas. Sin embargo, son escasos aún los estudios in vitro de estas asociaciones frente a cepas de enterobacterias productoras de carbapenemasas, que puedan dar soporte experimental a su uso clínico. En este trabajo se ha estudiado el efecto de tres carbapenémicos, solos o en combinación doble, frente a cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Citrobacter freundii* productoras de distintos tipos de carbapenemasas, así como en asociación con dos inhibidores, relebactam y captopril. Tanto las combinaciones como el efecto de los inhibidores fueron independientes de especie, pero sí guardaron relación con el tipo de carbapenemasa. Por una parte, se obtuvieron buenos resultados de sinergia entre Ertapenem+Imipenem y Ertapenem+Meropenem frente a cepas productoras de OXA y VIM. El inhibidor relebactam, en asociación con los tres carbapenémicos solos y en combinación, mostró un efecto inhibitorio significativo sobre las seríncarbapenemasas tipo KPC. Sin embargo, no se observó actividad sobre OXA ni las metalobetalactamasas VIM y NDM. Finalmente, se han obtenido resultados prometedores en los ensayos de captopril, un fármaco con actividad antihipertensiva, como inhibidor de metalobetalactamasas, restaurando la actividad de los carbapenémicos ensayados.

## Estudio de la biodiversidad y actividad antimicrobiana de microorganismos aislados en muestras de tierra.

**Antonio Tarín Pelló<sup>1</sup>**, Beatriz Suay Garcia<sup>2</sup>, María Teresa Pérez Gracia<sup>1</sup>

(1) Universidad CEU Cardenal Herrera, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Calle Santiago Ramón y Cajal, 20, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, España

(2) Universidad CEU Cardenal Herrera, Departamento de Matemáticas, Física y Ciencias Tecnológicas, Calle San Bartolomé 55, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, España

La resistencia antimicrobiana es hoy una de las mayores amenazas de salud pública a nivel mundial. Tanto es así que la OMS ha propuesto medidas para prevenir y controlar la propagación de bacterias resistentes, así como la investigación de nuevos antibacterianos. La biodiversidad microbiana presente en el suelo ha sido siempre considerada como una potencial fuente de antimicrobianos. El objetivo de este estudio fue aislar bacterias de muestras de suelo y ensayar su actividad antimicrobiana frente a estos siete microorganismos testigo *Pseudomonas aeruginosa* (CECT 110), *Escherichia coli* (CECT 4972), *Proteus mirabilis* (CECT 4168), *Enterococcus faecalis* (CECT 481), *Staphylococcus aureus* (CECT 239), *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) (CECT 5190) y *Candida albicans* (CECT 1394). La identificación de los microorganismos aislados se realizó mediante MALDI-TOF (espectrometría de masas). Se identificaron un total de 80 microorganismos que pertenecían a 19 especies bacterianas diferentes. El género más frecuentemente detectado fue *Bacillus* con un 87,5%. Otros géneros identificados fueron *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Brevundimonas* y *Pseudomonas*. Las cepas aisladas produjeron antibiosis frente a 4 de los 7 microorganismos testigo ensayados. *B. cereus* y *B. pumilus* fueron las especies que causaron la mayoría de los procesos de inhibición del crecimiento. El 48,33% de las antibiosis totales se produjeron frente al microorganismo testigo *S. aureus*. El potencial antibiótico mostrado por las bacterias aisladas en este estudio indica la importancia de realizar proyectos dirigidos a la búsqueda de nuevos antibióticos a partir de muestras de suelo para combatir la grave problemática mundial que son las resistencias antimicrobianas.

Financing: Financiación: FECYT (FCT-19-14737). Proyecto de Innovación y Mejora de la Calidad Docente CEU UCH (PI68B-SV-19-20). Proyecto CEU UCH (INDI20/38).



## El factor de transcripción BWC2 actúa como un regulador negativo en la formación de células titanes

Irene García Barbazán<sup>1</sup>, Rocío García Rodas<sup>1</sup>, Ainhize Curiel Iglesias<sup>1</sup>, Miquel Àngel Schikora Tamarit<sup>2</sup>, Toni Gabaldón<sup>2</sup>, Óscar Zaragoza<sup>1</sup>

(1) Instituto de Salud Carlos III, Laboratorio de Referencia de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Crta. Majadahonda-Pozuelo, Km2 Majadahonda 28220, Madrid, España

(2) Instituto de Investigación Biomédica (IRB) y Centro Nacional de Supercomputación (BSC-CNS), Genómica Comparativa, Jordi Girona, 29. 08034, Barcelona, España

*Cryptococcus neoformans* es una levadura que causa meningoencefalitis principalmente en pacientes VIH+. Su principal factor de virulencia es la cápsula de polisacárido, que tiene efectos deletéreos sobre la respuesta inmunitaria. Además, esta levadura puede aumentar de tamaño durante la infección, formando las denominadas células titanes. Estas células suponen un problema para el sistema inmune del hospedador. La formación de estas células depende del fondo genético. En este trabajo, hemos caracterizado diferentes cepas tipo (H99) procedentes de diferentes laboratorios y que tienen alta o baja capacidad de formar células titanes. Hemos comprobado tanto en ratones como en *Galleria mellonella* que la mayor producción de células titanes se correlaciona con una menor virulencia. Para encontrar genes involucrados en morfogénesis y virulencia, hemos llevado a cabo la secuenciación completa de los genomas de estas cepas e identificado mutaciones que producen cambios en el proteoma. Este abordaje ha revelado que la cepa con mayor capacidad de formar células titanes tiene una mutación en el gen BWC2, que es un factor de transcripción que regula la expresión de genes de apareamiento y virulencia en función de la presencia de luz. Para comprobar que la mutación encontrada en este gen participa en la regulación de células titanes, procedimos a delecionarlo en otro fondo genético y confirmamos que estos mutantes aumentan de manera significativa su capacidad de formar células titanes. Nuestros resultados por tanto confirman que el gen BWC2 actúa como un regulador negativo de la formación de células titanes en *C. neoformans*.

Financing: SAF2017-86912-R, PRE2018-083436

## Epidemiología de las infecciones gastrointestinales por salmonella no tifoideas en un hospital comarcal.

Leticia Armendariz Lopez<sup>1</sup>, Miriam Ostiz Llanos<sup>2</sup>

(1) Hospital Reina Sofía de Tudela, Servicio de Microbiología y Parasitología

(2) Hospital Reina Sofía de Tudela, Servicio de Aparato Digestivo

Se estudiaron aislamientos de Salmonella no tifoideas obtenidos en muestras de heces durante el período 2012-2020 en el Hospital Reina Sofía de Tudela. Se analizaron datos demográficos de los pacientes y distribución de los serotipos en función de los requerimientos de ingreso, grupos de edad. Los aislamientos correspondieron a 242 pacientes ingresados y 80 no ingresados con edad mediana (RIC) de 13 (3-59) y 6.5 (2-42.75) respectivamente. La distribución de los serotipos encontrados en pacientes no ingresados fue: S.Typhimurium 71.25%, S.Enteritidis (27.5), S.Bovismorbificans (1.25%). En pacientes ingresados la distribución de serotipos fue: S. Typhimurium 53.3%, S. Enteritidis 39,25%, S. Infantis 2.06%, S. Newport 1.65%, S. Altona 0.41%, S. Anatum 0.41%, S. Arizonae 0.41%, S. Cholerasuis 0.41%, S. Hadar 0.41%, S. Kentucky 0.41%, S. Mikawasima 0.41%, S. Montevideo 0.41%, S. Rissen 0.41%. El 53,7% de los casos se produjeron en pacientes <15 años, seguido del 29,5% en pacientes entre 15-65 años y 16,77% en pacientes mayores de 65 años. En el análisis de subgrupos, los pacientes mayores de 65 años tuvieron una proporción de ingresos significativamente superior al de los grupos de edad <15 años y de 15-65 años ( $p < 0.01$ ). No hubo diferencias significativas en la proporción de ingresos entre los grupos de edad <15 años y de 15-65 años ( $p = 0.86$ ).

### Evaluación del citómetro sysmex uf-5000 para diagnóstico de infección urinaria.

**Leticia Armendariz Lopez<sup>1</sup>**

(1) Hospital Reina Sofía de Tudela., Servicio de Microbiología y Parasitología

El diagnóstico de la infección urinaria supone una gran carga de trabajo para el laboratorio. El Sysmex UF-5000 (Sysmex España S.L) es un citómetro de flujo con fluorescencia que cuantifica elementos celulares y clasifica los microorganismos presentes en la muestra mediante el sistema Flag Gram. Su inmediatez lo hace un sistema idóneo para el cribado de siembra de urocultivos, disminuyendo la carga de trabajo. Para estudiar la correlación entre el sistema de clasificación bacteriana Flag Gram del UF-5000 y el resultado del urocultivo, así como establecer los puntos de corte de cribado más adecuados para nuestra población, se analizaron simultáneamente para UF-5000 y urocultivo 185 orinas recibidas en el Hospital Reina Sofía de Tudela. Se realizó un estudio de concordancia entre resultado del Flag de identificación bacteriana y el resultado del urocultivo. Se determinaron curvas ROC para calcular el punto de corte idóneo de cribado de valores bacterias y leucocitos para nuestra población. El índice de concordancia Kappa entre ambos métodos (urocultivo y citómetro) fue de 0,77 mostrando un grado de acuerdo excelente, permitiendo orientar el tratamiento antibiótico. Los datos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de los valores de Flag en comparación con el urocultivo fueron 78%, 85%, 82%, 81% respectivamente. El análisis de la curva ROC demostró que los valores más adecuados de cribado para nuestra población fueron 51 para el valor de bacterias (sensibilidad: 94,3% especificidad: 70,6%) y 33 (sensibilidad: 79% especificidad: 62%) para el valor de leucocitos.

## Impact of peptidoglycan recycling blockade and hyper-production of AmpC beta-lactamases on *Enterobacter cloacae* virulence

Carlos Juan Nicolau<sup>1</sup>, **Isabel María Barceló Munar**<sup>1</sup>, Marina Ramírez Cortés<sup>1</sup>, María Escobar Salom<sup>1</sup>, Elena Jordana Lluch<sup>1</sup>, Gabriel Torrens Ribot<sup>1</sup>, Antonio Oliver Palomo<sup>1</sup>

(1) Microbiology Department, University Hospital Son Espases-Health Research Institute of the Balearic Islands (IdISBa), Palma, Spain

**Introduction:** previously we showed that peptidoglycan recycling blockade combined with intrinsic/acquired beta-lactamases hyper-production cause a dramatic attenuation in *Pseudomonas aeruginosa* (PA) virulence. Here we sought to check if these observations are applicable to *Enterobacter cloacae* (EC), one of the main nosocomial pathogens. **Methods:** inactivation of *ampG* (permease essential for peptidoglycan recycling) was carried out in EC ATCC13047 strain, following published protocols. An spontaneous intrinsic AmpC beta-lactamase hyperproducer EC mutant (frameshift mutation in *ampD*, AmpC repressor that participates in peptidoglycan recycling) was obtained through culturing with cefotaxime 4mg/L. The multicopy plasmid pUCPAC-pa, containing the cloned PA *ampC*, was transformed into wildtype and *ampG*-defective EC strains. Infection through injection in *Galleria mellonella* larvae was performed with the different EC strains/dosages, monitoring mortality at 24/48/72/96h. Survival data were plotted using Kaplan-Meier method and analyzed through log-rank test. **Results:** *ampG* disruption didn't have significant effects over EC virulence, whereas production of PA AmpC in EC [pUCPAC-pa] entailed an statistically significant increase in larvae survival, more exaggerated in AmpG-defective background. For instance, after 96h of infection with 1E7 bacteria/larva, wildtype and *ampG*-defective strains caused ≈75% of deaths, whereas for pUCPAC-pa-harboring strains, larvae deaths were <40%. Intrinsic EC AmpC hyperproduction enabled by *ampD* inactivation also entailed a significant decrease in virulence (1E7 bacteria/96h: ≈50% larvae mortality). **Conclusions:** intrinsic/PA AmpC beta-lactamases hyperproduction entails a notable attenuation in EC virulence. A potential AmpC residual activity over peptidoglycan, driving to its degradation and consequent viability loss, could explain the obtained results, to which the peptidoglycan recycling impairment may contribute.

**Financing:** Work funded by Balearic Islands Government grant FPI/2206/2019 and Instituto de Salud Carlos III grants RD16/0016/0004, PI18/00076, PI18/00681 and FI19/00004.

## Susceptibilidad antimicrobiana y caracterización molecular de E.coli - BLEE aisladas de pacientes con ITU en el hospital transfronterizo de Cerdaña

Lorena Gaviria<sup>3</sup>, Carlos Azuaje<sup>3</sup>, Lourdes Montsant<sup>3</sup>, Enric Limón<sup>1,5</sup>, Juan P. Horcajada<sup>4</sup>, Miguel Viñas<sup>2</sup>, **Ester Fusté**<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Barcelona, Infermeria de Salud Publica, Salud Mental i Materno infantil, Medicina y Ciencias de la Salud, Pavelló Govern - Campus Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Espanya

(2) Universidad de Barcelona, Departamento de Patología y Terapéutica Experimental, Medicina y Ciencias de la Salud, Laboratori microbiologia 5203 - 5a planta - Pavelló Govern - Campus Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Espanya

(3) Hospital de Cerdanya, Cami d'Ur 31 Cp 17520 Puigcerda, Puigcerdà, España

(4) Hospital del Mar, Passeig marítim de la Barceloneta 25- 29, Barcelona, España

(5) Institut Català d'Oncologia/Hospital Duran i Reynals, Granvia de l'Hospitalet, 199-203, L'Hospitalet de Llobregat, España

La resistencia antimicrobiana causada por microorganismos productores de BLEE constituye un destacado problema de salud a nivel mundial, causando una elevada morbilidad/mortalidad. Los datos de EARS-Net indican que las infecciones por bacterias multiresistentes en la UE está incrementando, con amplias variaciones en función de la región geográfica. Los especialistas aconsejan realizar estudios a nivel local y aplicar estrategias para prevenir y controlar dichas infecciones. Objetivo/metodología: Explorar la susceptibilidad antimicrobiana y estudiar la distribución clonal de E. coli-BLEE asociadas a ITU durante los años 2016 y 2017 en el Hospital transfronterizo de Cerdaña. Este hospital es pionero en la UE, ya que combina dos modelos de salud diferentes, el francés y el español (con las particularidades de la Comunidad de Cataluña). Las cepas se estudiaron mediante métodos microbiológicos y moleculares de secuenciación masiva. El estudio poblacional se llevó a cabo in silico por tipificación multilocus de secuencias (en inglés Multilocus sequence typing, MLST) usando las secuencias del genoma completo. Resultados: Todos los aislamientos fueron multiresistentes, presentando resistencia a ciprofloxacina (63%) y trimetoprim/sulfametoxazol (58%) y bajos niveles de resistencia a fosfomicina (6%) y nitrofurantoina (6%). Mediante el análisis por MLST se observó un bajo grado de relación genética. Se identificaron 24 tipos secuenciales (ST) diferentes, entre los cuales el ST131 fue el predominante (12%), seguido de ST88 (9%). El presente estudio reveló que no se puede concluir la existencia de un clon predominante de E.coli-BLEE en el hospital transfronterizo de Cerdaña. Se relacionan estos resultados con la singularidad poblacional de la Cerdaña

## Evaluación del fitness y la virulencia de las cepas mutantes de *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 $\Delta$ ampD::Kan y $\Delta$ anmK::Kan

Ana Tajuelo<sup>1</sup>, Mireia López-Siles<sup>1</sup>, Michael J. McConnell<sup>1</sup>

(1) Instituto de Salud Carlos III, Laboratorio de infecciones intrahospitalarias, Centro Nacional de Microbiología, Carretera Majadahonda-Pozuelo, Km 2, Majadahonda, España

*Acinetobacter baumannii*, uno de los principales patógenos causantes de infecciones nosocomiales, es resistente a muchos de los antibióticos disponibles actualmente. Por ejemplo, presenta resistencia intrínseca a fosfomicina. La delección de los genes ampD y anmK, que codifican enzimas que participan en la ruta de reciclaje del peptidoglicano, aumenta la sensibilidad a fosfomicina. Sin embargo, se desconoce si estas delecciones afectan a la virulencia de esta bacteria. El objetivo de este estudio es caracterizar diversos rasgos fenotípicos que están relacionados con la virulencia en cepas mutantes que carecen de AmpD y AnmK. Concretamente se analizaron el crecimiento y la competitividad de *A.baumannii* ATCC 17978  $\Delta$ ampD::Kan y  $\Delta$ anmK::Kan, el movimiento twitching, la resistencia a diversos desinfectantes y la formación de biofilm en relación a la cepa parental. Los resultados mostraron que el crecimiento y fitness bacteriano de los mutantes  $\Delta$ ampD::Kan y  $\Delta$ anmK::Kan era peor que el de la cepa parental (índices de competitividad 0,017 y 0,16 respectivamente). La capacidad de formar biofilm disminuyó al 50% y 39% respectivamente y el movimiento twitching de ambos mutantes también se redujo más de un 80% respecto al de la cepa parental. La susceptibilidad a los desinfectantes analizados no se vio afectada. Estos resultados demuestran que, además de aumentar la susceptibilidad a fosfomicina, la alteración de la ruta de reciclaje del peptidoglicano afecta a múltiples aspectos relacionados con la virulencia. La inhibición o mutación de ampD y anmK podrían ser estrategias para el futuro desarrollo de nuevos tratamientos o vacunas atenuadas frente a *A.baumannii*, respectivamente.

Financing: AT-Programa de Garantía Juvenil (CAM), MLS-Programa Sara Borrell (ISCIII)



### Potencialefectoantimicrobianodelfenofibratofrenteacepasclínicasmultirresistentes de Aeromonas

**Roberto Monllor-Guerra**<sup>1,2</sup>, Isabel Pujol<sup>1,2,3</sup>, Ana Fernández-Bravo<sup>1,2</sup>

(1) Universitat Rovira i Virgili, Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques, Unitat de Micologia i Microbiologia Ambiental, Carrer Sant Llorenç 21, Reus, Spain

(2) Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV), Reus, Spain

(3) Hospital Universitari Sant Joan de Reus-Laboratori de Referència de Tarragona i Terres de l'Ebre, Reus, Spain

Las Aeromonas son microorganismos autóctonos del medio acuático, que pueden aislarse de una amplia variedad de ambientes. Actualmente se consideran patógenos emergentes para el ser humano, provocando un amplio espectro de enfermedades. Publicaciones recientes muestran que el 95,4% de las cepas clínicas corresponden a cuatro especies: *Aeromonas caviae* (37,26%), *Aeromonas dhakensis* (23,49%), *Aeromonas veronii* (21,54%), y *Aeromonas hydrophila* (13,07%). En los últimos años se ha reportado el incremento de cepas clínicas de Aeromonas con resistencia a una amplia variedad de antibióticos, lo que implica un riesgo para la salud debido a su distribución global. Una de las alternativas terapéuticas al tratamiento antibiótico es el reposicionamiento de fármacos ya comercializados para otras indicaciones en humanos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la eficacia del fenofibrato, fármaco tradicionalmente utilizado para el tratamiento de hiperlipidemias, frente a infecciones causadas por cepas clínicas de Aeromonas resistentes a diversos antibióticos. En primer lugar, se seleccionaron cuatro cepas resistentes de *A. caviae* y *A. hydrophila*, para posteriormente realizar ensayos de infección in vitro utilizando una línea celular de macrófagos (J7741.A). Para evaluar la eficacia del fármaco, tras la infección y el posterior tratamiento se analizó la supervivencia intracelular bacteriana, así como el daño celular en macrófagos, mediante la cuantificación de la lactato deshidrogenasa. Los resultados mostraron un descenso del daño celular en macrófagos y una disminución de la supervivencia intracelular de la bacteria tras el tratamiento. Estos resultados sugieren que el fenofibrato podría tener aplicabilidad para combatir infecciones causadas por cepas resistentes de Aeromonas.

## Estudio de la capacidad de formación de biofilms de la variante monofásica 4,[5],12:i:- del serotipo Salmonella Typhimurium

Ainhoa Arrieta Gisasola<sup>1</sup>, **Ilargi Martínez Ballesteros**<sup>1</sup>, Victoria Garrido<sup>2</sup>, María Jesús Grilló<sup>2</sup>, Lorena Laorden Muñoz<sup>1</sup>, Joseba Bikandi Bikandi<sup>1</sup>

(1) Grupo de Investigación Mikrolker. Universidad del País Vasco UPV/EHU, Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Paseo de la Universidad 7, Vitoria-Gasteiz, España

(2) Animal Health Group. Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-Gobierno de Navarra), Mutilva, Navarra, España

En la década de los 90 se describió en España la primera variante monofásica 4,[5],12:i:- del serotipo Salmonella Typhimurium. Desde 2015, en la Unión Europea la prevalencia de estas cepas monofásicas en cerdos ha aumentado, mientras que la detección de S. Typhimurium ha disminuido progresivamente. La formación de biofilms es una estrategia adaptativa que contribuye a la capacidad de persistir tanto en superficies como en el huésped. Por ello, el objetivo de este estudio ha sido evaluar la capacidad de formar biofilms en 20 cepas S. Typhimurium y 44 cepas monofásicas aisladas de casos clínicos, alimentos y cerdos para evaluar si ha habido un aumento de dicha capacidad en la variante monofásica. Todas las cepas analizadas han creado biofilms en placas de poliestireno. El 72,73% de las cepas monofásicas se ha clasificado como productor débil de biofilms, mientras que el 80,00% de las cepas S. Typhimurium se ha clasificado como productor moderado de biofilms, observándose así una asociación estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre el serotipo y la capacidad de formar biofilms. De hecho, hay 10 veces más probabilidades de que una cepa monofásica sea un productor débil de biofilms comparando con una cepa de S. Typhimurium. En contra de lo esperado, los resultados obtenidos en este estudio sugieren que S. 4,[5],12:i:- tiene menor capacidad para generar biofilms que su ancestro evolutivo S. Typhimurium. Esto implica la necesidad de investigar otras estrategias adaptativas con el objetivo de conocer la razón del éxito evolutivo de las cepas monofásicas.

Financing: Beca predoctoral de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) concedida a A. A-G.

### La detección de *Candida albicans* dependiente de dectina-1 por células madre y progenitores hematopoyéticos produce macrófagos con un fenotipo entrenado

Cristina Bono<sup>1</sup>, Paula Guerreo<sup>1</sup>, Alberto Yáñez<sup>1</sup>, **María Luisa Gil Herrero<sup>1</sup>**

(1) Universitat de València, Instituto BIOTECMED; Departamento de Microbiología y Ecología,, Valencia, España

Previamente hemos demostrado que las células madre y progenitores hematopoyéticos (HSPCs) utilizan dectina-1 y TLR2 para detectar *Candida albicans* e inducir la producción de macrófagos, y que la exposición de HSPCs a agonistas de dectina-1 ( $\beta$ -glucano o levaduras inactivadas de *C. albicans*) genera macrófagos entrenados. En este estudio hemos investigado las consecuencias funcionales de la activación de dectina-1 por células vivas de *C. albicans*, ya que estas pueden tener un efecto diferente sobre las HSPCs. HSPCs fueron cultivadas en presencia de *C. albicans* durante 6 horas y, posteriormente, diferenciadas con M-CSF durante 7 días para obtener macrófagos. Los resultados muestran que una exposición transitoria in vitro de HSPCs a células vivas de *C. albicans*, previa a su diferenciación, es suficiente para inducir un fenotipo entrenado en los macrófagos que producen de manera dependiente de dectina-1. Además, investigamos la función de los macrófagos producidos en respuesta a la detección de  $\beta$ -glucano por las HSPCs in vivo. HSPCs purificadas de médula ósea de ratones DsRed fueron trasplantadas a ratones dectina-1<sup>-/-</sup>, a los cuales se les inyectó  $\beta$ -glucano. Como las células del ratón receptor no reconocen el agonista de dectina-1 inyectado, no hay interferencia por mediadores solubles secretados por las células receptoras. Se observó que los macrófagos derivados de las HSPCs trasplantadas expuestas a  $\beta$ -glucano in vivo producen niveles más elevados de citocinas inflamatorias. En conjunto, estos resultados muestran que durante una infección las HSPCs pueden reconocer células vivas de *C. albicans* mediante dectina-1 para generar macrófagos entrenados.

Financing: Proyecto RTI2018-093426-B-100 (MCIU España y FEDER). CB es predoctoral ACIF (Generalitat Valenciana). AYB es Ramón y Cajal (RYC-2017-22895).

## Caracterización de las células madre y progenitores hematopoyéticos en un modelo de inmunidad entrenada frente a candidiasis

Paula Guerrero<sup>1</sup>, Cristina Bono<sup>1</sup>, María Luisa Gil<sup>1</sup>, **Alberto Yáñez**<sup>1</sup>

(1) Universitat de Valencia, Departamento de Microbiología y Ecología. Instituto BiotecMed, Valencia, España

Las células madre y progenitores hematopoyéticos (HSPCs) presentan cada vez un papel más relevante en la lucha contra la infección. Las HSPCs son capaces de detectar a *Candida albicans* y dicha interacción hace que se diferencien a macrófagos entrenados. En este trabajo estudiamos un modelo murino en el cual una infección primaria de 7 días con la cepa no virulenta de *C. albicans* PCA2, genera protección contra una infección secundaria letal con la cepa virulenta de *C. albicans* ATCC26555. Ya que 7 días no es suficiente tiempo para desarrollar una respuesta adaptativa efectiva, sospechamos que la protección inducida por la infección primaria podría deberse a una respuesta innata entrenada. De hecho, tras la infección primaria, los animales sucumbían más rápido de choque séptico inducido por LPS y presentaban una mayor producción de citocinas (TNF- $\alpha$  e IL-6) en sangre, médula ósea y bazo tras estimular in vitro con LPS y Pam3CSK4, en comparación con los animales no infectados. Además, se observó una remodelación de las poblaciones de HSPCs tanto en médula ósea como en bazo mediante análisis de citometría de flujo y un ensayo de formación de colonias en metilcelulosa. Concretamente, las células LKS+ (Lin<sup>-</sup> c-Kit<sup>+</sup> Sca-1<sup>+</sup>) de la médula ósea se expanden en respuesta a la infección primaria y se movilizan al bazo a día 7 post-infección. Estos resultados sugieren que las HSPCs podrían tener un papel importante en la respuesta inmunitaria entrenada capaz de proteger contra las candidiasis.

Financing: Proyecto RTI2018-093426-B-100 (MCIU España y FEDER). CB es predoctoral ACIF (Generalitat Valenciana). AYB es Ramón y Cajal (RYC-2017-22895).

## Estudio del potencial antimicrobiano de un extracto rico en polifenoles obtenido de *Cytisus scoparius*

**Lorena Gómez Calvo**<sup>1</sup>, Trinidad De Miguel Bouzas<sup>1</sup>, Marta Lores Aguin<sup>2</sup>

(1) Universidade de Santiago de Compostela, Microbiología y Parasitología, Facultade de Farmacia

(2) Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Soluciones Analíticas (LIDSA), Química analítica, nutrición y seguridad alimentaria, Facultade de Química

Los extractos naturales que contienen una alta concentración de polifenoles han demostrado poseer actividad antibacteriana y antifúngica. La presente investigación caracteriza un extracto hidroorgánico de alto contenido polifenólico como candidato antimicrobiano. Como resultado de esta composición, el extracto mostró bioactividades con potenciales usos en las industrias agrícola, veterinaria, farmacéutica y cosmética. Los compuestos de polifenoles se extrajeron del arbusto *Cytisus scoparius* utilizando mezclas de disolventes hidroorgánicos. Se evaluó la actividad antimicrobiana in vitro de este extracto en bacterias Gram positivas y Gram negativas y el hongo *Candida albicans*. Las especies microbianas investigadas, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, son agentes causantes de varias enfermedades humanas y animales. El extracto mostró actividad contra todas las especies probadas. Por lo tanto, podría usarse para el desarrollo de biocidas para controlar una amplia gama de agentes patógenos y contribuir a la creación de alternativas económicas y ecológicas a los antibióticos.

## ¿Son las aguas regeneradas, utilizadas como agua de riego, un posible vector de contaminación de genes de resistencia a antimicrobianos?

**Francisco Montiel Riquelme**<sup>1</sup>, Pilar Truchado<sup>1</sup>, Esperanza Sánchez Nieto<sup>1</sup>, Manuel Abellán Soler<sup>2</sup>, Amador Rancaño Perez<sup>3</sup>, Avelino Álvarez-Ordóñez<sup>4</sup>, Ana Allende Prieto<sup>1</sup>

(1) CSIC, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100, Murcia, España

(2) Acciona Agua S.A.U, AVDA. DE EUROPA, N.22 PARQUE EMP. CP / 28108, LA MORALEJA, España

(3) Entidad Regional de Saneamiento y Depuración de Murcia (ESAMUR), Avda. Juan Carlos I, s/n. Ed. Torre Jemeca - 30009, Murcia, España

(4) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana, s/n, 24007, León, España

La presencia de bacterias resistentes y genes de resistencia a antimicrobianos en las aguas que llegan a las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs) hacen que estas puedan actuar como reservorios y puntos de diseminación. Sin embargo, poco se sabe de su papel como vector de contaminación. Las aguas regeneradas que cumplan los requisitos microbiológicos mínimos pueden ser utilizadas como agua de riego. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de los sistemas de desinfección utilizados en 4 EDARs de la Región de Murcia en la eliminación de la bacteria indicadora *Escherichia coli* productor de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y la prevalencia de genes de resistencia entre los que se incluyen blaCTX-M, blaTEM ( $\beta$ -lactámicos), qnrA, qnrB (quinolonas), sul1, sul2 (sulfametoxazol), tetA, tetB (tetraciclinas), así como cmlA y catI (cloranfenicol). Para la cuantificación de *E. coli* resistente se usó CHROMagar™ ESBL y los genes se determinaron por PCR. Los recuentos de *E. coli* en el influente mostraron niveles relativamente elevados (~5 logUFC/100ml). En las aguas del efluente los recuentos fueron significativamente más bajos. Las prevalencias de los genes de resistencia en el influente rondó el 80%, mientras que en el efluente fueron significativamente más bajos (40%). Los resultados obtenidos muestran que los tratamientos de desinfección son capaces de reducir la presencia de bacterias resistentes y genes de resistencia, pero que, aun así, existe una dispersión hacia el medio ambiente ya que los tratamientos actuales no son capaces de eliminar por completo las bacterias resistentes ni sus determinantes genéticos.

Financing: Proyecto de colaboración entre ACCIONA AGUA, S.A., CSIC y Universidad de León.



## Efecto de los ácidos peracético y ortofosfórico sobre los biofilms monoespecie y mixtos formados por *Listeria monocytogenes* y *Salmonella Typhimurium*

**Camino González-Machado**<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso-Calleja<sup>1,2</sup>, Rosa Capita<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Calle La Serna, nº 58, 24007, León, España

Las biopelículas o biofilms suponen un desafío importante para la Industria Alimentaria, al incrementar el riesgo de contaminación de los alimentos con microorganismos patógenos y alterantes. La mayor parte de las investigaciones de laboratorio se centran en los biofilms monoespecie. Sin embargo, en la naturaleza, los biofilms están formados generalmente por diferentes grupos microbianos, por lo que es muy importante ampliar las investigaciones a los biofilms mixtos. En este trabajo se han estudiado las biopelículas producidas por una cepa de *Listeria monocytogenes* (LM) y una cepa de *Salmonella Typhimurium* (ST), así como los biofilms mixtos generados por la combinación de ambas cepas (LM-ST). Se ha valorado, mediante la técnica de tinción con cristal violeta, el efecto del tratamiento (24 horas) con diferentes concentraciones de ácido peracético (AP) y ácido ortofosfórico (AOF) sobre las biopelículas previamente formadas durante 48 horas sobre poliestireno y acero inoxidable. La concentración necesaria para remover completamente los biofilms de LM fue de 150.000 ppm en el caso del AP, y de 113.333 ppm (poliestireno) y 425.000 ppm (acero inoxidable) en el caso del AOF. Por lo que respecta a ST y LM-ST, las concentraciones de AP fueron 7.500 ppm (poliestireno) y 150.000 ppm (acero inoxidable). Cuando se empleó el AOF, los valores obtenidos fueron 21.250 ppm (ST, poliestireno y acero inoxidable), 21.250 (LM-ST, poliestireno) y 42.500 ppm (LM-ST, acero inoxidable). Estos resultados indican que, una vez formadas las biopelículas, es necesario utilizar concentraciones altas de los biocidas para eliminarlas de forma eficaz.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).

## Efecto de diferentes biocidas de uso en la Industria Alimentaria frente a *Salmonella Typhimurium*

**Camino González-Machado<sup>1,2</sup>**, Rosa Capita<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso-Calleja<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Calle La Serna, nº 58, 24007, León, España

*Salmonella* es el microorganismo responsable del mayor número de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en la Unión Europea. Para ejercer un control sobre los microorganismos, en la Industria Alimentaria se usan diferentes compuestos biocidas (aditivos alimentarios, descontaminantes y desinfectantes ambientales). La exposición a concentraciones subinhibitorias de biocidas puede ocurrir como consecuencia del uso o el almacenamiento inadecuado de los compuestos, o de su inactivación por la presencia de cantidades excesivas de materia orgánica. Algunos estudios sugieren que la exposición repetida a concentraciones subinhibitorias de biocidas permite a las bacterias adaptarse a los mismos, y este incremento de la tolerancia proporciona, en ocasiones, protección cruzada frente a otros antimicrobianos, incluidos los antibióticos. Por esta razón, es muy importante conocer las concentraciones de biocidas que impiden el crecimiento de los microorganismos o los inactivan de manera efectiva, y a la vez evitan la aparición de resistencias. Esta investigación tuvo como objetivo establecer la concentración mínima inhibitoria (CMI) de diferentes compuestos ampliamente utilizados en la Industria Alimentaria frente a una cepa de *Salmonella Typhimurium* de origen alimentario. Las CMI obtenidas fueron (ppm): 150 (ácido peracético), 1.800 (ácido ortofosfórico), 60.000 (ácido glutámico), 2.800 (ácido benzoico), 12.000 (ácido ascórbico), 4.600 (ácido cítrico), 3.300 (ácido tartárico), 40.000 (fosfato trisódico) y 15.000 (nitrito sódico). El compuesto con mayor efectividad antimicrobiana fue el ácido peracético, seguido del ácido ortofosfórico y el ácido benzoico. El ácido peracético es el desinfectante químico de primera elección por su extrema capacidad oxidante y biodegradabilidad en compuestos inocuos para el medio ambiente.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).

### Protocolo para la detección de las cepas peligrosas en Salud Pública y Animal de *Vibrio vulnificus*

Arnau P. Roig<sup>1</sup>, Héctor Carmona-Salido<sup>1</sup>, **Carmen Amaro**<sup>1</sup>

(1) Universidad de Valencia, Instituto de Investigación en Biotecnología y Biomedicina (BIOTECMED), Biología, Dr. Moliner 50, Burjassot, España

*Vibrio vulnificus* es un patógeno zoonótico ligado a piscifactorías que habita ecosistemas de agua salobre situados en zonas templadas y cálidas. La FAO/OMS lo considera el patógeno bacteriano asociado a alimentos de mayor tasa de mortalidad. Aunque existen protocolos para la identificación de esta especie, ninguno de ellos es capaz de discriminar a la vez las cepas de interés en salud pública y animal. En este trabajo hemos diseñado este protocolo el cual consiste en una PCR múltiple combinada con pre-enriquecimiento en APA-1,5% NaCl. La PCR utiliza tres pares de cebadores, para vvhA (gen marcador de especie), para el polimorfismo en pilF (polimorfismo correlacionado con peligrosidad en salud pública) y para fpcrp (gen marcador de virulencia para peces). El protocolo fue validado con cultivos puros de cepas representativas de los 5 linajes filogenéticos de la especie. Nuestros resultados demuestran que las cepas de interés para la salud pública y animal pueden detectarse por PCR directa con un límite de detección de 0,38 picogramos de ADN o 6x10<sup>4</sup> células/ml (o gr) y por PCR tras 4h de enriquecimiento con un límite de 425 células/ml (o gr). En consecuencia, proponemos que este nuevo método sea analizado por los organismos públicos competentes su uso en los laboratorios de análisis microbiológico como protocolo estándar para detectar las cepas de la especie peligrosas en la salud Pública y Animal.

Financing: Proyectos AGL2017-87723-P del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades más fondos FEDER y AICO/2020/076 de la Generalitat Valenciana.

## Diarrea por *Plesiomonas shigelloides* en paciente pediátrico

Ana Fernández-Bravo<sup>1,2</sup>, Isabel Pujol<sup>1,2,3</sup>, Roberto Monllor-Guerra<sup>1,2</sup>, Frederic Ballester<sup>3</sup>, Rosa Hidalgo<sup>4</sup>, Maria José Figueras<sup>1,2</sup>

(1) Universitat Rovira i Virgili, Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques, Unitat de Micologia i Microbiologia Ambiental, Reus, Spain

(2) Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV), Reus, Spain

(3) Hospital Universitari Sant Joan de Reus-Laboratori de Referència de Tarragona i Terres de l'Ebre, Reus, Spain

(4) Hospital Lleuger Antoni de Gimbernat de Cambrils, Grup SAGESA, Cambrils, Spain

*Plesiomonas shigelloides* es un bacilo gramnegativo autóctono del medio acuático, generalmente aislado de aguas dulces en zonas tropicales. Actualmente es considerado un patógeno emergente causante de diversas enfermedades, principalmente gastroenteritis. La prevalencia de esta bacteria varía considerablemente, con tasas altas en el sudeste de Asia y África, y bajas en Europa. Aunque esta bacteria es fácil de detectar, a menudo se pasa por alto debido a la controversia que existe sobre el papel que desempeña en relación con las enteritis infecciosas. Por todo ello es necesario describir nuevos casos para determinar la incidencia de este patógeno en España. El objetivo de este estudio es presentar un nuevo caso clínico producido por *P. shigelloides* en España. La cepa PRAC1 fue aislada en el laboratorio del Hospital Universitario Sant Joan de Reus de las heces de un paciente de 3 años con síndrome diarreico, e identificada como *P. shigelloides*, con un 99,9% de fiabilidad, por el sistema MALDI-TOF (VITEK® MS, BioMérieux). Posteriormente, la identificación fue verificada mediante la secuenciación del gen 16S rRNA. El patrón de sensibilidad antibiótica se determinó utilizando el sistema VITEK®2 (BioMérieux) y mostró resistencia a ampicilina y a ciprofloxacina; y sensibilidad a cotrimoxazol, amoxicilina/clavulánico, cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima y ceftriaxona) y a carbapenems (imipenen y ertapenem). Nuestro caso pretende concienciar sobre las infecciones producidas por esta bacteria y describir un nuevo caso para ayudar a determinar la incidencia real de *P. shigelloides* en España.

### **Análisis comparado de las regiones I y II de la subunidad grande del ARNr en varias especies de Entamoeba.**

**Lorena Esteban-Sánchez<sup>1</sup>**, Noelia Gómez-Sánchez<sup>1</sup>, Elvira Rodríguez-Rubiano<sup>1</sup>, Juan José García-Rodríguez<sup>1</sup>, Federico Navarro-García<sup>1</sup>, Francisco Ponce-Gordo<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia., Plaza de Ramón y Cajal, 28040 Madrid, España

La taxonomía molecular de las amebas del género *Entamoeba* se basa en la comparación de las secuencias de la subunidad pequeña del ARNr. La región ITS1-ARNr 5.8S-ITS2 (y putativamente, el inicio 5' de la subunidad grande del ARNr) se ha secuenciado en unas pocas especies (todas dentro del grupo morfológico histolytica, formadoras de quistes maduros tetranucleados), y la identificación de cada fragmento (ITS1, ITS2, ARNr) es dudosa. En este trabajo hemos diseñado cebadores que nos ha permitido realizar la amplificación mediante PCR y la secuenciación de la región ITS y de las regiones I y II de la subunidad grande ribosomal de varias especies de *Entamoeba* pertenecientes a los otros grupos morfológicos (especies formadoras de quistes maduros uni- y octonucleados). Hemos determinado los límites de cada región (ITS1, ARNr 5.8S, ITS2 y subunidad grande del ARNr – extremo 5') y establecido su estructura secundaria (por modelado homólogo a partir de las estructuras disponibles en el Comparative RNA Web Site and Project, <https://crw-site.chemistry.gatech.edu/>). Se ha encontrado una gran variabilidad interespecífica, incluso entre especies próximas según sus secuencias de la subunidad pequeña ribosomal.

## Efecto de los sideróforos en *Sporothrix schenckii* y *Sporothrix mexicana*.

**Alejandra Paula Espinosa Taxis<sup>1</sup>**, Fátima del Carmen Cruz Cruz<sup>1</sup>, Teresita Spezzia Mazzocco<sup>1</sup>  
(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. INAOE.

Los sideróforos fúngicos son indispensables para la captación y metabolismo del hierro en hongos, en el género *Sporothrix* el agente etiológico de la esporotricosis, se sugiere que estos compuestos pueden actuar como factores de virulencia. Estudiamos el efecto de los sideróforos en el crecimiento y morfología de 8 cepas de *Sporothrix schenckii* y 3 cepas de *S. mexicana*. Los sideróforos se obtuvieron en medios con baja concentración de hierro, se extrajeron con cloroformo, se disolvieron en metanol, posteriormente se colocaron a diferentes concentraciones en placas de Petri en medio líquido bajo en hierro y en agar infusión cerebro corazón para levaduras y agar glucosa Sabouraud para micelio, incubando a 37°C y 28°C respectivamente durante 7 días, midiendo el crecimiento diariamente; paralelamente se observó la morfología microscópica. Los resultados obtenidos mostraron incremento en el crecimiento de ambas fases, observando al microscopio levaduras multigemantes, formadoras de biopelículas y en el micelio se apreciaron biopelículas y estructuras similares a las clamidosporas. Los sideróforos incrementaron el crecimiento de *S. schenckii* y *S. mexicana*, así como la formación de biopelículas y la presencia de levaduras multigemantes. Referencias: Holzberg M & Artis W. 1983. Hydroxamate Siderophore Production by Opportunistic and Systemic Fungal Pathogens. *Infection and Immunity*. 40(3): 1134-1139. Manoharan, S., Ramalakshmi, O. I., & Ramasamy, S. 2021. Fungal Siderophores: Prospects and Applications. In K. Dhusia, K. Raja, & P. Ramteke (Eds.), *Fungal Siderophores: From Mineral—Microbe Interactions to Anti-Pathogenicity* (pp. 141-156). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-53077-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-53077-8_9)

Financing: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México



### Resistencia a antibióticos en cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas de preparados de carne de ave

Sarah Panera-Martínez<sup>1,2</sup>, Víctor Serrano-Galán<sup>1,2</sup>, Cristina Rodríguez-Melcón<sup>1,2</sup>, Rosa Capita<sup>1,2</sup>, **Carlos Alonso-Calleja**<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León, España

(2) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Universidad de León, Calle La Serna, nº 58, 24007 León, España

El incremento de la prevalencia de bacterias resistentes a los antibióticos supone un problema de importancia crítica en el ámbito mundial. *Listeria monocytogenes*, agente etiológico de la listeriosis, ha sido tradicionalmente sensible a la mayoría de los antibióticos de interés clínico, pero en los últimos años se ha observado un aumento de la prevalencia de resistencia en este microorganismo, principalmente en cepas aisladas de alimentos. El objetivo de este estudio fue conocer el patrón de resistencia a antibióticos en aislamientos de *L. monocytogenes* procedentes de preparados cárnicos de pollo y pavo. Las cepas se aislaron siguiendo el método UNE-EN ISO 11290-1 y posteriormente se identificaron mediante PCR. Se determinó la susceptibilidad de las cepas (163 en total) frente a un panel de 15 antibióticos de importancia clínica, utilizando el método de difusión por disco en placas de agar Mueller-Hinton. Se observó un número de  $8,01 \pm 1,89$  resistencias por cepa. Todas las cepas aisladas presentaron resistencias múltiples (a entre 5 y 15 antibióticos). Un total de 142 aislamientos (87,1%) presentaron un fenotipo de multi-resistencia (MDR), y 9 (5,5%) un fenotipo de resistencia de espectro extendido (XDR). Más del 50% de las cepas presentaron resistencia o susceptibilidad reducida a ampicilina, oxacilina, cefoxitina, cefotaxima, cefepime, gentamicina, vancomicina, rifampicina, tetraciclina, cloranfenicol, ciprofloxacina, enrofloxacina o nitrofurantoína. Estos resultados evidencian un hecho preocupante en el contexto de la Seguridad Alimentaria y la Salud Pública, al implicar que muchos de los antibióticos de uso habitual para el tratamiento de la listeriosis quedarían invalidados como opción terapéutica.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).

## Supervivencia de *Listeria monocytogenes* al tratamiento con tetraciclina en células previamente expuestas o no expuestas a dosis subinhibitorias de biocidas

**Cristina Rodríguez-Melcón**<sup>1,2</sup>, Víctor Serrano-Galán<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso-Calleja<sup>1,2</sup>, Rosa Capita<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n, 24071-León, España.

(2) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Universidad de León. Calle La Serna, nº 58, 24007-León, España.

En estudios previos se ha observado que la adaptación de las bacterias a diferentes biocidas podría asociarse con un aumento de la resistencia a los antibióticos. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de concentraciones subinhibitorias de tres desinfectantes (cloruro de benzalconio, CB; hipoclorito sódico, HS; ácido peracético, AP) sobre la resistencia a la tetraciclina (TE) de *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 (LM). Los cultivos de LM se expusieron a concentraciones crecientes subinhibitorias de CB, HS y AP, comenzando con la mitad de la concentración mínima inhibitoria e incrementando 1,5 veces la concentración de biocida cada 24 horas hasta que dejó de observarse crecimiento. La susceptibilidad de LM a la TE se determinó utilizando 500 ppm del antibiótico y diferentes tiempos de exposición (24, 48 y 72 horas), cuantificando posteriormente las células vivas e inactivadas mediante citometría de flujo. La exposición previa de LM a CB y AP incrementó la supervivencia del microorganismo después de 24 horas de exposición a TE, con un 74,01% y un 73,68% de células vivas, respectivamente, en comparación con los valores obtenidos en las células control (no expuestas a biocidas; 55,23%) y las expuestas a HS (56,96%). A las 48 y 72 horas de exposición se obtuvieron resultados similares a los observados a las 24 horas. Estos hallazgos indican que el uso de biocidas a concentraciones subinhibitorias podría contribuir a la generación de resistencia a tetraciclina en cepas de LM, y confirman la utilidad de la citometría de flujo para este tipo de estudios.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).

### Eficacia de diferentes ácidos orgánicos para el control de los biofilms de *Listeria monocytogenes*

**Rosa Capita**<sup>1,2</sup>, Henar Pérez-García<sup>1,2</sup>, Cristina Rodríguez-Melcón<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso-Calleja<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana, s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Calle La Serna, nº 58, 24007, León, España

Los biofilms o biopelículas bacterianas son un problema en la Industria Alimentaria, ya que suponen una fuente importante de contaminación de los alimentos. Además, incrementan la persistencia bacteriana en los equipos e instalaciones, dada su elevada resistencia a los productos de limpieza y desinfección utilizados habitualmente en los entornos de procesado de alimentos. En este trabajo se estudió, utilizando la técnica de tinción con cristal violeta, la capacidad formadora de biofilms de cinco cepas de *Listeria monocytogenes* (LM26, LM28, LM29, LM30 y LM34) tras incubación durante 24 h a 37 °C en placas de microtítulo de poliestireno. Las cepas LM26 y LM29 fueron capaces de formar biopelículas de manera débil y fuerte, respectivamente, mientras que el resto de las cepas se clasificaron como no formadoras de biofilm. Las cepas LM26 y LM29 se incubaron (24 h; 37°C) en presencia de 1.000 ppm, 2.500 ppm o 5.000 ppm de cuatro ácidos orgánicos de amplio uso en la Industria Alimentaria (ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido láctico y ácido peracético). La capacidad de *L. monocytogenes* para formar biofilm se redujo, respecto a las muestras control (sin ácidos orgánicos), en presencia de las tres concentraciones de ácidos ensayadas, inhibiéndose por completo a la concentración más alta (5.000 ppm). Este trabajo pone de manifiesto la diversidad intraespecífica por lo que respecta a la capacidad de *L. monocytogenes* para formar biofilm, y demuestra la utilidad de los ácidos orgánicos para inhibir la formación de estas estructuras.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).

## Impacto de las infecciones por *Clostridioides difficile* en la calidad de vida de los pacientes en Cataluña

**Ester Fusté**<sup>1,2</sup>, Patrick Saliba<sup>3</sup>, Alexander Almendral<sup>3</sup>, Vicens Diaz de Brito Fernandez<sup>4</sup>, Raquel Azor<sup>3</sup>, Carlota Gudiol<sup>3</sup>, Paz Fernández-Ortega<sup>1,3</sup>, Encarna Moreno<sup>4</sup>, Montserrat Puig<sup>1</sup>, Enric Limón<sup>1,3</sup>, Gonçalo de Carvalho<sup>3</sup>

(1) Universidad de Barcelona, Departamento de Salud Pública, Salud Mental y Materno-infantil, Medicina y Ciencias de la Salud, Pavelló Govern - Campus Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Espanya

(2) Universidad de Barcelona, Patología y Terapéutica Experimental, Medicina y Ciencias de la Salud, 5a pl. Pavelló Govern - Campus Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Espanya

(3) Institut Català d'Oncologia/Hospital Duran i Reynals, Granvia de l'Hospitalet, 199-203, L'Hospitalet de Llobregat, España

(4) Parc Sanitari Sant Joan de Deu, Infectious Diseases Unit., C/Cami vell de la Colònia 25, Sant Boi del Llobregat, España

*Clostridioides difficile* es un bacilo anaerobio, grampositivo, formador de esporas y productor de toxinas. La infección por *C. difficile* (CDI) es considerada un grave problema de salud que amenaza las instituciones sanitarias, en un ámbito mundial. Entre los factores de riesgo de contraer esta enfermedad destacan la hospitalización y el consumo de determinados antibióticos. La severidad de los síntomas asociados a la infección puede provocar un deterioro significativo en la calidad de vida. **Objetivo y metodología:** El objetivo fue investigar el impacto en la calidad de vida de aquellos pacientes que habían padecido un episodio de CDI y los cambios provocados en las actividades de la vida diaria (AVD). Se realizó un estudio observacional descriptivo, mediante el uso del cuestionario CDIFF32 de Garey et al, (2016), que presenta una  $\alpha$  de Cronbach global de 0,87 y permite evaluar el impacto en la Calidad de Vida en diferentes dominios (físico, mental y social) en un rango de 0 a 100. **Resultados:** Se incluyeron 39 pacientes oncológicos con un episodio de CDI en dos centros. 27 (69%) consideraban que su estado general era pobre-regular; 23 (59%) que su salud mental era pobre-regular, 25 (64%) que su salud física era regular-baja, y 28 (72%) que su calidad de vida era regular-baja. 13 (32 %) se sintió aislado socialmente en algunas ocasiones. Destacan, con una media de 75.9 (sd=22.5) el miedo a volver a enfermar. **Conclusión:** En los tres dominios del CDIFF32 se asoció la infección con un deterioro de la AVD.

Financing: Ayudas de investigación 2019 PREI-UB (PREI-19-007-A)

### Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de nueve antibióticos de interés clínico en cepas de *Listeria* spp.

**Carlos Alonso-Calleja**<sup>1,2</sup>, Cristina Rodríguez-Melcón<sup>1,2</sup>, Rosa Capita<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana, s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Calle La Serna, nº 58, 24007, León, España

La listeriosis invasiva suele requerir tratamiento con antibióticos, especialmente en los denominados grupos de riesgo (niños, ancianos, mujeres embarazadas y, en general, personas inmunodeprimidas), donde la enfermedad suele ser más grave. El objetivo de este estudio fue determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) y mínimas bactericidas (CMBs) de nueve antibióticos de interés clínico en ocho cepas de *Listeria monocytogenes* y una cepa de *Listeria ivanovii*. Para determinar las CMIs se utilizó el método de dilución en caldo en los pocillos de placas de microtítulo. La CMI se estableció como la concentración de antibiótico mínima necesaria para impedir el crecimiento bacteriano después de 48 horas de incubación a 37 °C. Para la determinación de las CMBs se sembraron 100 microlitros de los pocillos sin crecimiento en placas con agar triptona de soja (TSA). Tras la incubación a 37 °C durante 48 h, se fijó la CMB como la mínima cantidad de biocida capaz de inactivar el 99,99% de las bacterias del pocillo. Todas las cepas fueron resistentes (CLSI, EUCAST) a cefalotina, cefoxitina, gentamicina y fosfomicina. Un 88,89% de las cepas presentaron resistencia a ampicilina y vancomicina, un 77,78% de ellas presentaron resistencia a tetraciclina y un 55,56% fueron resistentes a cloranfenicol. Todas las cepas fueron susceptibles a eritromicina. Estos resultados ponen de manifiesto el elevado porcentaje de cepas de *Listeria* spp. patógenas resistentes a los antibióticos, y pueden ser de utilidad a la hora de seleccionar el compuesto más adecuado para el tratamiento de esta zoonosis de transmisión alimentaria.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).

## Bacterias multirresistentes presentes en niños menores de dos meses de edad en una Unidad de Cuidados Intensivos

**Ninfa Ramírez-Durán**<sup>1</sup>, Mildred Azucena Rivera Galindo<sup>1</sup>, Gaudy Lizeth Manzanares Leal<sup>1</sup>, M. Pablo A. Moreno Pérez<sup>1</sup>, Horacio Sandoval Trujillo<sup>2</sup>

(1) Universidad Autónoma del Estado de México, Microbiología Médica y Ambiental, Medicina, Paseo Tollocan esquina Jesús Carranza s/n, Toluca, México

(2) Universidad Autónoma Metropolitana - Xochimilco, Sistemas Biológicos, Ciencias de la Salud, Calzada del Hueso 1100 Coyoacán, Ciudad de México, México

**Antecedentes.** En México, los principales agentes bacterianos responsables de infecciones pediátricas más frecuentes son los bacilos Gram negativos. El objetivo de este trabajo fue identificar fenotípicamente y por análisis de secuenciación del gen 16S rRNA, especies bacterianas multirresistentes aisladas de niños menores de dos meses de edad en una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. **Métodos:** Las bacterias multirresistentes fueron identificadas a nivel fenotípico. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó con el método de difusión en disco Kirby-Bauer modificado e identificadas mediante análisis de secuenciación del gen 16S rRNA. **Resultados:** Se identificaron 3 cepas correspondientes a *Escherichia fergusonii*, 5 cepas correspondieron a *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* y 1 cepa a *Pseudomonas aeruginosa*. En cuanto a los resultados de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en disco, ceftazidima/avibactam y ceftolozane/tazobactam proporcionaron la mejor opción de tratamiento para todas las cepas. **Conclusiones:** En el caso de especies bacterianas multirresistentes estrechamente relacionadas donde las pruebas fenotípicas no permitieron una identificación a nivel de especie lo suficientemente confiable, la secuenciación del gen 16S rRNA proporcionó la correcta identificación de bacterias multirresistentes, tal fue el caso de *Escherichia fergusonii*, identificada por primera vez en niños menores de dos meses de edad en una Unidad de Cuidados Intensivos en la ciudad de Toluca en el Estado de México, así como la mejor opción de tratamiento.



### Evaluación de un nuevo medio de cultivo para *Campylobacter* spp. que no requiere incubación microaerófila

**Arturo Levican**<sup>1</sup>, Arthur Hinton<sup>2</sup>, Carmen Varela<sup>3</sup>, Lorena Porte<sup>3</sup>, Thomas Weitzel<sup>3</sup>

(1) Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Tecnología Médica, Facultad de Ciencias, Avenida Universidad 330 Campus Curauma, Valparaíso, Chile

(2) United States Department of Agriculture, Poultry Microbiological Safety and Processing Research Unit, US National Poultry Research Center, 950 College Station Road, Athens, Georgia, United States

(3) Clínica Alemana de Santiago/Univ. del Desarrollo, Santiago, Chile, Laboratorio Clínico, Facultad de Medicina, Av. Vitacura 5951, Santiago, Chile

*Campylobacter* spp. es una de las principales causas bacterianas de gastroenteritis aguda en el mundo. Sin embargo, en países de bajos ingresos su prevalencia es poco conocida. Una de las principales razones es el alto costo del cultivo, no solo porque requiere un medio altamente selectivo sino también por las condiciones de incubación (atmósfera microaerófila, 42°C). Recientemente se demostró que *Campylobacter* puede ser aislado en condiciones aeróbicas usando un medio líquido suplementado con ácidos orgánicos y antibióticos. Basados en esto, desarrollamos un medio de cultivo sólido selectivo (CAMPYAIR) que permite el crecimiento de *Campylobacter* sin la necesidad de una atmósfera microaerófila. El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad de CAMPYAIR de aislar *Campylobacter* spp. en muestras clínicas. Se utilizaron 189 muestras consecutivas de heces frescas recibidas para coprocultivo, las que se sembraron en paralelo en CAMPYAIR y en agar CASA (Biomérieux) siendo incubados a 42°C, en atmósfera ambiental y en microaerofilia, respectivamente. La identificación de las colonias se realizó mediante MALDI-TOF MS (Vitek MS, Biomérieux). Se obtuvo desarrollo de *Campylobacter* en 8 de las 189 muestras (4,2%) con agar CASA. CAMPYAIR detectó 7 de ellas demostrando sensibilidad y especificidad de 87,5% (IC95% 46,7%-99,3%) y 100% (IC95% 97,4%-100%), respectivamente. El VPP fue del 100% (IC95% 56,1%-100%) y el VPN, 99,5% (IC95% 96,5%-100%); el coeficiente Kappa-Cohen fue 0,931 (IC95%, 0,79-1,0). Este alto rendimiento diagnóstico, junto con la simplificación de los requisitos técnicos, podría permitir la incorporación del cultivo de *Campylobacter* en el coprocultivo de rutina en países con recursos limitados.

Financing: Proyecto FONDECYT 11181262 Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID)  
Proyecto Prototipos de Innovación Tecnológica DIE PUCV 035.691-35

## Patogenicidad del serotipo 3 en la Enfermedad Neumocócica Invasiva

**Covadonga Pérez García**<sup>1</sup>, Sara de Miguel<sup>2</sup>, Mirella LLamosí<sup>1</sup>, Miriam Domenech<sup>1</sup>, Julio Sempere<sup>1</sup>, Beatriz López-Ruiz<sup>1</sup>, Luis García-Comas<sup>2</sup>, Juan Carlos Sanz<sup>3</sup>, Jose Yuste<sup>1</sup>

(1) Instituto de Salud Carlos III, Centro Nacional de Microbiología, Majadahonda, Madrid, España

(2) Dirección General de Salud Pública, Comunidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

(3) Laboratorio Regional de Salud Pública, Comunidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

En este estudio se caracterizó la evolución del serotipo 3 en distintos grupos de edad durante el periodo 2009-2019, así como su posible asociación a letalidad analizando cepas procedentes de pacientes fallecidos y cepas de pacientes con ENI pero que sobrevivieron a la infección. El estudio revela que la vacunación pediátrica no ha generado inmunidad indirecta en el adulto frente al serotipo 3 manteniéndose como la segunda causa de ENI en población adulta. El estudio molecular de estos aislados confirmó que existen dos genotipos predominantes entre las cepas que circulan en España como son los genotipos ST180 (48.7%) y el ST260 (23.4%) seguidos por los genotipos ST1220 (5.8%), ST 505 (5.2%) y ST8561 (5.2%). No se observó una asociación significativa entre letalidad y algún genotipo en concreto ni tampoco entre la presencia de comorbilidades y letalidad por genotipo. Se analizó la interacción con el epitelio respiratorio utilizando la línea celular A549. Para ello, se compararon aislados clínicos de serotipo 3 procedentes de pacientes con patología no invasiva (sinusitis) con aislados invasivos letales y no letales. Este estudio confirmó que los aislados de serotipo 3 no asociados a ENI tienen una mayor capacidad para adherirse al epitelio pulmonar que los aislados invasivos. Las cepas invasivas no letales también mostraron una mayor capacidad de interacción con el epitelio respiratorio que las cepas de ENI letales. Estos resultados sugieren que las cepas invasivas asociadas a letalidad podrían evadir mejor la respuesta celular favoreciéndose de este modo el proceso infeccioso.

Financing: Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (MINECO) (SAF2017-83388-R)

### Caracterización de bacteriófagos aislados de aguas residuales y análisis del efecto sobre la formación de biopelículas en bacterias clínicas multirresistentes

Marco Pardo Freire<sup>1</sup>, Aide Lasa<sup>1</sup>, Alberto Lema<sup>1</sup>, Jesus L Romalde<sup>1</sup>

(1) Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Microbiología y Parasitología, CIBUS-Facultad de Biología Instituto CRETUS, Santiago de Compostela, España

El aumento progresivo de las resistencias a antibióticos en bacterias de interés clínico ha propiciado el desarrollo de tratamientos alternativos. En este sentido, y ante las escasas perspectivas de desarrollo de nuevos antibióticos, los bacteriófagos se están reconsiderando actualmente como terapia alternativa. Además de solventar este problema, la terapia con fagos presenta la ventaja adicional de la especificidad, dejando intacta la microbiota natural humana al contrario de lo que ocurre con los antibióticos. En este trabajo se presenta el análisis de especificidad de tres bacteriófagos (A, B, C) aislados en una planta de tratamiento de aguas residuales frente a un grupo de bacterias multirresistentes (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Aeromonas media*, *Pseudomonas sp.* y *Stenotrophomonas maltophilia*), aisladas durante el mismo período de muestreo. Los resultados mostraron la capacidad infectiva de los fagos frente a *Pseudomonas sp.*, *S. maltophilia* y, especialmente, *K. pneumoniae*. Además, se evaluó la capacidad para inhibir la formación de biopelícula de las bacterias que presentaron susceptibilidad frente a la infección de los fagos. Se observó en *Pseudomonas sp.* una reducción estadísticamente significativa de la formación de biopelícula a las 24 horas de incubación con cada uno de los fagos, mientras que en *A. media* esta reducción se observó a las 6 y 18 horas. Por su parte, la capacidad en la producción de biopelícula de *K. pneumoniae* se vio reducida a las 18 horas. Por último, la caracterización de estos tres bacteriófagos se completará con el estudio estructural a través de microscopía electrónica y el análisis genómico.

Financing: Proyecto DARWIN, financiado por el Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance (JPI-AMR)

## Deleción y caracterización del gen Afu3g08050 factor de transcripción del hongo patógeno *Aspergillus fumigatus*

**Uxue Pérez<sup>1</sup>**, Eduardo Pelegri-Martinez<sup>1</sup>, Xabier Guruceaga<sup>1</sup>, Saioa Cendon-Sanchez<sup>1</sup>, Fernando L. Hernando<sup>1</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>, Ana Abad-diaz-de-Cerio<sup>1</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>

(1) Universidad del País Vasco UPV/EHU, Inmunología, Microbiología y Parasitología, Ciencia y Tecnología, Barrio Sarriena S/N, Leioa, España

*Aspergillus fumigatus* es un hongo patógeno humano capaz de provocar diversas enfermedades entre las cuales la aspergillosis invasiva puede llegar a tener una tasa de mortalidad mayor del 95%. Para que la infección se pueda establecer el hongo tiene que ser capaz de adaptarse al ambiente pulmonar y superar al sistema inmunitario. Este proceso comienza con una fase de swollen, cuando la espora rompe la dormancia y activa su metabolismo, generando después su germinación. Mediante el microarray de genoma completo AWAFFUGE hemos estudiado la transcriptómica de este proceso y seleccionado uno de los genes más sobreexpresados en esta fase de swollen, el factor de transcripción Afu3g08050. Mediante la deleción del gen completo utilizando la tecnología CRISPR-Cas9, hemos demostrado que este gen es necesario para el correcto crecimiento del micelio y la producción de esporas. Además, está implicado en la asimilación de diferentes fuentes de nitrógeno como nitritos, urea, GABA, aminoácidos esenciales, etc., destacando que el crecimiento del mutante con estas fuentes es menor que el de la cepa salvaje. Por otro lado, el mutante es mucho más sensible a estreses de pared, de membrana y osmóticos por lo que parece tener también afectada su pared y su membrana celular. Por ello creemos que este gen juega un papel importante en la adaptabilidad de *A. fumigatus* y su capacidad de infección pudiendo ser una diana para el desarrollo de tratamientos de control de este hongo.

Financing: -Gobierno Vasco (IT1362-19)- UPC beca predoctoral de la UPV- SCS beca predoctoral del Gobierno Vasco

### Efecto antimicrobiano de extractos de terpenos vegetales sobre cepas patógenas *Listeria* spp. y *Salmonella enterica*

David Jiménez De Juan<sup>1,2</sup>, Rosa Capita González<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso Calleja<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Calle La Serna N°58, 24007, León, España

Diferentes estudios realizados en los últimos años han demostrado que los extractos naturales pueden tener actividad antimicrobiana frente a numerosos microorganismos patógenos de interés tanto en la Industria Alimentaria como en el ámbito sanitario. Entre estos microorganismos se encuentran *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enterica*, que tienen una gran relevancia en términos de mortalidad e incidencia, respectivamente. Así, *L. monocytogenes* tiene una tasa de letalidad próxima al 20%, mientras que *S. enterica* provoca casi 90.000 casos anuales de enfermedad humana en la Unión Europea. Además, en muchas ocasiones, estos microorganismos desarrollan resistencia a los antibióticos y desinfectantes químicos de uso común, lo que dificulta su control. En este escenario, aparecen los extractos vegetales como una potencial alternativa y complemento a los antibióticos y desinfectantes usados en la lucha contra los microorganismos patógenos. Los terpenos, polifenoles y alcaloides, especialmente los primeros, son los principales compuestos que proporcionan a los extractos vegetales su poder antimicrobiano. En este trabajo se han calculado las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) de 4 terpenos muy abundantes en los aceites esenciales frente a 10 cepas patógenas de *Listeria* spp. y otras 10 de *S. enterica*. Se empleó la técnica de dilución en caldo usando placas de microtítulo con incubación durante 48 h a 37 °C. Se obtuvieron, en ambas especies bacterianas, unos valores de CMI y CMB de entre 125 y 2.500 ppm, demostrándose claramente la efectividad antimicrobiana del timol, el carvacrol y el trans-cinamaldehído, siendo el eugenol el compuesto con menor poder antibacteriano.

## Efecto antimicrobiano de extractos de propóleos de Castilla y León sobre el desarrollo de biofilms de *Listeria* spp.

David Jiménez De Juan<sup>1,2</sup>, Félix Adanero Jorge<sup>2</sup>, Jose Javier Sanz Gómez<sup>2</sup>, Camino García Fernández<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso Calleja<sup>1,2</sup>, Rosa Capita<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Calle la Serna Nº58, 24007, León, España

Los propóleos son mezclas resinosas de compuestos que las abejas melíferas (*Apis mellifera*) recolectan, de brotes de árboles, flujos de savia y otras fuentes botánicas, para proteger sus colmenas. Se ha comprobado que estas sustancias son ricas en polifenoles, principalmente flavonoides, terpenos y ácidos fenólicos. Algunos estudios recientes han demostrado que estos compuestos naturales pueden tener actividad antimicrobiana y antibiofilm frente a numerosos microorganismos patógenos de interés en la Industria Alimentaria, incluida la especie *Listeria monocytogenes*. En este contexto se ha planteado el presente trabajo de investigación, con el objetivo principal de evaluar el efecto de dos extractos de propóleos de diferente composición sobre la capacidad formadora de biofilms de 10 cepas patógenas de *Listeria* spp. (9 cepas de *L. monocytogenes* y una cepa de *L. ivanovii*). Para el estudio de los biofilms se empleó la técnica de tinción con cristal violeta, utilizando placas de microtítulo de poliestireno y realizando las lecturas con ayuda de un Bioscreen C MBR. Tras la incubación con diferentes concentraciones de los extractos de propóleos (24 horas a 37° C) todas las cepas de *Listeria* spp. ensayadas sufrieron, respecto a las cepas incubadas en ausencia de propóleos, una reducción de sus biofilms, especialmente a concentraciones superiores a la concentración mínima inhibitoria (MIC), desapareciendo totalmente la formación de biofilm a partir de 2MIC. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que los extractos de propóleos ensayados poseen actividad antibiofilm y podrían suponer una potencial alternativa, además de un complemento ideal, a los desinfectantes de origen sintético (biocidas).

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).



## Optimización de materiales poliméricos fotobactericidas basados en Rosa de Bengala y poliestireno catiónico contra *Pseudomonas aeruginosa*

Ana María López Fernández<sup>1</sup>, Verónica Albarrán Vidal<sup>2</sup>, Ignacio Muñoz Resta<sup>1</sup>, **Rosa de Llanos Frutos<sup>2</sup>**, Francisco Galindo Honrubia<sup>1</sup>

(1) Universidad Jaime I, Departamento de Química Inorgánica y Orgánica, Escuela, Escuela Superior de Tecnología y Ciencias Experimentales, Castellón, España

(2) Universidad Jaime I, Unidad Predepartamental de Medicina, Facultad de Salud, Castellón, España

Las infecciones causadas por patógenos del grupo ESKAPE son causa de gran preocupación en entornos hospitalarios. El contacto con superficies contaminadas es una de las vías preferentes de contagio de dichos patógenos. Una de las estrategias seguidas para prevenir dichos contagios es el uso de materiales microbicidas, donde la adhesión o el crecimiento del microorganismo se ve impedida. En este sentido, una estrategia novedosa consiste en la utilización de materiales activados por luz. Esta estrategia se basa en la generación de especies reactivas de oxígeno por acción combinada de la luz con un fotosensibilizador integrado en el material. Estas especies destruyen el microorganismo, manteniendo estéril el objeto fabricado con dicho material. En la bibliografía se pueden encontrar diversas combinaciones de materiales poliméricos con fotosensibilizadores (responsables de la captura y conversión de la energía lumínica). Recientemente hemos descrito una novedosa combinación de dichos elementos, consistente en Rosa de Bengala (RB) como fotosensibilizador y una resina de intercambio iónico catiónica y porosa como soporte. Los resultados como material fotobactericida contra diversos microorganismos han sido positivos. Sin embargo, dicha descripción no incluye una optimización de los elementos constituyentes del polímero fotoactivo. En el presente poster mostramos los trabajos de optimización realizados en fechas recientes para la obtención de materiales con propiedades mejoradas. Concretamente se ha estudiado el efecto de la concentración de RB, así como la presencia de yoduro sobre el efecto fotodinámico contra *P. aeruginosa*. Se mostrarán tanto las propiedades fotoquímicas de los nuevos materiales, así como las curvas de actividad fotodinámica.

## Caracterización genética de Entamoeba del grupo coli de animales

**Elvira Rodríguez-Rubiano**<sup>1</sup>, Lorena Esteban-Sánchez<sup>1</sup>, Noelia Gómez-Sánchez<sup>1</sup>, Juan José García-Rodríguez<sup>1</sup>, Federico Navarro-García<sup>1</sup>, Francisco Ponce-Gordo<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Plaza de Ramón y Cajal, s/n, 28040 Madrid, Madrid, España

Diversas amebas pertenecientes al género *Entamoeba* formadoras de quistes maduros octonucleados se han encontrado en hospedadores de todas las clases de vertebrados, salvo anfibios. En la mayoría de las ocasiones, la identificación se ha realizado basándose en su morfología y la especie de hospedador, pero no mediante identificación genética. En este trabajo se han analizado aislados de varias especies de mamíferos, encontrados en muestras fecales de animales del Zoo-Aquarium y del parque zoológico Faunia, en Madrid. Se ha amplificado mediante PCR las regiones III y IV de la subunidad pequeña del ARNr realizándose comparaciones directas y análisis filogenéticos de las secuencias obtenidas y las disponibles en GenBank. Los resultados indican que hay una importante variabilidad dentro de las morfoespecies *E. coli* y *E. muris*, que sugerirían que podrían ser, en realidad, complejos de especies crípticas.

### Identificación de micoplasmas endosimbiontes en *Trichomonas vaginalis*

**Desirée María Morín-Carpintero<sup>1</sup>**, Francisco Ponce-Gordo<sup>1</sup>, Alexandra Ibáñez-Escribano<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza de Ramón y Cajal s/n, Madrid, España

La tricomoniasis es una de las infecciones de transmisión sexual más prevalentes en el mundo. En los últimos años se ha descrito una fuerte interacción simbiótica entre *Trichomonas vaginalis* y bacterias del género *Mycoplasma*, primer y único caso comunicado de endosimbiosis entre dos parásitos humanos obligados capaces de producir infecciones independientes en el mismo sitio anatómico, además de estar asociados con las mismas manifestaciones clínicas y cuya interacción parece contribuir en la patogenia de ambos. En este trabajo se ha realizado la identificación molecular de diferentes especies de *Mycoplasma* endosimbiontes presentes en aislados de *T. vaginalis* obtenidos de mujeres infectadas tratadas en el Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda y en diferentes centros de salud de la ciudad de Madrid (en total, 25 aislados). Cada aislado fue puesto en cultivo en medio TYM con antibióticos y antifúngicos; tras varios subcultivos, se extrajo el ADN y se realizó la amplificación mediante PCR de un fragmento del gen que codifica la subunidad pequeña del ARNr, utilizando cebadores específicos diseñados por nosotros, para amplificar la subunidad pequeña del ARNr únicamente de bacterias pertenecientes a la clase Mollicutes. Se obtuvieron amplificaciones en 9 aislados (36%), correspondientes a *Mycoplasma hominis* (3 aislados) y *Candidatus Mycoplasma girerdii* (6 aislados).

## Respuesta frente a diferentes condiciones estresantes de cepas clínicas de *Candida auris*

**Maialen Areitio**<sup>1</sup>, Aitziber Antoran<sup>1</sup>, Leire Martin-Souto<sup>1</sup>, Leire Aparicio-Fernandez<sup>1</sup>, Idoia Buldain<sup>1</sup>, Maddi Malatsetxebarria<sup>1</sup>, Javier Pemán<sup>2</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>, Fernando L. Hernando<sup>1</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>

(1) Fungal Biomics Research Group, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa

(2) Servicio de Microbiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia

**Objetivos** Desde su identificación en 2009, *Candida auris* se ha extendido rápidamente y está causando graves problemas sanitarios a nivel mundial. Entre ellos, destacan su alta resistencia a antifúngicos y la capacidad de generar brotes hospitalarios. Su repentina aparición se ha relacionado con una adaptación al incremento de la temperatura causado por el cambio climático. Por todo ello, en este trabajo se caracterizaron cinco aislamientos de *C. auris*, procedentes del Hospital Universitario La Fe (Valencia), comparándolos con *Candida albicans* y *Candida haemulonii*. **Métodos** Se determinaron los valores de Concentración Mínima Inhibitoria frente a fluconazol, anfotericina B y micafungina, se realizaron curvas de crecimiento a 28°C, 37°C y 42°C, y se observó el crecimiento bajo diferentes estreses como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SDS, NaCl, KCl, pH ácido y básico, blanco de calcoflúor y rojo congo. **Resultados** Las cinco cepas de *C. auris* utilizadas mostraron sensibilidad a anfotericina B y micafungina. Sin embargo, todas fueron resistentes a fluconazol. Además, *C. auris* presentaba mayor capacidad de crecimiento que *C. albicans* y, sobre todo, que *C. haemulonii* a 37°C y 42°C. Por último, se observó una elevada resistencia de *C. auris* frente a diferentes agentes estresantes, destacando su crecimiento en presencia de estrés oxidativo. **Conclusiones** Estos resultados confirman una elevada resistencia presentada por *C. auris* frente a diferentes estreses, lo que podría indicar la existencia de posibles mecanismos específicos.

**Financing:** Financiado por GV (IT1362-19). MA y LMS son beneficiarias de las becas predoctorales del GV y LAF de la UPV/EHU.

### Identificación molecular del virus del papiloma FcPV1 en aves suecas de vida libre

**Richard Williams**<sup>1</sup>, Conny Tolf<sup>2</sup>, Jenny Olofsson<sup>2</sup>, Jonas Waldenstrom<sup>2</sup>

(1) Universidad Complutense Madrid, Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Madrid, España

(2) Linnaeus University, Department of Biology and Environmental Science, Faculty of Health and Life Sciences, Kalmar, Suecia

Los papilomavirus (Papillomaviridae) infectan una amplia gama de especies de vertebrados. Se ha documentado que papilomavirus puede causar graves enfermedades cutáneas y respiratorias en aves. En pinzones, puede provocar tumores cutáneos extensos en las patas. La prevalencia descrita para el papilomavirus del pinzón común (FcPV1) es de 1,3%. Examinamos 6912 aves silvestres de 74 especies en el Observatorio de Aves de Ottenby, Suecia, en el otoño de 2016. Recolectamos varias muestras (biopsias, hisopos cloacales, orales y de piel) de seis aves que mostraban signos clínicos de papilomavirus cutáneo, y 213 individuos, de 28 especies, sin signos de infección. Se analizaron 567 muestras utilizando un qPCR diseñada para este experimento. Se amplificaron 24 muestras positivas de 17 individuos (8,0%) y se secuenciaron. Las secuencias se obtuvieron a partir de pinzón (n=6), carbonero (n=9), acentor (n=1) y reyezuelo (n=1). Cinco de las positivas (cuatro pinzones y el acentor) mostraron signos clínicos de infección; 12 estaban aparentemente sanas. 23 secuencias de 394 pb eran idénticas al genoma de FcPV1 publicado anteriormente. Un nuevo genotipo, con 69% de identidad con el primero, se recuperó del pico de uno de los pinzones. Ambos genotipos se recuperaron de un pinzón que se muestreó tres veces. Dos individuos, el pinzón con dos papilomavirus y el acentor también resultaron positivos para la viruela aviar. Se detectó FcPV1 en tres especies de aves por primera vez, sin embargo, sin evidencia que provocaba infección. La frecuencia de pinzones con signos de FcPV (10,3%) fue significativamente mayor que la descrita.

Financing: This work was funded by the Crafoord Foundation, Sweden (grants 2016971 and 20170671).

## Tratamiento de biofilms mixtos de *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* sensible/resistente a meticilina con los antioxidantes cisteamina y N-acetil-L-cisteína.

**Julio Sempere**<sup>1,2</sup>, Mirella Llamosi<sup>1,2</sup>, Fernando González-Camacho<sup>1,2</sup>, Federico Román Alonso<sup>3</sup>, José Yuste<sup>1,2</sup>, Mirian Domenech<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Salud Carlos III, Unidad de neumococos, Carretera Pozuelo Majadahonda Km. 2. 28220, Majadahonda, España

(2) Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias., Madrid

(3) Instituto de Salud Carlos III, Unidad de infecciones intrahospitalarias, Carretera Pozuelo Majadahonda Km. 2. 28220, Majadahonda, Madrid

Las infecciones asociadas a biofilm resultan problemáticas debido a su elevada resistencia a antibióticos y su capacidad de evadir el sistema inmune. Se ha observado previamente que *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* pueden encontrarse juntos colonizando la nasofaringe ocasionando problemas en la práctica clínica. En este trabajo se estudió la interacción de *S. pneumoniae* y *S. aureus* en biofilms mixtos y se probaron nuevas terapias antibiofilm con los antioxidantes cisteamina (Cys) y N-acetil-L-cisteína (NAC). Para esto se desarrollaron dos sistemas de biofilms mixtos in vitro usando placas multipocillo de poliestireno, uno con una cepa de *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) y otro con una cepa resistente a meticilina (SARM). Se trataron estos biofilms con Cys y NAC y se analizó el efecto antimicrobiano mediante tinción con cristal violeta, recuento de viables y microscopía confocal. Para tener una población similar en el biofilm mixto, fue necesaria una proporción mayor de células viables en el inóculo y en el cultivo planctónico *S. pneumoniae*. El compuesto Cys previno los biofilms individuales de *S. aureus* y los biofilms mixtos *S. aureus*-*S. pneumoniae*, mientras que a nivel de tratamiento apenas mostró efecto frente a las cepas SASM y SARM, aunque eliminó casi por completo a la población de *S. pneumoniae*. El uso de 5mg/ml de NAC redujo en más del 90% a las poblaciones de *S. aureus* y casi por completo a *S. pneumoniae*. La resistencia a meticilina no cambió el efecto de los antioxidantes en *S. aureus*.

Financing: Este trabajo está financiado por el proyecto SAF2017-88664-R del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (MINECO).



### La toxina RtxA1 del patógeno zoonótico *Vibrio vulnificus* induce una respuesta inflamatoria atípica y desregulada relacionada con muerte del hospedador

Carla Hernández-Cabanyero<sup>1</sup>, Eva Sanjuán<sup>1</sup>, Carmen Amaro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Valencia, Instituto Biomedicina y Biotecnología, Dr. Moliner, 50. 46100, Burjassot (Valencia), España

*Vibrio vulnificus* es un patógeno zoonótico emergente vinculado a piscifactorías considerado un biomarcador del cambio climático. Causa una gran variedad de infecciones conocidas como vibriosis en humanos y peces, cuya forma más grave es una septicemia hemorrágica que conduce a la muerte del hospedador en 24-48h. *V. vulnificus* produce la toxina RtxA1 involucrada en invasión de tejidos y septicemia. Nuestra hipótesis es que RtxA1 está involucrada en muerte por sepsis al desencadenar una tormenta de citoquinas temprana. Para demostrarlo utilizamos anguilas como modelo animal para el estudio de la vibriosis. Comparando los datos transcriptómicos obtenidos en sangre de anguilas infectadas con la cepa parental y con su mutante deficiente en RtxA1, hemos podido relacionar la producción de la toxina con una respuesta temprana de tipo inflamatorio, caracterizada por una fuerte sobreexpresión de genes que codifican citoquinas proinflamatorias, lectinas, proteínas del complemento y prostaglandinas, así como de genes implicados en la destrucción de endotelio, lo que podría estar relacionado con las hemorragias características de esta septicemia. Además, hemos encontrado evidencias que permiten asociar la toxina con la activación de una respuesta atípica anti-RNA, probablemente mediada por la liberación de RNAi y por el silenciamiento de microRNAs (miRNA-142a), involucrados en la regulación de respuesta inmunitaria protectora, y por tanto en la muerte de la anguila mediada por la toxina. Finalmente, hemos representado un modelo de septicemia que podría servir como base para comprender la septicemia causada por patógenos zoonóticos como *V. vulnificus* en peces, así como en otros hospedadores como los humanos.

Financing: Trabajo financiado con ayudas AGL2017-87723-Pybeca FPIBES-2015-073117 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades) y AICO/2018/123 (Generalitat Valenciana).

## Evolución del biofilm de *Staphylococcus aureus*.

**Darío Lago-Espartero**<sup>1</sup>, Julio Sempere<sup>1,2</sup>, Mirella Llamosi<sup>1,2</sup>, Federico Román Alonso<sup>3</sup>, José Yuste<sup>1,2</sup>, Mirian Domenech<sup>1,2</sup>

(1) Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Unidad de neumococos, Ctra. de Pozuelo, 28, 28222 Majadahonda, Madrid, España

(2) Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias

(3) Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III., Unidad de infecciones intrahospitalarias

El patógeno *S. aureus* está ampliamente distribuido en todo el mundo y es un miembro de la microbiota humana normal que a menudo coloniza la piel y el tracto respiratorio superior. Las fosas nasales proporcionan el hábitat idóneo para su desarrollo. La formación de biofilms en este microorganismo es frecuente, ya que es un estado fisiológico que promoverá su persistencia, su resistencia a antibióticos y su evasión del sistema inmune. La mayoría de los trabajos describen cinco etapas en la formación de su biofilm (adhesión inicial, multiplicación, éxodo, maduración y dispersión) y lo hacen a tiempo final, sin tener en cuenta su variación con el tiempo. En este trabajo se ha caracterizado la evolución del biofilm de cepas clínicas de *S. aureus* sensibles y resistentes a meticilina de los serotipos 5 y 8, los más frecuentes en clínica. Los biofilms se desarrollaron en placas multipocillo de poliestireno a diferentes tiempos, y se trataron con proteinasa K, DNasal y NaIO<sub>4</sub> para analizar la importancia del DNA extracelular, proteínas extracelulares y exopolisacárido en la matriz del biofilm. Nuestro estudio confirmó que no es correcto hacer una medición a tiempo final del biofilm de *S. aureus*, ya que las cepas consideradas como malas formadoras de biofilm fluctúan a lo largo del tiempo, alcanzando determinadas fases en las que son capaces de formar buenos biofilms. La caracterización de la matriz extracelular demostró que las proteínas extracelulares juegan un papel fundamental en la formación y mantenimiento del biofilm.

Financing: Este trabajo está financiado por el proyecto SAF2017-88664-R del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (MINECO)

### Desarrollo de nuevos biomateriales antimicrobianos para la regeneración ósea que prevengan la infección articular periprotésica

Selena Medaglia<sup>4</sup>, Verónica Patricia Bernabé Quispe<sup>2</sup>, Elena Aznar Gimeno<sup>3,4,5</sup>, M<sup>a</sup> del Pilar Marin Muela<sup>6</sup>, Ramón Martínez Mañez<sup>3,4,5</sup>, **María Ángeles Tormo Mas**<sup>1</sup>

(1) Hospital Universitari i Politènic La Fe, Infección Grave, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Avenida Fernando Abril Martorell, 106 - Torre A, 46026, Valencia, España

(2) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Infección Grave, Valencia

(3) Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid

(4) Universitat Politècnica de València, Universidad de València, Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico, Valencia

(5) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Unidad Mixta de Investigación en Nanomedicina y Sensores, Universitat Politècnica de València, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe

(6) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Unidad de Microscopía, Valencia

La infección articular periprotésica (IAP) es una complicación devastadora en la cirugía articular. Se asocia a una mala evolución del paciente, un mayor tiempo operatorio, una hospitalización prolongada, múltiples procedimientos quirúrgicos, una mayor pérdida de sangre, un mayor número de complicaciones, un aumento de los costes sanitarios, una pérdida permanente del implante, un deterioro de la función, de la calidad de vida del paciente y, en ocasiones, al fracaso de la artroplastia, lo que supone un riesgo de amputación de la extremidad afectada. El origen principal de las IAP es el desarrollo de biofilms bacterianos en la superficie del implante., siendo *Staphylococcus* spp las especies responsables del 60% de las IAP. Los biomateriales de fosfato cálcico se utilizan en la reparación del tejido óseo y en la fijación biológica de implantes protésicos, ya que presentan una gran identidad química y estructural con el material inorgánico componente del hueso y son calificados como bioactivos ya que establecen intercambio químico y formación de enlaces interfaciales entre el tejido vivo y el implante. Como solución a las IAP, en este trabajo se ha desarrollado un nuevo material regenerativo de fosfato cálcico recubierto con un compuesto antimicrobiano derivado de vainillina que podría ser utilizado como un implante óseo con actividad antimicrobiana. Finalmente, hemos demostrado mediante diversos ensayos in vitro e in vivo tanto su biocompatibilidad, como su capacidad de prevenir la formación de biofilm frente a *Staphylococcus epidermidis* y el desarrollo de la consiguiente infección.

Financing: Financiado por: SAF2017-82251-R del MICUI de España a Tormo-Mas MA y INNVAL20/19/008 de la AVI de Valencia a Martínez-Mañez R.

## Impacto de los plásmidos de resistencia a antibióticos en la formación de biofilms en enterobacterias clínicas

Ricardo León-Sampedro<sup>1</sup>, Laura Brülisauer<sup>1</sup>, Fabienne Benz<sup>1</sup>, Alex Hall<sup>1</sup>

(1) ETH Zurich, Institute of Integrative Biology, Zurich, Switzerland

Los plásmidos contribuyen crucialmente a la propagación de resistencia a antibióticos mediante la transferencia horizontal entre patógenos bacterianos. Además de conferir resistencia, estos plásmidos proporcionan diferentes rasgos beneficiosos a sus huéspedes, mejorando su éxito en la colonización del intestino humano. En entornos clínicos, las biopelículas son una gran preocupación debido a su potencial para aumentar la resistencia tanto física como química a antimicrobianos. Existen evidencias de que las biopelículas promueven la persistencia de plásmidos, sin embargo, hay poco consenso sobre los efectos específicos de estos plásmidos sobre la formación de biopelículas y cómo afecta al éxito de las bacterias clínicas. Para probar esto, estudiamos la influencia de los plásmidos en las biopelículas en enterobacterias clínicas aisladas de pacientes hospitalizados. Concretamente utilizamos cuatro aislados de *Escherichia coli* pertenecientes a los cuatro filogrupos más relevantes, albergando diferentes plásmidos que codifican genes de carbapenemasas o  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. Primero, hemos estudiado el efecto de los plásmidos en dos cepas diferentes de *E. coli* encontrando cambios en la formación de biopelículas. En el trabajo en curso, y utilizando un sistema basado en CRISPR/Cas9, estamos curando los plásmidos de los aislados clínicos para comparar los efectos mediados por plásmidos en estas biopelículas. Para comparar estos efectos en los diferentes aislados clínicos, introducimos cada plásmido en cada huésped curado. Finalmente, medimos la formación de biopelículas y evaluamos el coste biológico del plásmido para cada combinación de plásmido-hospedador. Nuestro estudio revela el impacto de los plásmidos en la formación de biopelículas en bacterias clínicas epidemiológicamente exitosas.

### **Análisis de la evolución de la gonorrea en la Unión Europea: perspectivas de futuro**

**Antonio Tarín Pelló<sup>1</sup>**, Beatriz Suay Garcia<sup>2</sup>, Jose Antonio Férez Rubio<sup>2</sup>, Antonio Falcó<sup>2</sup>, María Teresa Pérez Gracia<sup>1</sup>

(1) Universidad CEU Cardenal Herrera, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Calle Santiago Ramón y Cajal 20, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, España

(2) ESI International Chair@CEU-UCH, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Departamento de Matemáticas, Física y Ciencias Tecnológicas, San Bartolomé 55, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, España

La gonorrea representa la tercera infección de transmisión sexual (ITS) en el mundo. El diseño y la aplicación de intervenciones eficaces para controlar y prevenir las ITS deben basarse en un buen conocimiento de los patrones espaciotemporales actuales y emergentes. El objetivo de este estudio fue analizar la distribución temporal de la gonorrea en 11 países de la Unión Europea y predecir su evolución. Para ello, se obtuvieron datos del Atlas de Vigilancia de Enfermedades Infecciosas del ECDC y se analizaron mediante el Test de Friedman y la función auto.arima del paquete de previsión R. Los datos analizados muestran un aumento general de casos de gonorrea en la UE. Reino Unido presentó el mayor incremento y la mayor tasa de incidencia de todos los países analizados. Esto se debe probablemente a sus exhaustivas políticas de cribado. Las predicciones calculadas sugieren que Reino Unido, Hungría, Portugal, España y Suecia seguirán teniendo una tendencia creciente en sus tasas de incidencia, mientras que se prevé que Dinamarca, Letonia y Rumanía experimenten ligeros descensos. En general, las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* han seguido una tendencia creciente en la UE durante la última década. Las diferencias entre países reflejan la distinta aplicación de las políticas de cribado, especialmente entre los pacientes asintomáticos. Además, las predicciones obtenidas sugieren una tendencia alcista para los próximos cuatro años en 5 de los 11 países analizados. Para frenar y prevenir este problema, deberían desarrollarse más campañas de concienciación sobre la resistencia a los antibióticos y de educación sexual.

Financing: Proyecto CEU UCH INDI20/38ESI International Chair@CEU-UCH

## Inactivación a partir de tratamientos combinados de Terapia Fotodinámica y Fluconazol en levaduras resistentes de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

Alejandra Paula Espinosa Taxis<sup>1</sup>, **David Iván Loaiza Toscuento<sup>1</sup>**, Débora Vázquez Domínguez<sup>2</sup>,  
Teresita Spezzia Mazzocco<sup>2</sup>

(1) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ICUAP. México

(2) ICUAP. INAOE

La resistencia microbiana presente en diversos microorganismos ha planteado un problema en la administración de fármacos, debido a esto la investigación en tratamientos alternativos como la terapia fotodinámica (TFD) es necesaria. La TFD requiere de luz específica que en combinación con un fotosensibilizador produce especies reactivas de oxígeno (ERO), que finalmente inducen muerte celular. Por esta razón se ha estudiado la TFD como tratamiento antimicrobiano, demostrando ser eficiente inactivando microorganismos como las levaduras. En este trabajo realizamos tratamientos de TFD y fluconazol por sí solos y combinados en cepas de *C. albicans* y *C. tropicalis* para observar su efecto en estas levaduras. La TFD se realizó con el fotosensibilizador azul de metileno (AM) a las concentraciones de 5 y 10 , se irradió con una fluencia de 30 J por medio de una fuente LED (). Los tratamientos con antifúngico se realizaron con fluconazol (Afungi, Altia) a las concentraciones de 10, 20, 40, y 60 . Los tratamientos para TFD o fluconazol, por sí solos no fueron letales; sin embargo, con los tratamientos combinados, la dosis de , 10 AM y 40 de fluconazol, inactivaron el 100 % de las unidades formadoras de colonia de *C. albicans* y 94.6 % de *C. tropicalis*. En este trabajo se demostró que el tratamiento combinado de terapia fotodinámica y fluconazol inhibieron el crecimiento en mayor porcentaje de las levaduras de *C. albicans* y *C. tropicalis*.

Financing: Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y electrónica. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México



### Los mutantes $\Delta$ wadC y $\Delta$ ppdK en *B. melitensis* estimulan la respuesta Th1 en ratón y están atenuados en ovejas gestantes

Sean Hanniffy<sup>1</sup>, Vilma Arce-Gorvel<sup>1</sup>, Aude-Agnès Guilhon<sup>2</sup>, Lillia Hadjem<sup>2</sup>, Herve Luche<sup>2</sup>, María Jesús de Miguel<sup>3</sup>, Maite Iriarte<sup>4</sup>, Sara Andrés-Barranco<sup>3</sup>, José María Blasco<sup>3</sup>, Montserrat Barberán<sup>3</sup>, Clara M. Marín<sup>3</sup>, Ignacio Moriyón<sup>4</sup>, Amaia Zúñiga-Ripa<sup>4</sup>, Raquel Conde-Alvarez<sup>4</sup>, **Pilar María Muñoz Álvaro**<sup>3</sup>, Jean-Pierre Gorvel<sup>1</sup>

(1) Aix Marseille Univ, CNRS, INSERM, CIML,, Marseille, France

(2) Centre d'Immunophénomique CIPHE, Marseille, France

(3) Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Zaragoza, Spain

(4) Instituto de Salud Tropical (ISTUN), Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdiSNA) and Universidad de Navarra, Dpto. de Microbiología y Parasitología, Pamplona, Spain

*Brucella* es un patógeno bacteriano intracelular que afecta gravemente al ganado y la salud humana en múltiples países, particularmente aquellos en vías de desarrollo. La vacunación de los animales es esencial para su control pero Rev1 (única vacuna disponible frente a la brucelosis ovina y caprina causada por *B. melitensis*) produce abortos, lo que impide su uso en campañas de vacunación masiva, única estrategia de control posible en países con elevada prevalencia. Para desarrollar vacunas seguras y que proporcionen un balance óptimo atenuación/respuesta Th1, se analizaron mutantes de *B. melitensis* 16M en el núcleo del lipopolisacárido ( $\Delta$ wadC), piruvato-fosfato dikinasa ( $\Delta$ ppdK) y dobles ( $\Delta$ wadC $\Delta$ ppdK). Empleando el modelo OIE murino, todos protegieron al nivel de Rev1 y  $\Delta$ ppdK mostró replicación muy reducida y persistencia nula 6 semanas post-inoculación. Se observó esplenomegalia reducida con menor infiltración mieloide, una respuesta dominante de citocinas Th1 (en ensayos ex-vivo) y una activación de efectores y sub-poblaciones de células de memoria CD4+ and CD8+. Con estos resultados, se reprodujeron  $\Delta$ wadC y  $\Delta$ wadC $\Delta$ ppdK en Rev1, se inocularon corderos machos y hembras y ovejas preñadas y, en comparación con Rev1, se estudió el perfil de citocinas, la persistencia en los órganos diana y el efecto abortifaciente. Al contrario que Rev1, Rev1 $\Delta$ wadC y Rev1 $\Delta$ wadC $\Delta$ ppdK no indujeron abortos. Además, la cinética de multiplicación en órganos diana e inducción de anticuerpos de Rev1 $\Delta$ wadC sugieren que se trata de un candidato idóneo para estudios de protección frente a *B. melitensis* en pequeños rumiantes

Financing: proyectos Bru-Vac, AMIDEXA\_M-AAP-TR-13-06-130813 y Gobierno de Aragón (Grupo de Investigación A13\_17)

## Microdilution well plate method optimization to evaluate antibacterial activity in vitro using microvolumes

**Juliana Franco Castrillón<sup>1</sup>**, Germán Alberto Tellez<sup>1</sup>, Lily Johana Toro Segovia<sup>1</sup>, Diana Carolina Henao<sup>1</sup>, Jhon Carlos Castaño Osorio<sup>1</sup>

(1) Universidad del Quindío, Ciencias Biomédicas, Ciencias de la Salud, Carrera 15 #12N, Armenia, Quindío, Armenia, Colombia

Searching for new antimicrobial substances is required nowadays due to a serious worldwide problem of public health, antibiotic resistance. However, antimicrobial researches are often expensive and laborious, thus the development of fast, cheap, and reproducible experimental techniques to evaluate antimicrobial activity in vitro of compounds is needed. Hence, the conditions to evaluate antibacterial activity in vitro using micro volumes were optimized in this paper, in order to reduce costs, time, and effort in upcoming investigations. To achieve this, well-plate micro dilutions of ampicillin sodium salt were done using bacteria *E. coli* (DH10B & ATCC 25922). Resazurin (Alamar Blue) was used as a cell metabolism indicator dye reagent. Different variables influencing the performance of the well-plate microdilution technique when reducing the final evaluation volume were studied. These variables were resazurin concentration (44, 22, 10, and 4 $\mu$ M), resazurin incubation time, reading method (spectrophotometry and fluorometry), and final microdilution volume. Final microdilution volume was reduced using decreasing evaluation volumes (100, 50, 40, 25 y 10 $\mu$ L). The final evaluation volume in the microdilution well plate technique can be reduced to 50 $\mu$ L in 96 well plates and to 25 $\mu$ L in 384 well plates. Resazurin performed better as a cell activity indicator at 44 $\mu$ M. Measurements should be taken after an incubation time with resazurin of 90 minutes and fluorometry was easier for analysis, more sensitive, stable, selective, and accurate than spectrophotometry, however, either method can be used to evaluate antibacterial activity quantitatively. Finally, the optimized technique was validated testing some antimicrobial peptides.

Financing: Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS de COLOMBIA

**Taxonomía, Filogenia y Diversidad**  
**Presentación Oral**

**¿Existe la comunicación cruzada entre el endosimbionte *Blattabacterium* y la microbiota intestinal en la cucaracha alemana?**

**Rebeca Domínguez-Santos<sup>1</sup>**, Monica Cazzaniga<sup>1</sup>, Rosario Gil<sup>1</sup>, Amparo Latorre<sup>1,3</sup>, Carlos García-Ferris<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I2SysBio), Universidad de Valencia y CSIC, Paterna, España

(2) Universidad de Valencia, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Valencia, España

(3) Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica, Área de Genómica y Salud, Valencia, España

Las cucarachas son insectos fascinantes porque albergan dos sistemas simbióticos que cohabitan en el mismo individuo: una microbiota intestinal abundante y compleja, que podría jugar un papel importante en la fisiología del hospedador, y el endosimbionte *Blattabacterium* *cuenoti*, una bacteria gram-negativa ubicada en un tipo de células del cuerpo graso (bacteriocitos), que es clave en la producción de aminoácidos y el reciclaje de nitrógeno. El modo de transmisión de ambos sistemas simbióticos es diferente: la microbiota intestinal se adquiere por transmisión horizontal (coprofagia, dieta y medio ambiente), mientras que *Blattabacterium* se transmite verticalmente de la madre a los ovocitos. La cucaracha alemana *Blattella germanica* es un sistema modelo apropiado para estudiar si la microbiota intestinal podría, de alguna manera, complementar las funciones de *Blattabacterium*. En este trabajo, evaluamos la relación simbiótica entre el hospedador, *Blattabacterium* y la microbiota intestinal. Primero, debido a la imposibilidad de obtener cucarachas aposimbióticas, concluimos que el endosimbionte es fundamental para el desarrollo y reproducción de *B. germanica*. Tras esto, evaluamos los parámetros de eficacia biológica en cucarachas cuasi-aposimbióticas. Además, utilizamos un enfoque metagenómico en poblaciones control y cuasi-aposimbióticas para desentrañar la comunicación entre la microbiota intestinal y el endosimbionte. Determinamos que no existe comunicación entre ambos sistemas simbióticos, ya que la reducción de la población de endosimbionte no afecta a la composición ni a la estructura de la microbiota intestinal.

Financing: Este trabajo fue apoyado por subvenciones PGC2018-099344-B-I00 (MICINN and ERDF) y PROMETEO/2018/133 (GVA/INNOVA).

## El tiempo de contacto con las madres es un factor clave en el desarrollo de la microbiota nasal de lechones

**Pau Obregon<sup>1</sup>**, Virginia Aragón<sup>1</sup>, Florencia Correa-Fiz<sup>1</sup>

(1) Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA, IRTA-UAB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona., 08193-Bellaterra, España

La microbiota nasal está estrechamente relacionada con la salud de los lechones, y el contacto lechón-madre es un factor que influye en su desarrollo. El impacto puede ser especialmente relevante en lechones criados artificialmente en ambientes controlados, y que se usan como modelos experimentales. Por lo tanto, la microbiota nasal de lechones criados en instalaciones de alta bioseguridad y con variable contacto con las madres (sin contacto, contacto reducido, y contacto normal) se estudió por secuenciación del gen rRNA 16S. Se comprobó que la composición de la microbiota nasal de los lechones al destete estaba altamente influenciada por el contacto con las madres. Aquellos lechones que tuvieron un contacto normal mostraron una composición más rica y parecida a las comunidades nasales de lechones sanos crecidos en granjas convencionales, previamente descritas. Por otro lado, aquellos lechones cuyo contacto con las madres fue reducido o nulo mostraron una composición, dominada por grupos bacterianos no comunes en este nicho. Además, la mayor semejanza de los grupos sin y con contacto reducido sugirió que el tiempo del contacto lechón-madre también era una variable relevante. Todos los grupos mostraron diferencias cuando la microbiota fue comparada con la de animales de granja, posiblemente debidas a las condiciones diferenciales de las instalaciones de bioseguridad. La cría artificial en ambientes altamente controlados, donde los lechones son habitualmente criados sin las madres, tiene un efecto importante en el desarrollo de la microbiota nasal de los lechones, y debería tenerse en cuenta en estudios desarrollados con estos modelos.

Financing: Proyectos AGL2016-77361-R y PID2019-106233RB-I00 y beca FPU19/02126 de P. Obregon-Gutierrez (Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España).

### Aislamiento de bacterias halófilas y halotolerantes en el Valle Salado de Añana (Álava)

Maia Azpiazu Muniozgueren<sup>1</sup>, Lorena Laorden Muñoz<sup>1</sup>, Irati Martínez Malax-etxebarria<sup>1</sup>, Joseba Bikandi Bikandi<sup>1</sup>, Javier Garaizar Candina<sup>1</sup>, **Ilargi Martínez Ballesteros<sup>1</sup>**

(1) Grupo de Investigación Mikrolker. Universidad del País Vasco UPV/EHU, Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Paseo de la Universidad 7, Vitoria-Gasteiz, España

El Valle Salado de Añana se emplaza sobre una burbuja de sal que procede de la desecación del mar hace 200 millones de años. El agua que surge de los manantiales del valle ofrece un hábitat salino de gran biodiversidad, habitados por microorganismos halófilos y halotolerantes. Actualmente, no se conoce la diversidad microbiana existente en este valle, y se desconoce el potencial biotecnológico que podrían tener algunos de los microorganismos presentes en este ecosistema. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es aislar e identificar bacterias cultivables presentes en diferentes puntos de agua en el valle y realizar un estudio preliminar de la capacidad productora de compuestos bioactivos. Se han obtenido un total de 92 aislamientos bacterianos, principalmente Gram-negativas. Entre ellos, el 72% pertenecen al filo Proteobacteria, seguido de Firmicutes (11%), Bacteroidetes (9%) y Actinobacteria (8%). Los géneros mayoritarios identificados fueron Halomonas y Pseudoalteromonas. Se realizó un ensayo de antagonismo con las cepas aisladas frente a cepas tipo de patógenos habituales. Trece de los aislamientos testados inhibieron el crecimiento de alguna cepa patógena. Además, diferentes aislamientos de Halomonas, Serratia, Palleronia, Pseudoalteromonas, Marinobacter y Psychroflexus demostraron capacidad de generar una emulsión estable (índice de emulsificación 24h  $\geq$  40%) con aceites, petróleo o n-hexano; indicando así la producción de algún biotensoactivo. En conclusión, la población bacteriana cultivable del Valle Salado de Añana es abundante y diversa. Además, se deben estudiar con más detalle los metabolitos producidos por algunos aislamientos para su caracterización y comprobación de su aplicabilidad.

Financing: Convenio Específico entre Fundación Valle Salado y UPV/EHU; UPV/EHU mediante el Proyecto Universidad-Empresa-Sociedad US19/01.

## El DNA disuelto como fuente de información sobre la dinámica microbiana

**Borja Aldeguer Riquelme<sup>1</sup>**, Maria Dolores Ramos Barbero<sup>1</sup>, Fernando Santos<sup>1</sup>, Josefa Antón<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Alicante, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Facultad de Ciencias, Ctra. San Vicente del Raspeig s/n, San Vicente del Raspeig, España

El término "DNA extracelular" (eDNA) engloba al DNA presente fuera de estructuras celulares e incluye DNA vírico y disuelto. Este componente de los ecosistemas microbianos es utilizado como fuente de nutrientes y como agente de transferencia génica horizontal. Los ambientes hipersalinos presentan las concentraciones de eDNA más elevadas descritas hasta la fecha, que se han atribuido al efecto conservador de la sal y a la elevada abundancia vírica en estos sistemas. En el presente trabajo, hemos comparado los protocolos de filtración y centrifugación para la extracción de DNA disuelto (dDNA) de una muestra de agua del estanque cristalizador CR30 de las salinas solares de Santa Pola (Alicante). El dDNA del cristalizador se ha caracterizado por primera vez y se ha comparado con los metagenomas celular y vírico del mismo estanque. Nuestros resultados muestran que la centrifugación a altas velocidades ( $\geq 20.000 \times g$ ) afecta a la concentración y composición del dDNA debido a la lisis celular, remarcando la necesidad de optimizar el protocolo antes de iniciar un estudio de dDNA. El dDNA del cristalizador presentó una concentración inferior a las reportadas previamente para sedimentos anóxicos hipersalinos, estuvo compuesto por DNA de origen celular y vírico, enriquecido en DNA de arqueas, y presentó un perfil taxonómico diferente al de la comunidad celular. Los análisis bioinformáticos indicaron que estas diferencias de composición podrían ser debidas a la actividad de los virus de nanohaloarqueas. En resumen, estos resultados demuestran que el dDNA puede aportar información valiosa sobre la dinámica de las comunidades microbianas.

Financing: MICROMATESPGC2018-096956-B-C44 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades) PROMETEO/2017/129 (Generalitat Valenciana) ACIF18 (Generalitat Valenciana)



### Disbiosis ecológica como factor etiológico de la caries: cambios del microbioma y metaboloma en un modelo in vitro supragingival

**Angela Velapatiño Gamarra**<sup>1</sup>, Maria del Carmen Sanchez Beltrán<sup>2</sup>, Arancha Llama Palacios<sup>3</sup>, Maria José Ciudad Cabañas<sup>4</sup>, Luis Rodolfo Collado Yurrita<sup>5</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Medicina, Odontología, Plaza de Ramon y Cajal s/n, Madrid, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Medicina, Medicina, Plaza de Ramon y Cajal s/n, Madrid, España

(3) Universidad Complutense de Madrid, Medicina, Medicina, Plaza de Ramon y Cajal s/n, Madrid, España

(4) Universidad Complutense de Madrid, Medicina, Medicina, Plaza de Ramon y Cajal s/n, Madrid, España

(5) Universidad Complutense de Madrid, Medicina, Medicina, Plaza de Ramon y Cajal s/n, 28040, Madrid, España

La cavidad oral alberga una comunidad bacteriana diversa y numerosa organizada como biofilms, factor etiológico de diversas enfermedades orales con repercusiones sistémicas. La placa dental coexiste en homeostasis con el huésped. Sin embargo, el equilibrio se puede alterar y aparece la enfermedad. Para ampliar los conocimientos de la disbiosis ecológica que ocurre en este nicho, directamente ligada a la caries, se realizó un análisis meta-taxonómico basado en la secuenciación del gen 16S rRNA, utilizando un modelo in vitro de biofilm oral supragingival, derivado de saliva humana, tanto en condición comensal como cariogénica mediante la adición de sacarosa como desencadenante de la enfermedad. Además se procedió a la obtención de los perfiles metabolómicos comparativos mediante UHPLC-Q/TOF MS. El análisis taxonómico de ambas comunidades bacterianas mostró que, aunque la heterogeneidad general no difirió sustancialmente entre ambas condiciones, se encontraron diversos OTUs con abundancias relativas significativamente diferentes. Destacó el aumento significativo del género *Streptococcus*, en particular *S. parasanguinis* y *S. anginosus*, en los biofilms cariogénicos, así como de *Fusobacterium* o *Prevotella*, con un descenso significativo de *Rothia* o *Granulicatella*. Como consecuencia del cambio en la composición de la microbiota, se detectaron cambios metabolómicos significativos cuando se compararon los metabolitos secretados al medio ambiente por biofilms comensales o cariogénicos (Tasa de Cambio Cariogénico/Comensal >2 y FDR < 0.05). Se detectaron diferencias significativas para 59 metabolitos, relacionados principalmente con el metabolismo de aminoácidos, entre ellos arginina, cisteína y glutamina, y del carbono, incluida la vía Embden-Meyerhof-Parnas (glucólisis), la vía pentosa-fosfato y el ciclo del ácido tricarbóxico (ciclo TCA).

Financing: Sin financiación externa.

## ¿Qué es una "cepa" y cuántas de la misma especie coexistirían en un sistema natural?

**Tomeu Viver**<sup>1</sup>, Roth E. Conrad<sup>2</sup>, Fanus Venter<sup>3</sup>, Konstantinos T. Konstantinidis<sup>2</sup>, Ramon Rosselló-Móra<sup>1</sup>

(1) Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA), Departamento de biodiversidad animal y microbiana, C/ Miquel Marquès, 21, Esporles, España

(2) Georgia Institute of Technology, School of Civil Environmental Engineering, 311 Ferst Drive, EST Building, Atlanta, United States

(3) University of Pretoria, Biotechnology Institute (FABI), Pretoria, South Africa

La combinación de genómica y metagenómica ha evidenciado la existencia de una elevada diversidad genética entre las poblaciones de una misma especie. En consecuencia, poder cuantificar la diversidad genómica intraespecífica y definir el concepto de "cepa" supone un importante desafío. Con este fin, recuperamos 207 aislados de *Salinibacter ruber* de cuatro estanques salinos adyacentes. Mediante la técnica de RAPD, se distinguieron las variantes clonales (VCs) entre los aislados. El 90% de la colección estaba formada por VCs únicas, sin embargo, el 10% estaba formado por al menos dos aislados con perfiles casi idénticos. Se secuenciaron los genomas de un total de 121 aislados. La comparación entre las VCs mostró que las diferencias en nucleótidos estaban dentro de los límites del error de la secuenciación y consideramos que estos genomas representaban una misma cepa, y que los límites de discriminación fueron un ANI >99,9% y >99% de genoma compartido para una VC y un ANI <99,6% y <96% de genoma compartido entre distintas cepas. Determinando la abundancia de las cepas en los metagenomas de las muestras de origen, observamos que las VCs recuperadas con mayor frecuencia no representaban las cepas abundantes, lo que nos permitió cuantificar el sesgo de cultivo, así como la diversidad genómica intraespecífica. A partir de un experimento en forma de mesocosmos, donde se alteraron los principales factores ambientales (radiación y salinidad), estudiamos la fluctuación de las cepas ante estos cambios. Los resultados demostraron que la hipótesis de la "especialización ante una alteración" ocurre a nivel de cepa.

Financing: Ministerio de ciencia e innovación Gobierno de España (MICROMATES PGC2018-096956-B-C44 y MARBIOM RTC-2017-6405-1), incluyendo fondos FEDER.

### Diversidad y filogenia de levaduras negras (Chaetothyriales) en sedimentos fluviales de Cataluña

Daniel Torres-García<sup>1</sup>, Josepa Gené<sup>1</sup>, Dania García<sup>1</sup>

(1) Universitat Rovira i Virgili, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Unitat de Micologia i Microbiologia Ambiental, Reus, Spain

Las levaduras negras comprenden un grupo de ascomicetes del orden Chaetothyriales con una morfología muy variable y una gran diversidad de nichos ecológicos y ciclos de vida. Encontramos especies saprófitas sobre restos vegetales, asociadas a plantas como endófitos, epífitos, o fitopatógenas, pero también son capaces de causar enfermedades en animales, incluido el hombre. Se han aislado de ambientes extremos y algunas son capaces de degradar compuestos aromáticos contaminantes. Considerando su ubicuidad y los escasos estudios existentes sobre levaduras negras aisladas de sedimentos fluviales, creímos interesante estudiar su biodiversidad a partir de muestras procedentes de arroyos y ríos de Cataluña. Hasta la fecha se han recolectado 56 muestras de este sustrato, las cuales se sembraron en diferentes medios de cultivo, entre ellos agar patata dextrosa suplementado con cicloheximida como medio adecuado para el aislamiento de levaduras negras. Las 34 cepas obtenidas se identificaron, morfológica- y molecularmente mediante análisis de secuencias del ADNnr (ITS/LSU), como pertenecientes a los géneros *Cladophialophora* (n=3), *Cyphellophora* (n=1), *Exophiala* (n=26), *Phialophora* (n=3) y *Rhinocladiella* (n=1), siendo *Exophiala radialis* la especie más representativa entre dichas cepas. Sin embargo, siete de ellas no pudieron ser asignadas a ninguna especie conocida. El análisis multigénico, combinando secuencias de ITS, LSU, fragmentos de  $\beta$ -tubulina y factor de elongación 1- $\alpha$  para cada uno de los géneros mencionados, así como un estudio morfológico comparativo, ha permitido dilucidar su taxonomía y describir siete nuevas especies para la ciencia. Estos resultados sugieren que los sedimentos fluviales constituyen un importante reservorio de hongos de interés taxonómico.

Financing: Estudio subvencionado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (CGL2017-88094-P).

## Estudio de la microbiota xilemática de *Vitis vinifera* en plantas infectadas y no infectadas por *Xylella fastidiosa* por MALDI-TOF MS

**Antonio Busquets Bisbal<sup>1</sup>**, Maria Cañellas<sup>1</sup>, Barbara Quetglas<sup>1</sup>, Pere A. Gost<sup>1</sup>, Rosa M. Gomila<sup>2</sup>, Catalina Cabot<sup>1</sup>, Rafael Bosch Zaragoza<sup>1</sup>, Margarita Gomila Ribas<sup>1</sup>

(1) Universitat de les Illes Balears, Departamento de Biología, Facultad de ciencias, Ctra. Valldemossa, km. 7.5 - 07122, Palma, España

(2) Universitat de les Illes Balears, Serveis Científic Tècnics, Crta de Valldemossa km 7.5, 07122, Palma, España

Con el objetivo de discernir el posible papel de la microbiota presente en el xilema de la vid (*Vitis vinifera*) en la enfermedad de Pierce y su posible papel en su transmisión y/o progresión de la enfermedad se recogieron muestras de savia bruta directamente de la vid aprovechando el lloro del viñedo de dos variedades de uva diferentes, Manto negro y Cabernet Sauvignon en el mes de marzo de 2021. De Manto negro (variedad autóctona) se seleccionaron 4 plantas positivas para *X. fastidiosa* y 4 negativas y de Cabernet Sauvignon se seleccionaron 6 plantas positivas para *X. fastidiosa* y 2 negativas. Cada una de las muestras se sembraron en 4 medios de cultivo diferentes, agar R2A, agar nutritivo, agar cetrimide y KingA. Todas las muestras se incubaron durante una semana a temperatura ambiente. En total se obtuvieron 1246 aislados, 653 recuperados de Manto negro y 593 de Cabernet-Sauvignon. Todos los aislados una vez obtenido cultivo puro se identificaron mediante espectrometría de masas por MALDI-TOF. Los resultados preliminares muestran la presencia de bacterias del género *Curtobacterium*, *Sphingomonas* y *Pseudomonas*, entre otras. El análisis preliminar no muestra diferencias cuantitativas o cualitativas significativas en la microbiota endófito del sistema xilemático entre ambas variedades de uva y la presencia o no de *Xylella fastidiosa*. En el proceso de aislamiento se han observado sinergias entre los distintos aislados que necesitan un análisis más exhaustivo.

**Taxonomía, Filogenia y Diversidad**  
E-poster

**Diversidad procariota cultivable de suelos hipersalinos de las Marismas del Odiel (Huelva)**

**Cristina Sánchez-Porro**<sup>1</sup>, Cristina Galisteo<sup>1</sup>, Dáša Straková<sup>1</sup>, Rafael R. de la Haba<sup>1</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Calle Profesor García González 2, 41012, Sevilla, España

Los ambientes hipersalinos han sido objeto de muchos estudios durante años, poniendo de manifiesto la alta diversidad procariota de estos hábitats frente a lo que se pensaba originalmente. Dichos trabajos se han focalizado, en su mayoría, en ambientes acuáticos, si bien, en los últimos años, se ha extendido el interés por los suelos hipersalinos en los que estudios independientes de cultivo han puesto de manifiesto que su biodiversidad es aún mayor que en sus homólogos acuáticos. En el presente trabajo se han analizado muestras de suelos hipersalinos de las Marismas del Odiel (Huelva) que nuestro grupo ya había estudiado mediante técnicas metagenómicas, mediante su cultivo en distintos medios a diferentes concentraciones salinas. Hasta la fecha, se han aislado en cultivo puro más de 3.000 cepas, de las cuales, más de 400 han sido clasificadas a nivel de género en base a la similitud de su secuencia parcial o total del gen ARNr 16S frente a la base de datos EzBioCloud, específica para procariotas. Entre los géneros más abundantes destacan Halomonas, Marinobacter, Aquibacillus, Thalassobacillus y Bacillus en el dominio Bacteria, y Halorubrum, Halogeometricum y Haloarcula en el dominio Archaea. Aquellas cepas con valores de semejanza en su secuencia del gen ARNr 16S inferiores al 98,7% respecto a las cepas tipo de las especies más próximas se seleccionaron como candidatas para un estudio taxo-genómico más detallado.

Financing: Proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad (CGL2017-83385-P) y de la Junta de Andalucía (BIO-213, US-1263771). Fondos FEDER.

## Insights into hypersaline terrestrial systems: new culturable haloarchaea

**Dáša Straková<sup>1</sup>**, Cristina Galisteo<sup>1</sup>, Rafael R. de la Haba<sup>1</sup>, Cristina Sánchez-Porro<sup>1</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Sevilla

Halophilic microorganisms are extremophiles able to grow at high salt concentrations. They are represented by both, bacteria and archaea, well adapted to live in hypersaline habitats, such as saline lakes, salterns, saline soils, salt mines, salted foods, etc. Although extensive studies have been performed on aquatic hypersaline habitats, much less attention has been paid to other saline environments such as saline soil systems. Based on previous studies, soil environments are the most diverse environments on Earth, presumably due to a higher heterogeneity of the soil structure and higher disturbance rates. This work is part of a larger study focused on the isolation and characterization of archaea and bacteria from hypersaline soils located in Odiel Saltmarshes (Huelva, Spain). As a part of our initial screening, we sequenced the partial 16S rRNA gene of the isolated strains. For those that were potentially interesting, we carried out a phylogenetic study based on the complete 16S rRNA gene sequence analysis. To complete the phylogenetic studies, we also sequenced the *rpoB*' gene to double check what strains might represent new halophilic taxa. As a representative of a group of new haloarchaea, we studied in more detail the strain 1CPR25-25, which was isolated in R2A medium with 25% NaCl. The 16S rRNA gene sequence comparison with other previously described haloarchaeal species suggests that it may represent a new species of the genus *Haloarcula*. We carried out whole genome sequencing and phenotypic characterization of the aforementioned strain while polar lipids characterization is in progress.

Financing: This work was supported by MINECO (CGL2017-83385-P) and Junta de Andalucía (BIO-213, US-1263771), both with FEDER funds.



### **Natronomonas aquatica sp. nov., una nueva haloarquea aislada de las salinas de Isla Cristina (Huelva)**

**Alicia García-Roldán<sup>1</sup>**, Ana Durán-Viseras<sup>1</sup>, Cristina Sánchez-Porro<sup>1</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Sevilla

Las salinas solares son ambientes hipersalinos que constituyen un modelo ideal para el estudio de los microorganismos extremófilos y su biodiversidad debido a su estructura basada en concentraciones de salinidad escalonadas. Gracias a la metagenómica, se ha conseguido estudiar con mayor profundidad la biodiversidad de estos sistemas. Uno de los objetivos de nuestro estudio es conseguir aislar microorganismos que, viviendo en este entorno, no se han podido cultivar bajo las condiciones de laboratorio. Para ello, hemos llevado a cabo diversos muestreos, entre los que destaca el realizado en las salinas de Isla Cristina (Huelva) y hemos cultivado las muestras en diferentes condiciones. Así, hemos aislado, entre otras, una cepa denominada F2-12, a la cual, la hemos sometido a estudios fenotípicos, quimiotaxonómicos, filogenéticos y genotípicos, y ha demostrado estar relacionada con especies del género *Natronomonas* (clase Halobacteria, orden Halobacteriales, familia Haloarculaceae, dentro del dominio Archaea). Los árboles filogenéticos basados en el análisis de los genes ARNr 16S y *rpoB*, así como el árbol filogenómico confirman dicha hipótesis, la cual también se apoya en los resultados obtenidos tras el cálculo de los índices OrthoANI (Average Nucleotide Identity), AAI (Amino Acid Identity) y la hibridación ADN-ADN in silico. Teniendo en cuenta dichos resultados, la cepa F2-12 constituye una nueva especie del género *Natronomonas*, para la que proponemos la denominación *Natronomonas aquatica* sp. nov.

Financing: Financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (CGL2017-83385-P) y la Junta de Andalucía (BIO-213, US-1263771), incluyendo fondos europeos (FEDER).

## Taxofilogénica de los géneros *Fodinibius* y *Aliifodinibius* y propuesta de *Fodinibius salsiisoli* sp. nov.

**Cristina Galisteo**<sup>1</sup>, Rafael Ruíz de la Haba<sup>1</sup>, Cristina Sánchez-Porro<sup>1</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Sevilla

Los suelos hipersalinos poseen una gran diversidad procariota, según han puesto de manifiesto estudios metagenómicos recientes. Estos parecen indicar la existencia de una considerable "materia oscura microbiana" no aislada ni caracterizada hasta la fecha. En el presente trabajo se describe una nueva cepa perteneciente al género *Aliifodinibius*, denominada 1BSP15-2V2, procedente de los suelos hipersalinos de las Marismas del Odiel, Huelva. Dicho género se engloba dentro de la familia Balneolaceae, junto con los géneros *Balneola*, *Fodinibius*, *Gracilimonas* y *Rhodohalobacter*. Para la caracterización de la nueva cepa se ha llevado a cabo un análisis fenotípico, quimiotaxonómico y genómico comparativo frente a las cepas tipo de las distintas especies del género *Aliifodinibius*, así como de *Fodinibius* y de otras especies relacionadas de los distintos géneros de la familia Balneolaceae. Los índices genómicos AAI, orthoANI y GGDC, junto con el análisis filogenómico basado en la secuencia de 1.086 core genes, indican que la cepa 1BSP15-2V2 constituye una nueva especie, estrechamente relacionada con las especies del género *Aliifodinibius*. Además, dicho análisis demuestra el agrupamiento monofilético de la especie *Fodinibius salinus*, única representante del género, con el resto de especies de *Aliifodinibius*. Basándonos en los datos obtenidos, se propone la reclasificación de las especies del género *Aliifodinibius* dentro del género *Fodinibius*, así como la descripción de la cepa 1BSP15-2V2 como una nueva especie del género *Fodinibius*, con la denominación de *Fodinibius salsiisoli* sp. nov.

Financing: Financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (CGL2017-83385-P) y la Junta de Andalucía (BIO-213, US-1263771), incluyendo fondos europeos (FEDER).

### ¿Es resiliente la microbiota intestinal frente al uso de antibióticos? Un estudio longitudinal en la cucaracha alemana

**Jesús Marín-Miret**<sup>1</sup>, Ana Elena Pérez-Cobas<sup>2</sup>, Amparo Latorre<sup>1,3,4</sup>, Andrés Moya<sup>1,3,4</sup>

(1) Institute for Integrative Systems Biology (I2SysBio), University of Valencia and CSIC, Valencia, Spain.

(2) Department of Microbiology, Ramón y Cajal Institute for Health Research (IRYCIS), Ramón y Cajal University Hospital, Madrid, Spain.

(3) Genomics and Health Area, Foundation for the Promotion of Sanitary and Biomedical Research (FISABIO), Valencia, Spain.

(4) Biomedical Research Center Network of Epidemiology and Public Health (CIBEResp), Madrid, Spain.

La composición de la microbiota intestinal puede variar dependiendo de factores como la dieta, la edad, el tejido, la genética, o el tratamiento con diferentes fármacos, entre otros. La respuesta de la microbiota a estos factores depende de su resiliencia. En Ecología, el término resiliencia hace referencia a aquellas comunidades que son capaces de absorber las perturbaciones recuperando su composición y funcionalidad, regresando al estado original previo a la perturbación. Obviamente, comprobar la resiliencia requiere del seguimiento temporal de la comunidad. En este trabajo se ha estudiado el cambio en la composición de la microbiota intestinal a lo largo del tiempo en poblaciones de *Blattella germanica* sometidas a tratamiento el antibiótico kanamicina de manera periódica. El objetivo es evaluar si la microbiota de este insecto es resiliente. Por otro lado, se ha medido el efecto que el antibiótico tiene en la eficacia biológica de la cucaracha, concretamente en el número de ninfas producidas y el peso de cada individuo. Hemos observado resiliencia en la recuperación composicional a dos niveles; primero, que, tras el tratamiento con antibiótico en cada uno de los tres periodos, la microbiota intestinal se recupera y, segundo, que esa recuperación se acelera con los periodos. Por último, hemos observado que el antibiótico no parece afectar los parámetros de eficacia biológica de *B. germanica* estudiados.

Financing: Este trabajo fue apoyado por subvenciones PGC2018-099344-B-I00 (MICINN and ERDF) y PROMETEO/2018/133 (GVA/INNOVA).

## Taxogenómica y metabolismo de *Marinobacterium ramblicola* sp. nov., una nueva bacteria aislada de Rambla Salada, Murcia.

Ana Durán-Viseras<sup>1</sup>, David J. Castro<sup>1</sup>, Jose Carlos Reina<sup>1</sup>, Victoria Béjar<sup>1</sup>, Fernando Martínez-Checa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus de la Cartuja s.n. 18071, Granada, España

El género *Marinobacterium*, perteneciente a la familia Alteromonadaceae, hasta la fecha cuenta con 18 especies diferentes descritas, de las cuales *Marinobacterium georgiense* es la especie tipo. Estudios llevados a cabo por nuestro grupo siguiendo la metodología de dilución a extinción en diferentes muestras de suelo obtenidas de Rambla Salada, una rambla hipersalina ubicada en Murcia, han permitido el aislamiento en cultivo puro de una extensa colección de cepas microbianas. Entre dichos aislados, se encuentra la cepa D7T, filogenéticamente relacionada con el género *Marinobacterium*. El objetivo de este trabajo ha sido la caracterización polifásica de esta cepa, incluyendo el estudio de sus características fenotípicas, genotípicas, filogenéticas y quimiotaxonómicas, así como un estudio genómico comparativo entre la misma y las cepas tipo de las especies filogenéticamente relacionadas del género *Marinobacterium*. Los resultados obtenidos han permitido su descripción como una nueva especie dentro de dicho género, para la cual proponemos el nombre de *Marinobacterium ramblicola* sp. nov. El análisis en profundidad del genoma de la cepa D7T revela su capacidad para incorporar, sintetizar y degradar solutos compatibles como la ectoína, sugiriendo el papel de este compuesto como osmoprotector y como fuente de energía. Asimismo, se han detectado los genes implicados en las rutas de desnitrificación, fijación de nitrógeno atmosférico y reducción desasimilatoria de nitrato; genes relacionados con un metabolismo energético litotrófico basado en la oxidación de compuestos azufrados; así como varias rutas de degradación de compuestos aromáticos como el benceno, el benzoato o el antranilato, reflejando así la versatilidad metabólica del nuevo taxón.

Financing: Dirección General de Investigación Científica y Técnica (CGL2011-25748), Ministerio de Economía y Competitividad, España.

## Bioprospección microbiana de potenciales nuevas especies bacterianas mediante técnicas convencionales de cultivo: una nueva oportunidad

**Esther Molina-Menor**<sup>1</sup>, Helena Gimeno-Valero<sup>2</sup>, Javier Pascual<sup>2</sup>, Àngela Vidal-Verdú<sup>1</sup>, Leila Satari<sup>1</sup>, Alba Calonge-García<sup>1</sup>, Juli Peretó<sup>1,2,3</sup>, Manuel Porcar<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Valencia, Instituto de Biología Integrativa de Sistemas

(2) Darwin Bioprospecting Excellence S.L

(3) Universidad de Valencia, Departament de Bioquímica i Biologia Molecular

Las técnicas de cultivo de microorganismos han sufrido en los últimos años importantes cambios. Las tecnologías de secuenciación masiva descubrieron que, con las técnicas tradicionales, estábamos obviando a la inmensa mayoría de los microorganismos que habitan en nuestro planeta. Sin embargo, la combinación de estrategias simples y fáciles de llevar a cabo todavía son de gran interés para la taxonomía microbiana. En este trabajo describimos el aislamiento de una elevada fracción de potenciales nuevas especies bacterianas combinando diferentes medios de cultivo y tiempos extendidos de incubación, a partir de muestras de biocrust del desierto de Tabernas (Almería). Hasta la fecha, el estudio ha resultado en la descripción de cinco nuevas especies: tres pertenecientes al género *Kineococcus* y dos, al género *Belnapia*. Sin embargo, la lista de posibles nuevas especies se eleva hasta los 80 aislados bacterianos de 20 géneros diferentes. La elevada proporción de posibles nuevos taxones aplicando técnicas sencillas se presenta como una nueva oportunidad para la bioprospección de microorganismos con potencial biotecnológico.

Financing: Esther Molina-Menor es beneficiaria de un contrato predoctoral de Formación de Profesorado Universitario con referencia FPU17/04184.

## Búsqueda de taxones cultivables de la microbiota intestinal tolerantes a disruptores endocrinos obesogénicos en población infantil obesa

**Ana López Moreno**<sup>1,2</sup>, Ángel Ruiz-Moreno<sup>1,2</sup>, Klara Cerk<sup>1,2</sup>, Alfonso Torres Sánchez<sup>1,2</sup>, Jesús Pardo<sup>1</sup>, Margarita Aguilera<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus Cartuja 18071, Granada, España

(2) Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada, Laboratorio de referencia de microbiota humana, INYTA: Instituto de nutrición y ciencia y tecnología de los alimentos, Armilla 18016, Granada, España

La microbiota intestinal, considerada órgano virtual, cumple con una serie de funciones protectoras, estructurales y metabólicas claves para la salud del individuo. Sin embargo, la exposición prolongada a xenobióticos y contaminantes a través de la dieta puede producir cambios composicionales de la microbiota intestinal, disbiosis, y desencadenar en distintos desórdenes/enfermedades como obesidad, síndrome metabólico y diabetes de tipo 2, entre otros. Algunos xenobióticos con efecto obesogénico demostrado son: bisfenol A (BPA), compuesto presente en el plástico, parabenos, metales pesados, ftalatos, plaguicidas y pesticidas. Por ello, existe una necesidad práctica de conocer y modular estas disbiosis de la microbiota intestinal. El objetivo principal fue el aislamiento de microorganismos de la microbiota humana tolerantes y/o con potencial metabolizador de BPA. Mediante distintas técnicas de culturómica se procesaron 20 muestras de niños obesos y 20 muestras control, obteniéndose aproximadamente más de un centenar de microorganismos aislados tolerantes a concentraciones entre 10 y 50 ppm de BPA. Se observaron diferencias en las comunidades microbianas tolerantes en la población infantil obesa vs sana. Se encontraron diferentes géneros y especies bacterianas específicos de la población obesa: *Kocuria carniphila*, *Micrococcus yunnanensis*, *Lactobacillus sakei*, *Acinetobacter radioresistens*, y *Burkholderia* sp.; así como diversas especies tolerantes en la población sana: *Escherichia coli*, *Microbacterium* sp., *Blautia* sp., *Clostridium tertium*, *Enterobacter* sp., *Lactobacillus paracasei*, y *Rothia dentocariosa*. Además, se encontraron taxones coincidentes en ambas poblaciones como *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp. y *Lysinibacillus fusiformis*.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por GP/EFSA/ENCO/380 2018/03/G04 OBEMIRISK, FEDERInfraestructure: IE\_2019-198, Incentivación a la Investigación Plan Propio-UGR y EU-FORA Programme.



## Culturómica de microbiota humana para aislamiento de bacterias formadoras de esporas y metabolizadoras de obesógenos: *Clostridium* spp. y *Bacillus* spp.

Ángel Ruiz-Moreno<sup>1,2</sup>, Ana López Moreno<sup>1,2</sup>, Klara Cerk<sup>1,2</sup>, Alfonso Torres Sánchez<sup>1,2</sup>, Jesús Pardo<sup>1</sup>, Pilar Ortiz<sup>1,2</sup>, Margarita Aguilera<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus Cartuja, 18071, Granada, España

(2) Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada, Laboratorio de referencia de microbiota humana., INYTA: Instituto de Nutrición y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Armilla 18016, Granada, España

El uso de probióticos de nueva generación (NGP) está aumentando debido al mayor conocimiento de la microbiota intestinal humana y la posibilidad de intervenir y modular la disbiosis que determinan ciertas enfermedades. Los NGP son bacterias comensales que se utilizan para prevenir o intervenir en disbiosis intestinales como las causadas por la exposición continuada a disruptores endocrinos obesogénicos. La culturómica, enfoque basado en el cultivo de microorganismos con múltiples condiciones de cultivo y técnicas moleculares para la identificación bacteriana, se ha establecido como la principal estrategia para el aislamiento de nuevos microorganismos y el uso de NGP. Por ello, el objetivo del presente trabajo se centra en el diseño de cultivo dirigido adicionando disruptores endocrinos químicos específicos. Técnicas de cultivo variables se han implementado para incrementar el catálogo de bacterias formadoras de esporas y resistentes a diferentes concentraciones de BPA aisladas de la microbiota intestinal. Para ello, muestras fecales de niños obesos y no obesos fueron tratadas inicialmente con diferentes concentraciones de BPA, y subsecuentemente tratadas con etanol y ácidos biliares con el fin de seleccionar las bacterias capaces de formar esporas de resistencia. Para aumentar el número y la diversidad de aislados y realizar pruebas comparativas, se sembraron e incubaron en anaerobiosis a 37°C en los siguientes medios: Gifu anaerobic medium modificado (GAMm) agar, GAMm gelano y Reinforced Clostridial Medium (RCM). Finalmente, se determinaron las especies aisladas mediante secuenciación del 16S ARNr. Especial atención y futuros análisis se realizarán con especies de los géneros *Clostridium* y *Bacillus*.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por GP/EFSA/ENCO/380 2018/03/G04 OBEMIRISK, FEDERInfraestructure: IE\_2019-198, Investigación Másteres Plan Propio-UGR y EU-FORA Programme

## Caracterización fenotípica y genómica de nuevas cepas bacterianas (Flavobacteria y Gammaproteobacteria) de una EDAR que funciona con agua de mar

María Jesús Pujalte Domarco<sup>1</sup>, Teresa Lucena<sup>1</sup>, Olga Sánchez<sup>3</sup>, Amparo Ruvira<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Carmen Macián<sup>1</sup>, Isabel Sanz-Saez<sup>2</sup>, Silvia G. Acinas<sup>2</sup>, Rosa Aznar<sup>1</sup>, David R. Arahal<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Microbiología y Ecología Y Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Ciencias Biológicas, Campus de Burjassot-Paterna, Burjassot, España

(2) Institut de Ciències del Mar, ICM-CSIC, Biología Marina i Oceanografía, Barcelona, España

(3) Universitat Autònoma de Barcelona, Genètica i Microbiologia, Biociències, Bellaterra, España

Dos cepas aisladas conjuntamente del sistema de fangos activos de una EDAR que funciona con agua de mar han sido estudiadas utilizando métodos clásicos de caracterización fenotípica y mediante secuenciación y análisis de sus genomas completos, obtenidos con tecnología PacBio. Una de ellas, depositada como CECT 30171 en la Colección Española de Cultivos Tipo, queda afiliada al género *Lysobacter* (*Lysobacteraceae*, Gammaproteobacteria) como nueva especie, de acuerdo con los valores de ANIb y isDDH respecto al resto de especies del género. La segunda cepa, CECT 30217, presenta muy bajos valores de similitud en la secuencia del gen 16S rRNA con sus vecinos más próximos, miembros de la antigua familia *Cryomorphaceae*, siendo el más cercano *Vicingus serpentipes*, con tan solo un 88% de similitud. Un análisis filogenómico realizado mediante UBCG revela que esta cepa forma una rama profunda sin vínculos cercanos con las familias cercanas (*Cryomorphaceae*, *Schleiferiaceae*, etc.) Ambas cepas crecen en Marine Agar 2216, aunque CECT 30171 se comporta como halotolerante y CECT 30217 como halófila, son mesofilas, neutrófilas, aerobias estrictas y no fermentadoras. La primera produce un pigmento amarillo limón, mientras que CECT 30217 presenta pigmentación naranja intenso, y es difícil de dispersar en medio acuoso. Las células de CECT 30217 son pequeños bacilos cortos en masas rodeadas de abundante material extracelular; su genoma es de 3,98 Mb, con un G+C del 38,8 mol% y contiene 3604 pegs (63% hipotéticas) y un único operon rRNA. Esta cepa representa un nuevo género y tal vez nueva familia en el orden Flavobacteriales.

Financing: Generalitat Valenciana, proyecto AICO2020-181 (MJP)

### Dos nuevas especies de *Dyadobacter*, aisladas de aguas potables

**Teresa Lucena**<sup>1</sup>, Amparo Ruvira<sup>1</sup>, Ángel Bigorra<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Carmen Macián<sup>1</sup>, David R. Arahal<sup>1</sup>, Rosa Aznar<sup>1</sup>, María Jesús Pujalte Domarco<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Microbiología y Ecología y Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Ciencias Biológicas, Campus de Burjassot-Paterna, Burjassot, España

Tras un estudio en el que se examinaron 3809 aislados de aguas potables, 14 cepas resultaron no identificables mediante MALDI-TOF MS y secuenciación del gen 16S rRNA. De ellas, las depositadas como CECT 9275 y CECT 9623 en la Colección Española de Cultivos Tipo, se afilian al género *Dyadobacter* (Spirosomaceae, Bacteroidetes), con una similitud en la secuencia 16S rRNA inferior al 97,7% con las 23 especies descritas hasta la fecha. La caracterización fenotípica, genómica y filogenética realizada confirma su novedad. Ambas cepas crecen en medio R2A formando colonias mucosas y amarillentas, produciendo pigmentos tipo flexirrubina, entre 15 y 37 °C, a pH entre 5 y 10, y sin NaCl añadido. Son positivas para oxidasa y catalasa, no reducen nitratos ni fermentan carbohidratos, son proteolíticas y poco reactivas. La cepa CECT 9275 presenta una morfología celular en espirales cerradas y parejas de células curvadas, similar al género *Spirosoma*. La cepa CECT 9623 presenta bacilos cortos en parejas y filamentos rectos. Los genomas de CECT 9275 y CECT 9623, de 7,2 y 6,5 Mb, tienen 45,4 y 46,1 mol% G+C, respectivamente. Los valores de ANiB y isDDH no superan el 77 y 20% con las restantes especies. Los árboles filogenómicos (UBCG) revelan que CECT 9623 es vecino de *D. crusticola*, mientras que CECT 9275 constituye una rama aislada dentro del género. Se proponen dos nuevas especies con los nombres *Dyadobacter helix* sp. nov. y *Dyadobacter linearis* sp. nov., con las cepas CECT 9275T y CECT 9623T, respectivamente, como cepas tipo.

Financing: Universitat de València, proyecto UV-19-INV\_AE19 (MJP) Generalitat Valenciana, proyecto AICO/2020/181 (MJP)

## Diversidad microbiana de la tosca de la pampa Argentina

**Jessica Purswani**<sup>1</sup>, Chiara Pesciaroli<sup>1</sup>, Silvia Mestelan<sup>5</sup>, Lina Lett<sup>3</sup>, Gabriela Portela<sup>3</sup>, Sandra Medici<sup>4</sup>, Jose Antonio Morillo<sup>6</sup>, Clementina Pozo<sup>1</sup>, Jesus Gonzalez-Lopez<sup>1</sup>, Maria Angustias Rivadeneyra<sup>2</sup>

(1) Instituto del Agua, Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Granada, España.

(2) Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, Granada, España.

(3) Integrated Laboratory of Agricultural Microbiology, Food and Environment (LIMaYA), College of Agronomy, National University of the Center of the Province of Buenos Aires. Azul, Buenos Aires, Argentina.

(4) CONICET - Centro Biotecnológico Fares Taie, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

(5) Soil Testing Lab (LASFA), College of Agronomy, National University of the Center of the province of Buenos Aires, Azul, Buenos Aires, Argentina.

(6) Estación Experimental de Zonas Áridas (EEZA-CSIC), Almería, Spain

Las acumulaciones de carbonatos en el Paleosuelos en el sistema Tandilia (Pampas del Sur, Argentina) que datan del Pleistoceno inferior/medio se denominan localmente como tosca. La caracterización de esta capa endurecida de carbonatos se analizó mediante un enfoque biofísicoquímico, que incluyó análisis fisicoquímico de suelos, difracción de rayos X de minerales de la tosca y diversidad microbiana de suelos modernos y capas de tosca. Los minerales encontrados dentro de la tosca fueron calcita, albita, moscovita, cuarzo, ortoclasa y dolomita en orden de mayor a menor abundancia. La metataxonomía microbiana de la tosca se describe por primera vez. Los microorganismos más abundantes en tosca fueron g\_Geobacter, g\_Pseudonocardia y p\_Gemmatimonadetes2 y el análisis de redundancia de parámetros fisicoquímicos y abundancias microbianas relativas reveló correlaciones positivas entre el filo Nitrospirae e iones de calcio, mientras que las correlaciones minerales y microbianas asociaron los filos Gemmatimonadetes y Firmicutes con una presencia de calcita y dolomita. La abundancia de microorganismos presentes en todas las fracciones fue > 80% de abundancia relativa en todos los horizontes, incluida la tosca, por lo que se produjo atrapamiento microbiano a través de la precipitación de carbonato de calcio o lixiviación microbiana en esta capa.

## Evolution towards pathogenicity: Comparative analysis between *Brucella* and a recently isolated *Pseudochrobactrum*

**Maite Loperena Barber**<sup>1</sup>, Mammar Khames<sup>1,2</sup>, Sébastien O. Leclercq<sup>3</sup>, Michel S. Zygmunt<sup>3</sup>, Esteban D. Babot<sup>4</sup>, Amaia Zúñiga Ripa<sup>1</sup>, Ana Gutiérrez<sup>4</sup>, Mustapha Oumona<sup>2</sup>, Ignacio Moriyón<sup>1</sup>, Axel Cloeckaert<sup>3</sup>, Raquel Conde Álvarez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Navarra, Microbiología y Parasitología, Medicina, C/ Irunlarrea, 1 31008, Pamplona, España

(2) University of Medea, Laboratory of Experimental Biology and Pharmacology. Department of Biology., 26000, Medea, Algeria

(3) Université de Tours, INRAE, UMR ISP, Nouzilly, France

(4) Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC., Avda. Reina Mercedes, 10, 41012, Sevilla, España

La brucelosis es una de las zoonosis bacterianas más ampliamente distribuidas en el mundo, contribuyendo de forma importante a la pobreza de muchos países en desarrollo. Ninguna de las vacunas actuales proporciona una protección completa, son virulentas para humanos e interfieren en el diagnóstico serológico. Por ello, para mejorar las vacunas actuales, es imprescindible seguir estudiando los mecanismos de virulencia de *Brucella*, el agente etiológico de la brucelosis. Ésta pertenece a las  $\alpha$ -2 Proteobacteria, grupo que incluye desde bacterias ambientales hasta bacterias que han evolucionado a patógenos animales difícilmente detectados por el sistema inmune, como es el caso de *Brucella*. Para estudiar la evolución que se ha dado hacia la patogenicidad en esta familia y poder determinar mejor así los factores de virulencia de *Brucella*, es interesante comparar bacterias filogenéticamente próximas que son biológicamente diferentes. Por primera vez, se han aislado bacterias del género *Pseudochrobactrum* en un huésped natural de *Brucella*. *Pseudochrobactrum* es un género filogenéticamente cercano a *Brucella* que, hasta la fecha, sólo incluye bacterias ambientales. En este trabajo se han caracterizado estos nuevos aislamientos y teniendo en cuenta sus propiedades fisiológicas, su perfil de lípidos polares y ácidos grasos, y el análisis filogenético, se ha propuesto una nueva especie con el nombre de *Pseudochrobactrum bovis*. Los estudios comparativos con *Brucella* han revelado diferencias en la composición de la envoltura celular, el contenido genético y virulencia. Por ello, *P. bovis* puede representar un nuevo modelo para estudiar la evolución de *Brucella* hacia la virulencia.

## Aislamiento de una nueva especie del género *Hydrotalea* y su relevancia ecológica en aguas subterráneas.

**Juan F. Gago**<sup>1,2</sup>, Tomeu Viver<sup>1</sup>, Pedro Agustín Robledo<sup>3</sup>, Elaine Ferreira<sup>2</sup>, Ramon Rosselló-Móra<sup>1</sup>

(1) Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA, CSIC-UIB), Esporles, España, Biodiversidad Animal y Microbiana, Esporles, España

(2) The Deep Blue Sea Enterprise, S.L., Barcelona, España

(3) Unidad del CN Instituto Geológico Minero de España (IGME-CSIC) en las Islas Baleares, Palma, España

Con el objetivo de obtener nuevos principios activos para su uso en la industria biotecnológica, se generó una colección de ~3000 cultivos puros a partir de distintas muestras ambientales que se identificaron mediante el uso en tándem de las técnicas de MALDI-TOF y secuenciación del gen que codifica para el ARNr 16S. De esta colección se seleccionó un número representativo con el fin de abarcar la mayor diversidad taxonómica y fenotípica, y así poder evaluar con mayor precisión el potencial biotecnológico de los aislados. Entre éstos se destacó una cepa aislada de una muestra de agua subterránea con anomalía térmica (~4°C superior a la temperatura media de 25°C) y que fue identificada como un nuevo miembro del género *Hydrotalea*. El estudio genómico nos permitió caracterizar sus particularidades genéticas y su singularidad filogenética, confirmando que se trataba de una nueva especie del género. Además, para profundizar en su relevancia ecológica, realizamos el estudio metagenómico de diferentes aguas subterráneas, incluida la muestra de origen, demostrando que esta nueva especie forma parte de la comunidad microbiana de estos ambientes y en proporciones suficientemente altas como para ser detectada molecularmente. Por tanto, al contrario de lo que ocurre normalmente, este aislado no forma parte de la biosfera rara en esos ambientes y probablemente tiene un papel ecológico relevante en el mismo.

Financing: The Deep Blue Sea Enterprise, S.L. y Ministerio ciencia e innovación España (MICROMATES PGC2018-096956-B-C44 y MARBIOM RTC-2017-6405-1), incluyendo fondos FEDER



### Diversidad de comunidades litobióticas de Glaciar Rocoso (Isla Livingston, Antártida)

**Lucía Camacho Herrero**<sup>1</sup>, Javier Ortiz Rivero<sup>1</sup>, Esther Rodríguez Pérez<sup>1</sup>, Isaac Garrido Benavent<sup>1,2</sup>, Asunción De los Ríos Murillo<sup>1</sup>

(1) Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Biogeoquímica y ecología microbiana, Serrano 115 dpdo, Madrid, España

(2) Universitat de València, Facultat Ciències Biològiques, Doctor moliner, 50, Burjasot (Valencia), España

El clima de la Antártida supone una gran limitación para el establecimiento de muchas formas de vida. Sin embargo, los microorganismos están presentes en distintos hábitats y áreas de la Antártida. Uno de los hábitats dominados por microorganismos es el sustrato lítico, donde constituyen comunidades microbianas que se denominan litobióticas. Los microorganismos encuentran en las rocas antárticas microhábitats favorables para su supervivencia. En la Antártida Continental, se han descrito distintas comunidades litobióticas en sus áreas desérticas, pero no existe prácticamente información sobre comunidades litobióticas en la Antártida marítima. En este estudio hemos analizado la diversidad y estructura de las comunidades de hongos y bacterias establecidas en rocas del Glaciar Rocoso de Hurd (Isla Livingston) mediante metabarcoding. De esta manera se ha puesto de manifiesto que estas comunidades están dominadas por bacterias de los filos Proteobacteria, Cianobacteria, Actinobacteria y Bacteroidota, así como por hongos de las clases Lecanoromycetes, Leotiomycetes y Eurotiomycetes. Estos estudios se han complementado con un análisis por microscopía electrónica de barrido que ha permitido analizar la organización espacial y caracterizar los nichos ecológicos de los distintos microorganismos presentes. Se han observado microorganismos tanto sobre la piedra (epilíticos), como en su interior (endolíticos). La superficie de la piedra está principalmente colonizada por líquenes, pero también se observan algunas colonias de cianobacterias y hongos de vida libre. Las fisuras y cavidades de la roca constituyen el hábitat para diferentes comunidades endolíticas, algunas de ellas dominadas por líquenes, pero otras formadas por cianobacterias y bacterias heterótofas.

Financing: PID2019-105469RB-C22 (AEI; MICINN)

## Estudios de resistencia coevolutiva en virus de *Salinibacter ruber*

**Rodrigo Sánchez-Martínez**<sup>1</sup>, Cristina López<sup>1</sup>, Fernando Santos<sup>1</sup>, Josefa Antón<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alicante, Dpto. de Fisiología, Genética y Microbiología, Grupo de Ecología Microbiana Molecular, Carretera San Vicente s/n, San Vicente del Raspeig, España

Los ambientes hipersalinos ofrecen un escenario único para el estudio de las dinámicas virus hospedador. Esto se debe, principalmente, a su relativa baja diversidad y a la desaparición, en gran parte, de células eucariotas en estanques de salinidades extremas, lo que convierte a los virus en actores principales en el control de las poblaciones procariontas. Este control, así como la evolución de las comunidades y los cambios que experimentan en sus genomas, están fuertemente influenciados por las interacciones virus-hospedador, entre otros factores. El estudio de estas interacciones, y de cómo algunos componentes extracelulares presentes en estos ambientes pueden tener un efecto en estas, es un tema poco explorado hasta la fecha. Hace unos años, en nuestro grupo, se aislaron los primeros virus de *Salinibacter ruber*, la principal bacteria halófila extrema en salinas solares costeras. Estos poseían varias características diferenciales, que permitieron agruparlos en tres grandes géneros con distintas estrategias ecológicas. En este trabajo presentamos la primera aproximación experimental a algunas hipótesis sobre el papel ecológico que pueden cumplir, como puede ser el potencial lisogénico del género *kryptosalinivirus* o la coevolución virus-hospedador en ambientes naturales. De esta forma se ha comprobado cómo la adquisición de un provirus en el genoma de *S. ruber*, aunque puede suponer una carga metabólica para el hospedador, constituye una ventaja frente a la infección por nuevos viriones. También, que tras unos pocos ciclos infectivos, el par virus-hospedador desarrolla diferencias de infectividad-susceptibilidad, fruto de la coevolución entre ambos.

Financing: Este trabajo ha sido financiado con fondos del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades del Gobierno de España (MICROMATES PGC2018-096956-B-C44)

### Estudio metataxonómico de biofilms en redes de agua

**Valentin Gangloff<sup>1,2</sup>**, Pedro Navalón<sup>2</sup>, M. Adela Yañez<sup>2</sup>, Josefa Antón<sup>1</sup>, Elena Soria<sup>2</sup>, Fernando Santos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Alicante, Grupo de investigación de Ecología Microbiana Molecular, San Vicente del Raspeig, España

(2) LABAQUA, Alicante, España

El tratamiento del agua potable con compuestos clorados o cloraminados es una estrategia ampliamente utilizada para limitar el desarrollo de microorganismos. A pesar de ello, las tuberías de distribución y depósitos de agua son elementos en los que la formación de biofilms, aunque lenta, es un proceso recurrente. En este trabajo se han analizado 35 muestras de biofilms de 10 sistemas de distribución de agua con diferentes características. El estudio metataxonómico de las comunidades microbianas mediante el estudio de genes rRNA 16S ha permitido poner en evidencia, por una parte, la predominancia de las clases Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria y Actinobacteria en las distintas muestras, además de la ubicuidad de ciertos microorganismos como *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Cutibacterium*, *Corynebacterium* y *Bradyrhizobium*. Por otra parte, se ha puesto de manifiesto la posible relevancia del ciclo de nitrógeno en esos ambientes, al detectarse un total de 27 géneros potencialmente implicados en distintas reacciones del mismo. También, se ha observado que factores ambientales, como la composición iónica de los biofilms, el tipo de material de la tubería, etc., tienen un mayor impacto sobre la distribución de la diversidad microbiana que el origen del agua y el tipo de tratamiento usado. Finalmente, es remarcable que una deficiente desinfección y/o largos tiempos de retención son factores de riesgo que facilitan el incremento de la abundancia relativa de estos microorganismos y, por ende pueden aumentar la exposición a agentes patógenos como *Legionella*.

Financing: Vicerrectorado Investigación y Transferencia Conocimiento para fomento de I+D+I UNIVERSIDAD DE ALICANTE 2019, y MICROMATES PGC2018-096956-B-C44

## Estudio microbiológico de los géneros fúngicos colonizadores de las galerías de Punta Begoña (Getxo, Bizkaia)

Saioa Cendon-Sanchez<sup>1</sup>, Iñaki Vázquez-de la Fuente<sup>2</sup>, Xabier Guruceaga<sup>1</sup>, Jose Manuel Amigo<sup>2,5</sup>, Gorka Arana<sup>2</sup>, Juan Manuel Madariaga<sup>2,4</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>, Fernando L. Hernando<sup>1</sup>, Nagore Prieto-Taboada<sup>3</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>

(1) Fungal Biomics Research Group. UPV/EHU, Inmunología, Microbiología y Parasitología, Ciencia y Tecnología, Leioa (Bizkaia), España

(2) UPV/EHU, Química Analítica, Ciencia y Tecnología, Leioa (Bizkaia), España

(3) UPV/EHU, Química Aplicada, Química, Donostia (Gipuzkoa), España

(4) Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Cátedra UNESCO de Paisajes culturales y Patrimonio, Vitoria-Gasteiz (Araba), España

(5) IKERBASQUE. Basque Foundation for Science., Bilbao (Bizkaia), España

Las galerías de Punta Begoña, situadas en Getxo (Bizkaia), son un edificio de principios del siglo XX con un elevado valor patrimonial para Euskadi. Este edificio comenzó siendo un muro de contención para los desprendimientos, pero consiguió ser un lugar de ocio actualmente en proceso de restauración, debido a su escaso mantenimiento durante años. Esta infraestructura mostraba signos de deterioro con una evidente invasión fúngica. Por ello, se procedió a su estudio, realizándose un muestreo de 4 zonas para aislar e identificar los géneros y especies fúngicas más abundantes. Se obtuvieron 65 colonias fúngicas que se identificaron mediante la secuenciación combinada de la región ITS1 - ITS4 ribosómica y del gen de la  $\beta$ -tubulina. Los resultados microbiológicos indicaron que el 23% de los aislamientos fueron bacterias, principalmente, bacilos Gram negativos. Respecto a los hongos, los géneros *Cladosporium*, *Trichoderma* y *Penicillium* fueron los más representados, con un 17%, 9% y 6%. Algunos de estos géneros parecen provenir de la vegetación adyacente y han sido descritos como patógenos de plantas. Se ha obtenido también un aislamiento de *Aspergillus fumigatus*, una especie fúngica ubicua ampliamente reconocida por su capacidad infectiva en pacientes inmunocomprometidos. Asimismo, mediante una cámara hiperespectral en el Infrarrojo Cercano (HSI-NIR) se realizaron medidas de los cultivos para detectar diferencias en los compuestos conformacionales propios de cada uno de ellos. Estos resultados revelan que el uso del HSI-NIR es una herramienta ideal para contribuir al desarrollo de un método de clasificación rápido de estos microorganismos aplicable al estudio del deterioro del patrimonio.

Financing: GV (IT1362-19), UPV/EHU (COLAB20/11) y AEI (PID2020-113391GB-I00). SCS y UPC son beneficiarias de becas predoctorales de GV y UPV/EHU, respectivamente.

### Descifrando el papel de los pigmentos en la actividad antimicrobiana de cepas marinas de *Pseudoalteromonas rubra*

**Rafael Ruiz de la Haba**<sup>1</sup>, Giuliano Gattoni<sup>2</sup>, Giuseppe Schiatarella<sup>3</sup>, Alessandra Russo<sup>3</sup>, Fernando Reyes<sup>4</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>, Paulina Corral<sup>3</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Sevilla, España

(2) ATIP Centro di Medicina Iperbarica, Padua, Italia

(3) Università di Napoli Federico II, Dipartimento di Biologia, Nápoles, Italia

(4) Fundación MEDINA, Granada, España

La prodigiosina es un pigmento rojo de origen natural producido por diferentes grupos de bacterias, aunque descrito por primera vez en *Serratia marcescens*. Se trata de un compuesto muy prometedor debido a su amplio rango de actividades biológicas (antibacteriano, inductor de apoptosis de células cancerígenas, antifúngico, inmunosupresor...). La especie marina *Pseudoalteromonas rubra* es capaz de producir prodigiosina, pero algunas cepas albinas (no productoras del pigmento) de esta especie también han demostrado propiedades bioactivas no relacionadas con la prodigiosina. El objetivo de este estudio es determinar las diferencias genómicas entre las cepas pigmentadas y albinas de *P. rubra* y analizar su impacto en las propiedades bioactivas de los diferentes aislados. Para ello, se estudió la microbiota marina cultivable de la costa napolitana (Italia) y se seleccionaron las cepas *P. rubra* M3 (pigmentada) y *P. rubra* M9 (albina) para determinar su actividad antimicrobiana (CMI) frente a microorganismos patógenos humanos. Los genomas de ambas cepas se secuenciaron y se analizaron para buscar clústeres de genes biosintéticos implicados en la producción de metabolitos secundarios bioactivos. Actualmente, se están analizando los extractos crudos de estas cepas mediante HPLC/MS para identificar los compuestos con actividad antimicrobiana y relacionarlos con la información extraída de los genomas. La cepa *P. rubra* M3 mostró una actividad ligeramente superior que la cepa albina. No obstante, ambos genomas poseen al menos dos clústeres de genes biosintéticos no relacionados con la prodigiosina y que probablemente sean los responsables de la actividad antimicrobiana de la cepa no pigmentada *P. rubra* M9.

Financing: Proyectos de Foundation with the South FCS (2018-PDR-0533), Ministerio de Economía y Competitividad (CGL2017-83385-P) y Junta de Andalucía (BIO-213, US-1263771).

## Análisis de la diversidad molecular microbiana en pilas graníticas de un Parque Nacional

**A. de Cos-Gandoy**<sup>1</sup>, B. Pérez-Uz<sup>2</sup>, M. Martín-Cereceda<sup>2</sup>, A. Sánchez-Jiménez<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Biodiversidad, Ecología y Evolución, CC. Biológicas, José Antonio Novais 2, Madrid 28040, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, CC. Biológicas, José Antonio Novais 2, Madrid 28040, España

Los estudios actuales de diversidad de microorganismos se centran en su mayoría en describir la diversidad geográfica y patrones de distribución. Sin embargo, aún hay muchos ecosistemas inexplorados. Esto sucede en las pilas graníticas o "pilancones", depresiones erosionadas en la superficie de las rocas que acumulan el agua de la lluvia, y que experimentan grandes alteraciones en sus condiciones ambientales con épocas de inundación y desecación, además de cambios de temperatura, pH, humedad o disponibilidad de nutrientes. En este sentido, los pilancones son un escenario ideal para analizar la distribución microbiana. Para este estudio, se tomaron aleatoriamente muestras de sedimento en 20 pilancones del Parque Nacional Sierra de Guadarrama. Se realizó la secuenciación masiva del ADN extraído de las muestras utilizando como barcode la región hipervariable V4 del gen ADNr 18S, y las lecturas se agruparon en Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs). Para evaluar la asociación entre los pilancones y las OTUs se emplearon técnicas de ordenación y análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) y se aplicaron distintos índices para evaluar la diversidad. Los resultados muestran que los pilancones se agrupan en tres clústeres en función de la distancia entre ellos y su área/volumen. Las técnicas NMDS indican que los pilancones del clúster 3 se diferencian de los otros clústeres, pero no se observan asociaciones con grupos taxonómicos u OTUs concretas. Por otro lado, los índices de diversidad apuntan a patrones de distribución claros de las OTUs entre los distintos pilancones.



### Variación espacio-temporal del microbioma del aire urbano

**Andrés Núñez Hernández**<sup>1,2</sup>, Ana M. García Ruiz<sup>1</sup>, Diego A. Moreno Gómez<sup>1,3</sup>, Raúl Guantes Navacerrada<sup>4,5</sup>

(1) Universidad Politécnica de Madrid, Física Aplicada e Ingeniería de Materiales, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, c/José Gutiérrez Abascal 2, E-28006, Madrid, España

(2) Universidad de Murcia, Departamento de Genética y Microbiología, Facultad de Biología, Campus de Espinardo, Edificio nº 20, E-30100, Murcia, España

(3) Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Farmacia, Av. Dr. Jose Maria Sánchez Ibáñez, s/n, E-02008, Albacete, España

(4) Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de Física de la Materia Condensada e Instituto Universitario de Ciencia de Materiales "Nicolás Cabrera", Facultad de Ciencias, C/ Francisco Tomás y Valiente 7, Ciudad Universitaria de Cantoblanco, E-28049, Madrid, España

(5) Universidad Autónoma de Madrid, Institute for Condensed Matter Physics (IFIMAC), Facultad de Ciencias, Francisco Tomás y Valiente 7, Ciudad Universitaria de Cantoblanco, E-28049, Madrid, España

El aire urbano sigue siendo un ambiente poco explorado en cuanto a la diversidad microbiológica que transporta. Gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación del ADN (NGS) es posible abordar su estudio e identificar los factores que influyen en su composición. Los resultados obtenidos por NGS en los muestreos realizados simultáneamente en 11 localizaciones distintas de la Comunidad de Madrid indican la existencia de un núcleo microbiano estable en los distintos períodos estacionales muestreados a lo largo de dos años. Dicho núcleo se compone principalmente por bacterias presentes en el suelo, siendo las más abundantes de los géneros *Sphingomonas*, *Kocuria*, *Pseudomonas* y *Paracoccus*; mientras que para hongos encontramos a *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum* y *Aureobasidium*. La abundancia de los microorganismos presentes en la atmósfera urbana está influenciada por los cambios meteorológicos a lo largo de las estaciones, principalmente por la temperatura y la precipitación, más que por factores asociados a la localización. La mayor riqueza de especies (Chao1) se observó en verano y otoño para bacterias, y en otoño para hongos. La diversidad (Evenness) se mantuvo estable para procariontes a lo largo de las estaciones, pero mostró cambios significativos para hongos, siendo invierno la estación con el valor de diversidad más alto. Asimismo, se detectaron numerosos géneros bacterianos y fúngicos potencialmente dañinos (aeroalergénicos o infecciosos) en el aire. Los resultados de este trabajo contribuyen a conocer la biodiversidad microbiana presente en el aire urbano y el alcance de exposición a partículas biológicas con un efecto potencialmente negativo para la salud humana.

Financing: Este estudio ha sido financiado por los proyectos AIRBIOTA-CM (Comunidad de Madrid/S2013-MAE-2874) y AIRTEC-CM (Comunidad de Madrid/P2018/EMT-4329).

## Actividad antimicrobiana de cepas aisladas de microbiota intestinal tolerantes a disruptores endocrinos como bisfenol A

**Alfonso Torres Sánchez**<sup>1</sup>, Jesús Pardo Cacho<sup>1</sup>, Ana López Moreno<sup>1</sup>, Klara Cerk<sup>1</sup>, Ángel Ruiz Moreno<sup>1</sup>, Margarita Aguilera<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Microbiología, Farmacia, Campus de Cartuja, Granada, España

La microbiota intestinal humana tiene un enorme potencial desde el punto de vista de la producción de múltiples compuestos y sustancias bioactivas con una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas. El grupo de investigación tiene un catálogo de cepas aisladas y tipificadas que son resistentes a bisfenoles. El objetivo del presente trabajo ha sido realizar un análisis bioinformático en los genomas de cepas tipo de las especies cultivables para la búsqueda de genes involucrados en la síntesis de antimicrobianos, junto a una determinación fenotípica de la capacidad de producción de antibióticos. La metodología informática se ha implementado con los siguientes buscadores: BLAST, ABRicate y KEGG. Y la determinación fenotípica de producción de antibióticos se ha realizado con metodologías estandarizadas, como las descritas por la JECFA. Los resultados principales mostraron que las especies analizadas pertenecientes a los siguientes géneros mostraron más de un 50% de genes de las rutas de biosíntesis de PKS: *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Kocuria*, *Rothia*, *Micrococcus* y *Microbacterium*. Además, las cepas específicas aisladas de la microbiota intestinal humana y tolerantes a xenobióticos de la dieta tipo bisfenol A (BPA) y análogos, *Bacillus* sp. AM1 y *Bacillus siamensis* [KCTC 13613], han demostrado tener capacidad de producir diferentes compuestos antimicrobianos frente a bacterias gram positivas y gramnegativas: *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. y *Pseudomonas* sp.

Financing: BECA DE INICIACIÓN A LA INVESTIGACIÓN para Estudiantes de MÁSTERES OFICIALES

### **Phaeococcomyces kinklidomatophilus: una nueva especie de levadura negra aislada de una baranda metálica oscurecida en Els Pallaresos (provincia de Tarragona).**

**Angie Paola Sastoque Martínez<sup>1</sup>**, Alberto Miguel Stchigel Glikman<sup>1</sup>, José Francisco Cano Lira<sup>1</sup>  
(1) Universidad Rovira i Virgili, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Carrer de Sant Llorenç 21, Reus, España

Con el objetivo de identificar los hongos responsables del oscurecimiento de ciertas viviendas de la población de Els Pallaresos (provincia de Tarragona, España), se tomó un número representativo de muestras de las paredes afectadas mediante hisopos de algodón. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron sembradas en diferentes medios de cultivo (DRBC, PCA y PDA) e incubadas a dos temperaturas diferentes (15 y 25 °C). A partir de las colonias crecidas se aislaron las cepas de interés, las que fueron identificadas morfológicamente y molecularmente, mediante la amplificación y secuenciación de la región ITS-LSU. A partir de una muestra tomada de una barandilla metálica, se aisló una levadura negra con células desde elipsoidales y hialinas hasta globosas y amarronadas, con gemación multilateral y formación ocasional de cadenas cortas de blastoconidios, compatible con alguna de las cuatro especies aceptadas para el género *Phaeococcomyces*: *P. eucalypti*, *P. mexicanus*, *P. nigricans* (la especie tipo) y *P. rothmanniae*. Dichas especies han sido aisladas de material vegetal y, en el caso de la especie tipo, de restos de pintura. Con la finalidad de identificar la cepa a nivel de especie, se construyó un árbol de máxima verosimilitud con la secuencia ITS, arrojando como resultado que nuestra cepa era una nueva especie para la ciencia, y cuya especie evolutivamente más próxima era *P. eucalypti*. La nueva especie es denominada *Phaeococcomyces kinklidomatophilus*, cuyo nombre específico deriva del griego *κικκλίδωμα-*, baranda, y *-φίλος*, amistad, debido a la estructura de la cual fue aislada.

Financing: Este estudio fue financiado por la Unidad de Micología y Microbiología Ambiental de la Universidad Rovira i Virgili.

## Estudio de la distribución poblacional en almendros (*Prunus dulcis*) del patógeno *Xylella fastidiosa* en las Islas Baleares

Guillem Seguí Crespi<sup>1</sup>, Antonio Busquets Bisbal<sup>1</sup>, Maria Cañellas Cifre<sup>1</sup>, Diego Olmo García<sup>2</sup>, Jorge Lalucat Jo<sup>1</sup>, Margarita Gomila Ribas<sup>1</sup>

(1) Microbiología (Dpto. Biología), Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Islas Baleares, España

(2) Laboratorio de Sanidad Vegetal. SEMILLA. Conselleria de Medio Ambiente, Agricultura y Pesca. Govern Balear, Palma de Mallorca, Islas Baleares, España

En la cuenca mediterránea se dan unas condiciones climáticas idóneas para la expansión del patógeno vegetal *Xylella fastidiosa*, afectando a cultivos económicamente importantes para la región como son la producción de vino, de aceite, o el cultivo de almendras, entre otras. La Unión europea la considera un patógeno de cuarentena, debido a su alta capacidad infectiva y las repercusiones medioambientales y agrícolas que ésta puede causar. Este patógeno invade el xilema de un sinnúmero de plantas, donde se multiplicará y obstruirá el interior de los vasos xilemáticos, ocasionando en muchas ocasiones la muerte de ésta. Con el objetivo de estudiar la distribución y epidemiología de éste patógeno en uno de los cultivos principales de las Islas Baleares como son los almendros, se analizaron 91 muestras vegetales de *Prunus dulcis*. De todas ellas se amplificó y secuenció el gen *rpoD* para conocer la subespecie y se realizó un análisis multigénico (MLST) basado en la secuenciación de siete genes esenciales (*cysG*, *gltT*, *holC*, *leuA*, *malF*, *nuoL* y *petC*). Los datos obtenidos se confirmaron reanalizando las muestras mediante una tetraplex qPCR que permitió detectar simultáneamente la presencia del patógeno y determinar la subespecie. El análisis completo con las diferentes metodologías nos ha permitido determinar la presencia en almendros de tres subespecies y secuetipos *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (ST1), *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (ST81) y *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (ST80). La tetraplex qPCR permitió confirmar la coinfección de algunos ejemplares de almendros por dos subespecies distintas, *fastidiosa* y *multiplex*, en la isla de Mallorca.

### **Spiribacter pallidus: una nueva especie aislada de una salina solar**

**María José León León<sup>1</sup>**, Cristina Sánchez-Porro<sup>1</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Profesor García González 1, Sevilla, España

Estudios metagenómicos realizados en diferentes ambientes hipersalinos han permitido conocer en detalle la diversidad procariota presente en estos hábitats, especialmente en las salinas solares. Estudios dependientes de cultivo y posteriormente los datos obtenidos de estudios independientes del cultivo de procariotas, indican que en los estanques cristalizadores los grupos dominantes son las haloarqueas y la bacteria halófila extrema *Salinibacter*. Por el contrario, los estanques de salinidades intermedias comprenden una mayor variedad de taxones procariotas, los cuales disminuyen con la salinidad. Uno de los resultados inesperados de los análisis metagenómicos es la abundancia en estos estanques de salinidad intermedia de especies del género *Spiribacter*. El género *Spiribacter* pertenece a la familia *Ectothiorhodospiraceae*, orden *Chromatiales*, dentro de la clase *Gammaproteobacteria*. Actualmente este género consta de cuatro especies: *Spiribacter salinus*, *Spiribacter curvatus*, *Spiribacter roseus* y *Spiribacter vilamensis*, todas ellas aisladas de salinas solares. *Spiribacter* incluye un grupo de bacterias halófilas moderadas que se caracterizan porque poseen genomas bastante reducidos, con un único operón ribosómico, y simplificados en cuanto a su versatilidad metabólica. Se trata de especies que posiblemente poseen un modo de vida eficiente lo que explica el éxito de estas bacterias en ambientes acuáticos con salinidades intermedias. Hemos aislado en cultivo puro una nueva cepa, SP10, del género *Spiribacter* de las salinas de Santa Pola, Alicante. Su caracterización taxonómica, basada en la combinación del análisis filogenómico, quimiotaxonómico y fenotípico, sugiere que se trata de una nueva especie del género *Spiribacter*, para la que proponemos el nombre de *Spiribacter pallidus* sp. nov.

Financing: Proyectos del Ministerio de Economía y Competitividad (CGL2017-83385-P) y de la Junta de Andalucía (BIO-213, US-1263771), y fondos europeos (FEDER).

## Estudio del bacterioma del escarabajo de la corteza *Ips typographus*: búsqueda del bacterioma core y análisis de su potencial ecológico.

Ezequiel Peral Aranega<sup>1</sup>, Zaki Saati-Santamaría<sup>1</sup>, Raúl Rivas González<sup>1</sup>, Miroslav Kolarik<sup>2</sup>, Paula García Fraile<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Microbiología y genética, Universidad de Salamanca.

(2) Academia de las Ciencias de la República Checa

Los escarabajos europeos de la corteza de abetos, *Ips typographus*, son una plaga secundaria del centro y norte de Europa. Bajo ciertas condiciones ambientales, frecuentes debido al cambio climático, ocurren brotes masivos que resultan en ataques a árboles sanos, convirtiéndose en una plaga forestal de gran impacto medioambiental. Diferentes estudios sugieren que el microbioma de los escarabajos de la corteza juega un papel clave en su ecología, proporcionando nutrientes, inhibiendo patógenos y asistiendo en la degradación de polisacáridos complejos y compuestos de defensa de los árboles, entre otros mecanismos por descubrir. Para profundizar en el estudio del papel de las bacterias asociadas a *I. typographus* para su hospedador, se recogieron ejemplares de este insecto en diferentes localizaciones de Chequia, obteniéndose una colección de cepas bacterianas, identificadas mediante secuenciación del gen 16S rRNA, a las que se realizó un screening de potenciales metabólicos que podrían resultar útiles para el hospedador. Además, se realizó un análisis de la biodiversidad de bacterias asociadas a estos escarabajos mediante secuenciación masiva de amplicones del 16S rRNA. Entre los taxones identificados encontramos recurrentemente representados los géneros *Erwinia*, *Curtobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*, constituyendo algunas de las cepas nuevas especies. Además, algunos aislados mostraron capacidad de degradar polímeros (celulosa, xilano, pectina o almidón), producir sideróforos, inhibir el crecimiento de hongos entomopatógenos y utilizar y/o transformar compuestos de defensa del árbol. Así, diversas de las cepas aisladas parecen resultar relevantes para el desarrollo del hospedador en su nicho ecológico, planteándose futuros ensayos in vivo para demostrar tales hipótesis.

Financing: Agencia Checa para la Financiación de la Ciencia (GAČR) mediante el proyecto GAČR-Senior 19-09072S.



## Caracterización e identificación por MALDI-TOF MS de bacterias endófitas en plantas silvestres infectadas por *Xylella fastidiosa*

**Maria Cañellas Cifre**<sup>1</sup>, Antonio Busquets Bisbal<sup>1</sup>, Guillem Seguí Crespi<sup>1</sup>, Juan Rita Larrucea<sup>2</sup>, Margarita Gomila Ribas<sup>1</sup>

(1) Microbiología (Dpto. Biología), Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Islas Baleares, España

(2) Botánica (Dpto. Biología), Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Islas Baleares, España

El crecimiento de *Xylella fastidiosa*, fitopatógeno vegetal catalogado de cuarentena por la Unión Europea, es de difícil obtención, aislamiento y mantenimiento en el laboratorio. Además, cuando se intenta aislar en medios de cultivo específicos recomendados para su aislamiento como son el BCYE y PWG a partir de muestras diagnosticadas como positivas se pueden obtener otras morfologías coloniales distintas a esta bacteria. Con el objetivo de identificar estas otras bacterias endófitas, se sembraron en medios específicos de *Xylella* muestras vegetales claramente positivas para *X. fastidiosa* mediante la técnica molecular Real-Time Polymerase Chain Reaction con valores Ct (umbral de ciclo) entre 22- 30. Se analizaron 17 muestras vegetales correspondiendo a distintas plantas silvestres de las Islas Baleares, como *Cistus albidus*, *Fraxinus angustifolia*, *Olea europaea* var. *sylvestris*, *Phagnalon saxatile*, *Rhamnus alaternus*, *Salvia officinalis* y *Santolina magonica*. Las placas sembradas se incubaron entre 15 y 21 días a 28°C y 30°C. Todas las morfologías coloniales detectadas se aislaron en cultivo puro y se identificaron mediante espectrometría de masas por MALDI-TOF. En total se han aislado 228 cepas que se han agrupado en distintos grupos taxonómicos. La correcta asignación filogenética se ha confirmado mediante la secuenciación parcial del gen 16S rRNA.

## Nuevas especies de hongos filamentosos de origen antártico

**Inmaculada Vaca Cerezo**<sup>1</sup>, Pablo Villanueva<sup>1</sup>, Carlos Gil-Durán<sup>1</sup>, Ghislaine Vásquez<sup>1</sup>, Vicente Oliva<sup>1</sup>, Anai Diaz<sup>1</sup>, Renato Chávez<sup>2</sup>

(1) Universidad de Chile, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago, Chile

(2) Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Alameda 3363, Estación Central, Santiago, Chile

Los hongos son parte muy importante de los ecosistemas antárticos. Desde el inicio de la exploración antártica, muchos grupos de investigación han aislado y cultivado cepas pertenecientes a una sorprendente diversidad de géneros fúngicos, obtenidas desde distintos ambientes antárticos. Sin embargo, la apropiada clasificación taxonómica a nivel de especie de estos aislados, no ha sido abordada de forma sistemática, lo que ha impedido un mayor conocimiento de las especies fúngicas que habitan este continente. Nuestro laboratorio cuenta con una colección de más de cien hongos filamentosos obtenidos de esponjas marinas colectadas en la Bahía Fildes, Isla Rey Jorge, Antártica. Entre estos aislados se han identificado, mediante análisis moleculares, varias cepas pertenecientes a los géneros *Cladosporium* y *Pseudogymnoascus*. Los árboles filogenéticos realizados empleando varios marcadores concatenados muestran que dos aislados de *Cladosporium* y siete aislados de *Pseudogymnoascus* se separan con fuerte soporte de las especies actualmente conocidas en sus respectivos géneros. Por otro lado, los análisis macromorfológicos realizados mediante cultivos en distintos medios sólidos y a distintas temperaturas, así como los análisis de características micromorfológicas, muestran que estos aislados presentan características distintivas respecto a las especies descritas de sus respectivos géneros. En resumen, nuestros resultados confirman que en la Antártica existen nuevas especies de hongos de los géneros *Cladosporium* y *Pseudogymnoascus*. La descripción de estas especies es un aporte al conocimiento de la biodiversidad fúngica antártica, lo cual será un aspecto fundamental para su preservación.

Financing: Beca ANID Doctorado Nacional-2018-21181056 (V.O.); Beca INACH MG\_07-20 (P.V.); ANID-Fondecyt de Postdoctorado 2021-N°3210135; Proyecto FONDECYT 1211830

### Respuesta de las comunidades microbianas halófilas al intercambio ambiental

**Raquel Liébana García**<sup>1</sup>, Tomeu Viver<sup>1</sup>, Josefa Antón<sup>2</sup>, Ramon Rosselló-Mora<sup>1</sup>

(1) Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA-UIB-CSIC), Departamento de Biodiversidad Animal y Microbiana, C/Miquel Marqués 21, Esporles, España

(2) Universidad de Alicante, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Carretera de San Vicente del Raspeig s/n, San Vicente del Raspeig, España

La interacción virus-hospedador es un factor ecológico importante que influye en el ensamblaje de las comunidades microbianas. Con el objetivo de valorar la influencia de las comunidades víricas en la selección de poblaciones microbianas a nivel intraespecífico, se ha estudiado mediante metagenómica comparativa el impacto del intercambio de las fracciones celulares de dos microbiomas provenientes de sistemas hipersalinos distantes (salinas de Es Trenc en Mallorca y el lago thalasohalino de Aran-Bidgol en Irán), con las respectivas salmueras previamente esterilizadas mediante filtración, con o sin la adición de la fracción vírica en suspensión de dichas salmueras. La exposición a medio plazo (1 mes) de los microbiomas a las nuevas condiciones ambientales mostró una mayor estabilidad en la estructura microbiana de la comunidad proveniente de las salinas (Es Trenc) en comparación con la comunidad proveniente del lago (Aran-Bidgol). El análisis de los genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs) reveló una transición intraespecífica, determinada en mayor medida por la presencia o ausencia de virus en suspensión en la salmuera. La mayoría de las especies exhibieron una mayor variabilidad en el contenido de genes en salmueras libres de virus en suspensión. Los virus controlaron el ensamblaje de la comunidad microbiana, en algunos casos manteniendo la diversidad intraespecífica y en otros seleccionando ecotipos resistentes, sobre todo aquellos portadores de profagos. Además, el enriquecimiento o la eliminación de virus en salmueras también indujo cambios en la abundancia de virus infectando células, posiblemente debido a cambios en la abundancia de hospedadores y/o competencia en la infección.

Financing: Micromates: PGC2018-096956-B-C41

**Microbiología Alimentos**  
**Presentación Oral**

**Morbidostato: un sistema de cultivo continuo para el estudio evolutivo de poblaciones bacterianas sometidas a estrés por compuestos antimicrobianos**

**Adrián Pedreira**<sup>1,2</sup>, José Antonio Vázquez<sup>2</sup>, Míriam R. García<sup>1</sup>

(1) Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC), Grupo Ingeniería de (Bio)Procesos, Eduardo Cabello, 6, 36208, Vigo, España

(2) Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC), Grupo de Reciclado y Valorización de Materiales Residuales (REVAL), Eduardo Cabello, 6, 36208, Vigo, España

La evolución adaptativa en laboratorio (ALE) es una aproximación experimental enfocada al estudio de la evolución de poblaciones microbianas bajo condiciones de crecimiento específicas. La ALE no constituye solamente una herramienta para obtener de forma sencilla poblaciones con un fenotipo determinado, ya que también permite conocer, desde el punto de vista evolutivo, como esos fenotipos se desarrollan a lo largo del tiempo. Los experimentos ALE pueden ser llevados a cabo tanto en régimen continuo como discontinuo. Sin embargo, en régimen discontinuo la fluctuación incontrolada de las condiciones de cultivo a lo largo del tiempo dificulta mantener constante el nivel de presión selectiva. El morbidostato es un sistema de cultivo continuo constituido por una serie de pequeños biorreactores asistidos por computadora capaz de ajustar dinámicamente la concentración del compuesto antimicrobiano en el medio, manteniendo constante la presión selectiva a lo largo del tiempo (Toprak et al., 2013). En el Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC) hemos desarrollado un morbidostato con el que pretendemos derivar modelos matemáticos que expliquen la evolución de la resistencia a compuestos antimicrobianos empleados en la industria alimentaria. No obstante, la utilidad del morbidostato va más allá, permitiendo obtener rápidamente fenotipos resistentes y estudiar los cambios a nivel -ómico producidos en poblaciones bacterianas sometidas a niveles constantes de presión selectiva por antimicrobianos a lo largo del tiempo. Toprak, Erdal, et al. "Building a morbidostat: an automated continuous-culture device for studying bacterial drug resistance under dynamically sustained drug inhibition". *Nature protocols* 8.3 (2013):555-567.

Financing: Proyecto RTI2018-093560-J-I00 (MCIU/AEI/FEDER, UE) Ayuda Ramón y Cajal (RYC2019-028006-I/AEI/10.13039/501100011033) Ayuda predoctoral de la Xunta de Galicia (IN606A-2020/028)

### Impacto de la obesidad severa y la pérdida de peso sobre la microbiota y el metaboloma fecal

Alicja María Nogacka<sup>1,2</sup>, Clara G. de los Reyes-Gavilán<sup>1,2</sup>, Ceferino Martínez-Faedo<sup>2,3</sup>, Patricia Ruas-Madiedo<sup>1,2</sup>, Adolfo Suárez<sup>2,4</sup>, Leonardo Mancabelli<sup>5</sup>, Marco Ventura<sup>5</sup>, Alejandro Cifuentes<sup>6</sup>, Carlos León<sup>7</sup>, Miguel Gueimonde<sup>1,2</sup>, **Nuria Salazar**<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Paseo Río Linares s/n, 33300 Villaviciosa, España

(2) Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Avenida Hospital Universitario s/n, 33011 Oviedo, España

(3) Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Servicio de Endocrinología y Nutrición, 33011 Oviedo, España

(4) Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Servicio de Digestivo, 33011, Oviedo, España

(5) Universidad de Parma, Departamento de Química, Ciencias de la Vida y Sostenibilidad Ambiental, 43121 Parma, Italia

(6) Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL-CSIC), Laboratorio de Alimentómica, Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, España

(7) Universidad Carlos III, Departamento de Bioingeniería, Leganés, Madrid, España

**Introducción:** Se ha descrito disbiosis en la microbiota intestinal (MI) en obesidad pero existen pocos estudios en los que se haya caracterizado la microbiota y el metaboloma fecal en obesidad severa. **Objetivo:** Evaluar los efectos de la obesidad severa y la pérdida de peso tras una dieta hipocalórica sobre la MI y el perfil metabólico fecal. **Métodos:** A partir de muestras de heces de adultos con normopeso y con obesidad severa y de individuos obesos antes y después de la pérdida de peso se evaluó la interacción de la línea intestinal HT29 con la MI mediante el empleo de un modelo in vitro basado en impedancia. Se analizó también la composición de la microbiota intestinal mediante secuenciación del gen ARNr 16S y qPCR y se cuantificaron los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y otros metabolitos fecales mediante metabolómica dirigida y no dirigida respectivamente. **Resultados:** La MI de sujetos obesos presenta una menor diversidad y un perfil microbiano diferente a los voluntarios normopeso y una mayor concentración de AGCC. El estudio del metaboloma fecal ha mostrado perfiles diferentes en los sujetos con obesidad y tras la pérdida de peso que se caracterizan por diferencias en varios metabolitos fecales relacionados con los ácidos biliares secundarios, el metabolismo lipídico y energético y la síntesis de catecolaminas. **Conclusiones:** El análisis conjunto de la microbiota y el metaboloma fecal ha revelado potenciales biomarcadores microbianos y metabolitos fecales asociados a obesidad severa y a la pérdida de peso

**Financing:** Agradecimientos: Proyectos AGL2013-43770-R, AGL2017-83653-R y RTI2018-098288-B-I00, contratos BES-2014-068796 y IJCI-2015-19885 .

## Efecto antiocratogénico de *Debaryomyces hansenii* y romero sobre *Penicillium nordicum* en embutidos curado-madurados: estudio proteómico

María Micaela Álvarez Rubio<sup>1</sup>, Josué Delgado Perón<sup>1</sup>, Eva Cebrián Cabezón<sup>1</sup>, Miguel Ángel Asensio Pérez<sup>1</sup>, María Jesús Andrade Gracia<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos, Facultad de Veterinaria, Avenida de las Ciencias s/n 10004, Cáceres, España

La ocratoxina A (OTA), micotoxina nefrotóxica clasificada en el grupo 2B por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer, en embutidos curado-madurados es producida principalmente por *Penicillium nordicum*. La tendencia de reducción del uso de antifúngicos sintéticos ha promovido las alternativas naturales como los agentes de biocontrol (ABs). El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de *Debaryomyces hansenii* (Dh) y romero como ABs durante la fabricación de embutidos. Se elaboraron 18 lotes de salchichones, con combinaciones de Dh, hojas de romero (HR) y aceite esencial de romero (AER) en la masa cárnica o en la superficie de la tripa, y un lote control sin ABs. *P. nordicum* se añadió mediante inmersión en una solución de 10<sup>6</sup> esporas/mL. El uso de HR redujo la OTA, al igual que ocurrió en la mayoría de los lotes con Dh incorporada en la mezcla cárnica. Mediante el análisis de proteómica comparativa se observó que Dh disminuyó la abundancia de proteínas pertenecientes al dominio PKS\_ER y corismato sintasa en *P. nordicum*, relacionadas con la ruta biosintética de OTA. Además, Dh redujo proteínas relacionadas con la organización del citoesqueleto y la pared celular, cuyas alteraciones se han asociado con una menor producción de micotoxinas. Efectos similares fueron detectados con el macerado de HR, mientras que la incorporación de HR en la masa disminuyó proteínas relacionadas con la síntesis de ergosterol. Así, *D. hansenii* y el romero, tanto como ingrediente o en maceración, pueden ser usados como ABs durante la elaboración de embutidos curado-madurados.

Financing: Junta de Extremadura, Fondo Europeo de Desarrollo Regional-“Una manera de hacer Europa” (IB16045, GR18056); AGL2016-80209-P; BES-2017-081340; Ref. UNEX-AE-3394.



### Mejora de la uniformidad de la aplicación de tratamientos térmicos en matrices sólidas mediante Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEAV)

Enrique Beitia González<sup>1</sup>, **Leire Astráin Redín**<sup>1</sup>, Marta Alejandre Amela<sup>1</sup>, Guillermo Cebrián Auré<sup>1</sup>, Ignacio Álvarez Lanzarote<sup>1</sup>

(1) Universidad de Zaragoza, Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Tecnología de los Alimentos., Facultad de Veterinaria, C/Miguel Servet 177, Zaragoza, España

Los Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEAV) aplicados a alta intensidad ( $>1\text{kV/cm}$ ) y a frecuencias elevadas ( $>10\text{Hz}$ ) pueden emplearse para aplicar calentamientos rápidos y volumétricos en alimentos sólidos. No obstante, se ha observado la presencia de puntos fríos en las zonas próximas a los electrodos de la cámara de tratamiento. Por ello, el objetivo de este trabajo fue mejorar la uniformidad del calentamiento por PEAV para posteriormente evaluarlo como un nuevo sistema térmico de inactivación microbiana en matrices sólidas sumergidos en soluciones salinas. Se evaluó la uniformidad del calentamiento en un cilindro de Agar Técnico sumergido en soluciones salinas a distintas temperaturas y conductividades eléctricas cuando se aplicaron tratamientos de PEAV a distintos campos eléctricos y frecuencias midiendo las temperaturas durante el tratamiento. En una segunda etapa, se determinó la termorresistencia de *Listeria monocytogenes* CECT 5672 y se validó su inactivación tras la aplicación de PEAV. No se consiguieron calentamientos uniformes a las frecuencias y campos eléctricos estudiados cuando se empezó a temperaturas de  $25^{\circ}\text{C}$  en ambas matrices. Sin embargo, el uso de temperaturas iniciales más elevadas del medio de tratamiento ( $60^{\circ}\text{C}$ ) permitió alcanzar temperaturas finales similares en ambas matrices (diferencias de temperatura  $< 2,2^{\circ}\text{C}$ ). Estas condiciones de tratamiento permitieron la inactivación de 5 ciclos logarítmicos de *L. monocytogenes* CECT 5672 tras 58s en ambos medios. Los resultados muestran el potencial de los PEAV como un nuevo sistema de pasterización de alimentos sólidos si bien son necesarias más investigaciones con otros microorganismos y en alimentos reales.

Financing: Proyecto iNOBox (Project number 281106)

## Producción de compuestos bioactivos por cepas del género *Leuconostoc* aisladas de queso

**Inés María Ramos Monge**<sup>1</sup>, Sara Rodríguez Sánchez<sup>2</sup>, Susana Seseña Prieto<sup>2</sup>, María de los Llanos Palop Herreros<sup>2</sup>, Justa María Poveda Colado<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada (IRICA), Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas, Av. Camilo José Cela, 10, 13005, Ciudad Real, España

(2) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avenida de Carlos III s/n. 45071, Toledo, España

El género *Leuconostoc* es uno de los más utilizados como cultivo iniciador en la elaboración de alimentos fermentados. Entre sus características está la producción de diversos ácidos orgánicos, que influyen tanto en las propiedades organolépticas como en la bioconservación del producto. Además, a partir de estos ácidos, como el láctico y el cítrico, son capaces de producir acetaldehído, diacetilo y acetoína, compuestos deseables que contribuyen al sabor y aroma de los alimentos fermentados. Durante la fermentación de los alimentos también liberan compuestos bioactivos como, el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), con efectos ansiolíticos, hipotensivos y analgésicos; y aminoácidos como la ornitina, con efectos sedantes y que produce disminución de fatiga, o el triptófano, que actúa como precursor de metabolitos como la serotonina y la melatonina. Por todo ello, existe un interés creciente en el desarrollo de alimentos funcionales que contengan altas concentraciones de estos aminoácidos, principalmente GABA, y una posibilidad sería su producción in situ durante la fermentación. En este trabajo se ha analizado la producción mediante RP-HPLC de todos estos compuestos de interés por parte de 23 cepas del género *Leuconostoc* (Ln.) procedentes de queso. La mayoría de las cepas produjeron cantidades similares de ácido láctico (ácido mayoritario) y de propiónico. Las cepas C24W1 y C16W3 destacaron por su producción de acetoína y cítrico, respectivamente. Por otro lado, todas las cepas fueron productoras de GABA, y solo algunas cepas produjeron ornitina y triptófano, en cantidades bajas.

### Levaduras aisladas de pistacho (*Pistacia vera*): carácter probiótico y papel de protección

**Pilar Fernández-Pacheco<sup>1</sup>**, Beatriz García-Béjar<sup>1</sup>, Ana Briones Pérez<sup>1</sup>, María Arévalo-Villena<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Dpto Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas, Av. Camilo José Cela S/N, Ciudad Real, España

El carácter biotecnológico de levaduras aisladas de frutos secos, como el pistacho, ha sido poco estudiado a pesar de su potencial uso industrial. Debido a que en los últimos años ha aumentado el interés por la capacidad probiótica en levaduras, además de su uso como bioconservantes, el principal objetivo del presente trabajo fue evaluar ambas capacidades en levaduras aisladas de pistachos. Se aislaron 15 cepas que se identificaron mediante técnicas moleculares obteniendo un total de siete especies diferentes. Inicialmente se realizó un screening basado en la resistencia a las condiciones gastrointestinales para seleccionar aquellas con potencial probiótico, obteniendo que el 65% lo pasaban. Cabe destacar que algunas cepas mostraron mejores parámetros cinéticos que *Saccharomyces boulardii* (única levadura probiótica comercial, control positivo). Para continuar con la caracterización probiótica, se realizaron pruebas de autoagregación, hidrofobicidad de la superficie celular, comportamiento en una digestión secuencial simulada, formación de biopelículas y asimilación de fuentes de carbono, encontrando resultados muy satisfactorios. Finalmente, se estudió la capacidad de las cepas como agentes de biocontrol (frente a *Candida albicans*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium graminearum* y *Penicillium crustosum*), así como su actividad antioxidante. El 67% de las cepas mostraron actividad biocontrol y el 13% capacidad antioxidante. Las cepas que mayor potencial probiótico presentaron fueron *Diutina rugosa* 14 y *Diutina rugosa* 8. Sin embargo, *Hanseniaspora guilliermondii* 6 y *Aureobasidium proteae* 5 podrían usarse para mejorar la conservación de alimentos o piensos debido a su notable capacidad de biocontrol y antioxidante.

## Evaluación del efecto sinérgico de extractos vegetales y *Debaryomyces hansenii* frente a la síntesis de ocratoxina A en *Penicillium nordicum*

Elía Roncero Benavente<sup>1</sup>, María Jesús Andrade Gracia<sup>1</sup>, María Micaela Álvarez Rubio<sup>1</sup>, Paula Romero Jiménez<sup>1</sup>, Josué Delgado Perón<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos, Facultad de Veterinaria, Avenida de las Ciencias s/n 10004, Cáceres, España

El crecimiento de mohos como *Penicillium nordicum* supone un peligro durante el proceso de curado-maduración de embutidos por la producción de ocratoxina A (OTA). Para minimizar este peligro y por el interés actual de los consumidores por aditivos menos procesados se está evaluando el uso de extractos vegetales y *Debaryomyces hansenii* como agentes de biocontrol (ABs). Así, el objetivo de este estudio es determinar el efecto de la aplicación individual y combinada de un extracto de bellota (EB; 10  $\mu$ L), aceite esencial de romero (AER; 100  $\mu$ L 1:1 AER:H<sub>2</sub>O) y *D. hansenii* FHSCC253H (Dh; 100  $\mu$ L 1\*10<sup>6</sup> ufc/mL) en la producción de OTA en una cepa ocratoxigénica de *P. nordicum* (Pn856). Se utilizó un medio elaborado con chorizo sobre el cual se depositó una porción de tripa de colágeno estéril. Tras la aplicación de los ABs y Pn856 sobre su superficie, las placas se incubaron durante 15 días a 12 °C. Para cuantificar la micotoxina se tomaron muestras a los 6 y 15 días, que fueron analizadas en un cromatógrafo-QExactive™. A los 6 días no se detectaron diferencias significativas en la presencia de OTA por la aplicación de ABs. Sin embargo, a los 15 días se observó una disminución significativa de la producción de OTA cuando se aplicaron los tratamientos con AER, AER+EB, AER+Dh y AER+EB+Dh, siendo el último tratamiento el que más redujo la contaminación por OTA. Así, se podría establecer el tratamiento que contiene los tres agentes de biocontrol como el más eficaz para ser aplicados en embutidos.

Financing: Junta de Extremadura y Fondo Europeo de Desarrollo Regional "Una manera de hacer Europa" (IB16045, GR18056); Ref. UNEX-AE-3394.

### Implicación de los vegetales frescos en la transmisión de enterobacterias productoras de $\beta$ -lactamasas

**Alberto Pintor-Cora<sup>1</sup>**, Laura Álvaro-Llorente<sup>1</sup>, Jesús A. Santos<sup>1</sup>, Jose M. Rodríguez-Calleja<sup>1</sup>, Andrés Otero<sup>1</sup>

(1) Universidad de León, Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de veterinaria, Campus de Vegazana, s/n, 24007, León, España

Los vegetales frescos se han señalado como posibles vehículos de bacterias portadoras de resistencias antibióticas. Teniendo en cuenta la escasez de datos sobre este tipo de productos, el objetivo del estudio fue establecer la prevalencia de enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, tipo AmpC y carbapenemasas en vegetales frescos, así como evaluar la implicación de estos en la propagación de genes de antibiorresistencia. Con este fin se seleccionaron 117 muestras de vegetales, 45 muestras ambientales y 12 hisopados de las manos de trabajadores de explotaciones agrícolas. La presencia de Enterobacteriaceae y E. coli en las muestras fue cuantificada mediante recuento en ChromAgar Enterobacteria. La detección y aislamiento de bacterias resistentes a los  $\beta$ -lactámicos se realizó mediante el uso de medios cromogénicos. Los aislados sospechosos de producir  $\beta$ -lactamasas fueron caracterizados mediante test de susceptibilidad frente a  $\beta$ -lactámicos y PCR (blaCMY-2, blaCTX-M, blaTEM, blaSHV, blaNDM, blaOXA-48 y blaKPC) sobre el ADN total y el ADN plasmídico. Las muestras de perejil ( $5,36 \pm 0,49$  logUFC/g) y escarola ( $5,29 \pm 0,32$  logUFC/g) obtuvieron los recuentos más altos entre las muestras de vegetales presentando, además, un elevado porcentaje de muestras positivas para al menos un aislado resistente a los  $\beta$ -lactámicos (66,7% y 46,15%, respectivamente). Cuatro muestras resultaron positivas a aislados productores constitutivos de AmpC (2,45 %), 48 a aislados productores de AmpC con carácter inducible (29,44 %), mientras que 3 muestras presentaron aislados productores de ESBL (1,84 %). Así pues, se concluyó que los vegetales frescos pueden actuar como vehículos de bacterias antibiorresistentes.

Financing: Plan estatal I+D+I - "Agencia Estatal de Investigación" - (proyecto PID2019-107870RB-I00/AEI/10.13039/5011000111033) y Universidad de León (programa propio de ayudas predoctorales) (Alberto Pintor Cora).

## Efecto de *Lactobacillus sakei* seleccionado frente a *Listeria monocytogenes* en alimentos madurados tradicionales

Irene Martín Tornero<sup>1</sup>, Alicia Rodríguez Jiménez<sup>1</sup>, Francisco Manuel Gómez Polo<sup>1</sup>, Juan Carlos Pulido Pacheco<sup>1</sup>, Juan José Córdoba Ramos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Higiene y Seguridad Alimentaria, Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos (IProCar). Facultad de Veterinaria, Avenida de la Universidad, s/n. 10003, Cáceres, España

*Listeria monocytogenes* es un patógeno preocupante en alimentos madurados como embutidos curado-madurados y quesos madurados, debido a su gran ubicuidad y adaptación en las condiciones de elaboración y almacenamiento de estos productos. Por ello, es necesario el desarrollo de estrategias de control de esta bacteria patógena como puede ser la utilización de bacterias ácido-lácticas (BAL) autóctonas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antagonista de una cepa de *Lactobacillus sakei* (205) aislada de embutidos curado-madurados frente a *L. monocytogenes* y otros microorganismos alterantes en salchichón. Para ello, se elaboraron 150 salchichones que se inocularon con diferentes niveles de *L. monocytogenes* y *L. sakei* 205 y se dividieron en 6 lotes. Posteriormente, los salchichones se maduraron durante 90 días siguiendo un procedimiento industrial habitual. El contenido de humedad y la actividad de agua disminuyeron a lo largo de la maduración hasta valores en torno al 26% y 0,78, respectivamente, no observándose diferencias entre los lotes analizados. Lo mismo ocurría con el contenido de NaCl y nitrito. Los recuentos de BAL en los lotes inoculados con *L. sakei* 205 fueron siempre superiores a 6 log UFC g<sup>-1</sup> durante la maduración. Sin embargo, los niveles de enterobacterias se redujeron hasta valores no detectables. Las reducciones en los recuentos de *L. monocytogenes* variaron de 1,6 a 2,2 log UFC g<sup>-1</sup>. El procesado del "salchichón" no permite el crecimiento de esta bacteria patógena y la presencia *L. sakei* 205 provoca una reducción significativa de *L. monocytogenes* de al menos 1 ciclo logarítmico superior.

Financing: Trabajo financiado por proyectos IB16149 e INIARTA-2017-00027-C03-03. I. Martín tiene beca FPU (16/05303) y J.C. Pulido contrato SEXPE (TE-0053-19)



## Uso de tratamientos comerciales de bacteriófagos y cultivos protectores para reducir el riesgo asociado a *Listeria monocytogenes* en productos vegetales.

**Marisa Gómez-Galindo**<sup>1</sup>, Marta Volpi<sup>2</sup>, María I Gil<sup>1</sup>, Pilar Truchado<sup>1</sup>, Anne Elsser-Gravesen<sup>2</sup>, Ana Allende<sup>1</sup>

(1) CEBAS-CSIC, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Grupo de Investigación en Microbiología y Calidad de Frutas y Hortalizas, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100, Murcia, España

(2) ISI FOOD PROTECTION ApS, Agro Food Park 13, DK-8200, Aarhus N, VAT no. DK-3266664, Dinamarca

La aplicación de tratamientos comerciales anti-*Listeria* durante el procesado de productos vegetales es una buena alternativa para reducir el riesgo asociado a *Listeria monocytogenes* (Lm) en estos productos. Entre los posibles tratamientos comerciales, el uso de bacteriófagos y de cultivos productores de bacteriocinas han proporcionado resultados prometedores. El objetivo de este estudio es determinar la eficacia de 4 tratamientos comerciales a base de bacteriófagos (Listex™ y Listshield™) y de cultivos protectores (SafePro® y Holdbac®) para la inactivación de Lm y el mantenimiento de los recuentos por debajo de 2 unidades logarítmicas en cuatro hortalizas de hoja (espinaca baby, col, lechuga romana e iceberg) tras el procesado y durante su vida útil. Los productos vegetales se inocularon con un coctel de seis cepas de Lm, se procesaron imitando las condiciones industriales y se dividieron en tres lotes: 1) producto no tratado, 2) producto tratado con cultivos protectores; y 3) producto tratado con bacteriófagos. Tras la aplicación del tratamiento, el producto se envasó y conservó a 7°C durante 15 días. En general todos los tratamientos mostraron reducciones en los recuentos de Lm cuando se compararon con el no-tratado. Sin embargo, solo Listex™ fue capaz de reducir la presencia de Lm en 2 unidades logarítmicas después de 5 y 10 días de conservación, excepto en el caso de las espinacas baby. En base a los resultados, el tratamiento con bacteriófagos es una prometedora estrategia para controlar el crecimiento de Lm en las hortalizas de hoja listas para el consumo durante su vida útil.

Financing: Proyecto 2020CPS01 del Center for Produce Safety (California, EEUU) y Proyecto PID2019-104931RB-I00 del Plan Estatal de Investigación Científica de España.

## Evaluación de la seguridad alimentaria del queso artesanal elaborado con leche cruda de cabra en España.

**Olga María Bonilla Luque<sup>1</sup>**, Aricia Possas<sup>1</sup>, Antonio Valero<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Dpto. Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus Universitario de Rabanales s/n. Edificio Charles Darwin Planta sótano. Ctra. Madrid-Cádiz Km 396A, 14071, Córdoba, España

La contaminación microbiológica en quesos tradicionales elaborados con leche cruda ha sido identificada como un factor de riesgo para la salud pública. Concretamente, la leche cruda ha sido considerada como la principal fuente de bacterias patógenas implicadas en los brotes alimentarios asociados al consumo de quesos. En este estudio se investiga la prevalencia de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* en dos queserías de elaboración artesanal (A y B). Se analizaron muestras de leche cruda de cabra (n=30), quesos (n=30) y superficies en la industria (n=67), siguiendo métodos ISO. Las colonias aisladas como presuntivas para ambos patógenos fueron identificadas por MALDI-TOF y secuenciación genómica PCR. *S. aureus* fue identificado en 3 muestras de queso elaborado por el productor A, mientras sólo fue aislado en 1 muestra del productor B. *L. monocytogenes* no fue identificado en ninguna de las industrias. *Proteus* spp. fue aislado en leche y quesos de ambos productores y *Morganella morganii* únicamente en la leche del productor B como especie productora de histamina. Otros indicadores de contaminación como *Enterobacter cloacae* se aislaron en leche del productor B y quesos del productor A. La detección de *S. aureus* en ambas empresas debe reforzar la importancia del control periódico de presencia de toxinas estafilocócicas para limitar contaminaciones cíclicas. Este estudio profundiza en el conocimiento de protección de la salud pública en la producción artesanal de queso de leche cruda de cabra.

Financing: Proyecto PRIMA ArtisaneFood: Innovative Bio-interventions and Risk Modelling Approaches for Ensuring Microbial Safety and Quality of Mediterranean Artisanal Fermented Foods.

## Efecto de agentes de biocontrol frente a *Penicillium nordicum* productor de ocratoxina A durante el procesado del salchichón.

Eva Cebrián Cabezón<sup>1</sup>, Elia Roncero Benavente<sup>1</sup>, Mar Rodríguez Jovita<sup>1</sup>, Elena Bermúdez Polo<sup>1</sup>, Félix Núñez Breña<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos, Facultad de Veterinaria, Avda. de las Ciencias s/n, Cáceres, España.

La utilización de microorganismos autóctonos como cultivos protectores es una estrategia prometedora para el control de los mohos productores de ocratoxina A (OTA) que habitualmente se desarrollan en la superficie los embutidos madurados. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *Debaryomyces hansenii*, *Staphylococcus xylosus* y *Enterococcus faecium*, aislados de productos cárnicos curados, en el crecimiento de *Penicillium nordicum* y la producción de OTA a lo largo de la maduración de salchichones. Los microorganismos fueron añadidos a la masa y tras el embutido se inocularon superficialmente con *P. nordicum* y se maduraron en una planta piloto siguiendo un procesado tradicional. El crecimiento de los microorganismos se determinó mediante recuento en placa al inicio y al final de la maduración. La OTA fue cuantificada mediante uHPLC-MS/MS. Los agentes de biocontrol se desarrollaron a lo largo del procesado, aunque ninguno de ellos redujo el crecimiento de *P. nordicum*. Sin embargo, se observó una reducción generalizada de OTA tanto en la tripa como en el interior del producto en los lotes inoculados con los agentes de biocontrol. Este descenso fue especialmente marcado en las zonas donde la tripa estaba agrietada y se observaba crecimiento fúngico en la masa. En estas zonas, en los lotes inoculados con *D. hansenii* de manera individual o con los demás agentes no se detectó la presencia de OTA. En conclusión, *D. hansenii* podría proponerse como cultivo protector individual o en combinación con *E. faecium* y *S. xylosus* para el biocontrol de este peligro en embutidos madurados.

Financing: Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, la Junta de Extremadura y FEDER (PID2019-104260GB-I00, GR18056).

## Risk Assessment of Cyclopiazonic Acid Production by *Penicillium commune* on Cheese

JULIANA RAMOS<sup>2</sup>, **Juliana Mareze**<sup>2</sup>, Domingo Fernandez<sup>3</sup>, José María Rodríguez Calleja<sup>1</sup>, TERESA MARÍA LÓPEZ DÍAZ<sup>1</sup>

(1) Departamento Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, U. de León

(2) U. Estatal de Londrina, Brasil

(3) U. de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, León, España

*Penicillium* is the main genus of moulds responsible for the spoilage in ripened cheeses, causing, in addition to product deterioration, public health concern for being potentially toxigenic. Twenty-four strains of *P. commune* isolated and identified in a previous study from semi-hard cheeses, were analyzed in vitro (on Yeast Extract Agar, YES, 7 d/25 °C) for their growth (dry mycelium, DM) and mycotoxin potential (cyclopiazonic acid, CPA, by HPLC). Important differences among the strains were found in both growth (DM mass ranged between 179 and 557 mg) and CPA production (range between 0.1 and 7 mg g<sup>-1</sup> DM), and three strains were classified as high (*P. commune*-M35 and -P5) and low (*P. commune*-M57) producers. In a second stage, cheese slices were inoculated with different spores concentrations of these three strains, incubated up to 28 d/10 °C, and analyzed for CPA by HPLC. Photographs were also taken to estimate the growth. *P. commune*-M57 produced 6.44 mg kg<sup>-1</sup> of CPA, while *P. commune*-M35 produced 20.96 mg kg<sup>-1</sup>, and strain P5, 15.67 mg kg<sup>-1</sup>. These amounts of CPA in cheese may represent a health hazard for the consumer (exceeding in the case of M35 and P5 the acceptable daily intake, IDA), thus showing the need to prevent the consumption of cheese with uncontrolled *P. commune* growth and to either recommend the use of selected strains with a minimum production, such as *P. commune*-M57.

Financing: CAPES and Sandwich Doctorate (PDSE-CAPES 88881.188409/2018-01, Brazil); FEDER 2014-2020 (Project RTA2015- 00018-C03-03 INIA, Spain).

### Microbiología de la carne de pavo

**Noelia Viveros Lizondo<sup>1</sup>**, Pilar Fernández-Pacheco Rodríguez<sup>1</sup>, Beatriz García-Béjar<sup>1</sup>, María Arévalo Villena<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla La Mancha, Química analítica y tecnología de los alimentos, Ciencias y tecnologías químicas, Avenida Camilo Jose Cela, Ciudad Real, España

Actualmente la demanda de la carne de pavo está aumentando debido sus características nutricionales. El objetivo del presente trabajo fue comprobar su seguridad microbiológica, mediante el recuento de bacterias aerobias totales y potenciales patógenos (*Campylobacter* sp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*. sp.), así como estimar, mediante métodos de microbiología predictiva, el riesgo de contaminación cruzada hacia utensilios de cocina. Se partió de 30 muestras de diferentes partes anatómicas compradas en supermercados y carnicerías. Los recuentos de aerobios totales se realizaron en PCA obteniendo una población de 4.95 log ufc/g. El empleo de medios selectivos mostró una contaminación de 1.96 log ufc/g en *Campylobacter*, 1.95 log ufc/g en *E. coli*, 2.25 log ufc/g en *S. aureus* y 4.14 log ufc/g en *Staphylococcus* sp. El test de Duncan ( $P < 0.05$ ) mostró diferencias significativas entre todas las muestras, como en los puntos de venta y con las partes anatómicas, ofreciendo resultados significativamente diferentes excepto para *E. coli* en las alas cuya carga resultó 2.41 log ufc/g. Los resultados de microbiología predictiva obtenidos mediante el programa sQMRA2 indicaron que el riesgo de contaminación cruzada oscilaba en un rango del 50-55%. En conclusión, se puede afirmar que en todas las muestras había presencia de bacterias y que en ocasiones superaban los límites legislativos. Sin embargo, en principio un tratamiento térmico adecuado previo al consumo asegurará la salud del consumidor. El problema sería la contaminación cruzada en caso de que los utensilios contaminados entrasen en contacto con alimentos crudos que no se cocinan posteriormente.

## Microbiología de Alimentos

### E-poster

#### Aplicación de la tecnología Oxford Nanopore MinION para la caracterización genómica de bacterias con capacidad antimicrobiana

**Alexandre Lamas Freire<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Santiago de Compostela

La leche es fuente de bacterias productoras de sustancias antimicrobianas. Estas bacterias pueden producir bacteriocinas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de cepas aisladas de leche y realizar la secuenciación del genoma completo de aquellas con mayor potencial antimicrobiano. Las cepas con potencial antimicrobiano fueron aisladas de muestras de leche usando la técnica de doble capa. Primero las muestras de leche fueron sembradas en BHI agar e incubadas 72h a 37°C y después cubiertas con una sobre capa de MRS con la bacteria indicadora *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* LMG 6901. Las cepas que causaron un halo de inhibición fueron purificadas y coservadas a 20°C BHI con 20% de glicerol. Se evaluó la actividad antimicrobiana de los sobrenadantes neutralizados de las cepas aisladas contra distintos patógenos incluyendo *S. Typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. Perfringens* o *C. difficile*. La cepa LM18.1 mostro actividad actimicrobiana y su genoma fue secuenciado. El DNA de LM18.1 fue preparado con el Rapid Sequencing Kit (Oxford Nanopore) y secuenciando en el equipo MinION (Oxford Nanopore) empleando una Flow cell (R9.4.1). El programa Flye (v2.6) fue usado para De Novo Assembly del genoma. Prokka fue usado para anotar el genoma. ABRicate y bagel4 fueron usados para evaluar la presencia genes de resistencia y bacteriocinas, respectivamente. La secuenciación de lectura larga puede ser de gran utilidad para evaluar de forma rápida y la presencia de genes productores de bacteriocinas o genes de resistencia en cepas con potencial antimicrobiano.

Financing: Alexandre Lamas tiene una beca postdoctoral de la Xunta de Galicia (Axudas de apoio á etapa de formación posdoutoral IN606B)



### Estudio preliminar sobre la diversidad fúngica de mieles monoflorales de Marruecos

**Katihuska Paredes Aguilar**<sup>1</sup>, José Francisco Cano-Lira<sup>1</sup>, Anass Terrab Benjelloun<sup>2</sup>, Alberto Miguel Stchigel<sup>1</sup>

(1) Universidad Rovira i Virgili, Unidad de Microbiología, IISPV, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Reus, España

(2) Universidad de Sevilla, Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Facultad de Biología, Sevilla, España

La miel es uno de los edulcorantes más empleado a escala mundial. Está compuesta por no menos de un 60 % en peso de monosacáridos y de pequeñas cantidades de oligosacáridos, ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas de diferente naturaleza. La Unión Europea es el segundo productor mundial, con unas 250.000 tn/año, pero también su mayor consumidor, importando unas 200.000 tn/año. Analizando muestras de mieles de néctar y de mielada procedentes de diferentes partes de España, sin tratamiento térmico o bien "pasteurizadas", recientemente hemos contribuido a aumentar el conocimiento sobre los hongos xerofílicos que forman parte de su microbiota normal. En el presente trabajo hemos continuado estudiando la diversidad fúngica de mieles monoflorales (esencialmente de *Euphorbia resinifera* O. Berg.), no tratadas térmicamente, procedentes de Marruecos. Las muestras (n = 20) se procesaron por duplicado, mezclando 1 mL de diluciones 1:10 (en solución Ringer) con 15 mL de PDA y con 15 mL de G18 fundidos, alternativamente, y luego de gelificados los medios la mitad de las placas se incubaron a 15 °C y la otra a 25 °C. Los hongos fueron identificados presuntivamente mediante su caracterización fenotípica y, posteriormente, mediante técnicas moleculares basados en la amplificación y secuenciación de uno o más marcadores filogenéticos, acorde a la literatura de referencia. Reportamos el hallazgo de hongos xerofílicos previamente reportados por nosotros en mieles de España (*Bettsia alvei*, *Helicoarthrosporum mellicola*, *Oidiodendron mellicola*, *Skoua fertilis*, *Talaromyces* spp. y *Xerochrysium* spp.), pero también de *Aspergillus* spp., *Chaetomium murorum* y *Microascus* sp.

## Detección y cuantificación de *Campylobacter* spp. y *Yersinia* spp. en hamburguesas de pollo

**Marta Sanchis Talón**<sup>1,2</sup>, Alberto Miguel Stchigel<sup>1,2</sup>, Frederic Gómez- Bertomeu<sup>1,3</sup>

(1) Universidad Rovira i Virgili, Ciències Mèdiques Bàsiques, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, C/ Sant Llorenç, 21, Reus, Espanya

(2) Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV), Reus, Espanya

(3) Hospital Universitari Joan XXIII-Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona-Terres de l'Ebre, Tarragona, Espanya

Dos de los géneros bacterianos más prevalentes en toxicoinfecciones en humanos asociadas al consumo de carnes son *Campylobacter* y *Yersinia*. Estas infecciones son un gran problema de salud pública, sin embargo, existe muy poca legislación y regulaciones específicas que establezcan los límites aceptables de estos microorganismos en las carnes para consumo. El objetivo de este trabajo fue procesar y analizar 40 muestras de hamburguesas de carne de pollo comercializadas en 10 establecimientos diferentes, abarcando tanto grandes superficies como pequeños-medianos comercios siguiendo la normativa europea para *Campylobacter* spp. (Reglamento 2017/1495) y la ISO 10273:2917 para *Yersinia* spp. Los resultados mostraron la ausencia de *Campylobacter* spp. en todas las muestras, pero gran presencia (entre 10<sup>4</sup> y 5 x10<sup>5</sup> ufc/g) de colonias típicas (en "ojo de buey") en el medio CIN, compatibles con *Yersinia* spp., en 29/40 muestras y en 11 de las 40 muestras crecieron unidades formadoras atípicas. El estudio del perfil bioquímico de las cepas derivadas de colonias típicas de todas las muestras positivas, y la posterior identificación molecular mediante la técnica MALDI-TOF, permitieron identificar *Yersinia intermedia* en tan solo una de las muestras, mientras que en el resto de ellas se identificó *Pseudomonas* spp. y *Serratia liquefaciens*. Estos resultados, ponen en duda la elevada selectividad del CIN para la detección de *Yersinia* spp. en alimentos, y plantean la necesidad de mejorar las condiciones higiénico-sanitarias en los procedimientos empleados para la producción de los derivados cárnicos, debido a los elevados recuentos de bacterias pertenecientes a los géneros psicrotrofos *Pseudomonas* y *Serratia*.

### Elaboración de leche fermentada desnatada con cultivos lácticos seleccionados por su actividad acidificante y capacidad productora de exopolisacáridos

**Daniel Abarquero Camino**<sup>1</sup>, Irene Quintanilla Morales<sup>1</sup>, Raquel Bodelón Sánchez<sup>1</sup>, Erica Renes Bañuelos<sup>1</sup>, María Eugenia Tornadijo Rodríguez<sup>1</sup>

(1) Universidad de León, Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana, s/n, 24007 León, León, España

La producción in situ de exopolisacáridos por cultivos lácticos en productos lácteos desnatados fermentados adquiere interés para la industria al mejorar la textura y reología. El objetivo de este trabajo fue seleccionar bacterias lácticas silvestres con capacidad acidificante y de producir EPS y diseñar un cultivo iniciador destinado a la elaboración de leche fermentada. De 32 cepas estudiadas, se seleccionó una cepa de *Lactocaseibacillus paracasei* y otra de *Leuconostoc mesenteroides* productora de EPS en presencia de sacarosa. Con el cultivo mixto se elaboraron 3 tipos de leches fermentadas desnatadas, una sin adición de sacarosa y dos adicionadas al 4% y 8% de sacarosa. Se estudió el curso de la acidificación hasta las 48 h de incubación, la evolución de los recuentos microbianos y la viscosidad a 0 h y 24 h. Las leches sin sacarosa experimentaron una acidificación mayor hasta las 8 h de incubación, momento a partir del cual el mayor incremento correspondió a las muestras con el 4%. La viscosidad aumentó durante la fermentación en las leches con el 4% y 8% de sacarosa, proporcionalmente al porcentaje. En las leches con un 4 y un 8% de sacarosa los recuentos en MSE se incrementaron 2 unidades logarítmicas tras 24 h de incubación; mientras que los recuentos en Rogosa se incrementaron en 1 unidad logarítmica tras 24 h de incubación, independientemente de la incorporación de sacarosa. El cultivo diseñado para la elaboración de una leche fermentada desnatada con un 4% de sacarosa favoreció la acidificación, mejorando la viscosidad.

## Análisis molecular del efecto de la pre-adaptación a aceites vegetales sobre las propiedades probióticas de *Lactiplantibacillus pentosus*.

**Hikmate Abriouel<sup>1</sup>**, Esther Alonso García<sup>1</sup>, Juan José de la Fuente Ordoñez<sup>1</sup>, Leyre Lavilla Lerma<sup>1</sup>, María Dolores Estudillo-Martínez<sup>2</sup>, Sonia Castillo-Gutiérrez<sup>2</sup>, Charles W. Knapp<sup>3</sup>, Nabil Benomar<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Jaén, Ciencias de la Salud, Ciencias Experimentales, Campus Las Lagunillas s/n. 23071-Jaén, Jaén, España

(2) Universidad de Jaén, Departamento de Estadística e Investigación Operativa, Ciencias Experimentales, Campus Las Lagunillas s/n. 23071-Jaén, Jaén, España

(3) University of Strathclyde, Department of Civil and Environmental Engineering, Centre for Water, Environment, Sustainability Public Health, Glasgow, Scotland, United Kingdom, G1 1XJ, Glasgow, Scotland

Cepas de *Lactiplantibacillus pentosus*, aisladas de la fermentación natural de la aceituna Aloreña, poseen un gran potencial probiótico. En este estudio, hemos determinado a nivel fenotípico como molecular si la pre-adaptación de cepas de *L. pentosus* a aceites vegetales (oliva, argán, lino, girasol, maíz, almendra y soja) permite mejorar sus propiedades probióticas. Los resultados obtenidos demostraron que la adaptación previa de cepas de *L. pentosus* a algunos aceites mejoraba su robustez y funcionalidad. En este sentido, la pre-adaptación de dichas cepas a los aceites correspondientes aumentó significativamente su funcionalidad probiótica (por ejemplo, auto-agregación, co-agregación con patógenos y adhesión a mucina), aunque los resultados dependieron de la cepa y el aceite utilizado para la pre-adaptación. Para contrastar los efectos observados a nivel fenotípico, se analizó el transcriptoma de *L. pentosus* AP2-16 pre-adaptada al aceite de oliva en comparación con el control sin adaptar. El análisis transcriptómico comparativo mostró que 125 (oliva versus control) genes mostraron una expresión diferencial significativa. En este caso, *L. pentosus* AP2-16 pre-adaptada al aceite de oliva respondió redirigiendo sus vías metabólicas para equilibrar la producción y el almacenamiento de energía, el crecimiento y la supervivencia celular, las interacciones con el huésped (glicoconjugados) y otras características fisiológicas. Como tal, la pre-adaptación de los lactobacilos al aceite de oliva cambia su red transcripcional para regular la robustez y la funcionalidad, posiblemente representando un enfoque novedoso hacia el diseño y fabricación de productos probióticos con estabilidad y funcionalidad mejoradas.

Financing: Universidad de Jaén (EL\_BIO1\_2019).

### Caracterización de cuatro cepas del género *Lactobacillus* para su uso como cultivos bioprotectores.

Ángel Alegría González<sup>1</sup>, Juliana Ramos<sup>1</sup>, Juliana Mareze<sup>2</sup>, Teresa María López Díaz<sup>1</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y tecnología de los alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana, s/n, 24007, León, España

(2) Universidade Estadual de Londrina | UEL, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Veterinária, Campus Universitário, Londrina, Londrina, Brasil

Las alteraciones producidas por el hongo *Penicillium commune* son uno de los principales problemas en la producción de quesos. Frente a esto, la industria demanda soluciones alternativas a la utilización de los antifúngicos tradicionales como la natamicina. Una de las mejores estrategias es el uso de bacterias lácticas (BAL) como cultivos bioprotectores. En este estudio se han seleccionado por sus propiedades antifúngicas a cuatro cepas del género *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. paracasei* y dos *L. plantarum*) aisladas de leche y queso. Esta actividad antifúngica se ha confirmado mediante cocultivos en agar y en microdilución junto con el hongo *P. commune*. La idoneidad del uso de estas cepas como cultivos tecnológicos y protectores se ha evaluado enfrentándolas también a varias cepas tipo (*Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus sakei*, *Listeria innocua* y *Staphylococcus aureus*) en test de agar-spot y sobrenadantes neutralizados, pudiendo destacar que las cuatro cepas inhiben eficazmente a *L. innocua* y *S. aureus*. Para determinar la naturaleza del compuesto antifúngico producido por las BAL, se ha sometido a los sobrenadantes a un tratamiento térmico, ácido y con proteinasas, llegando a la conclusión de que se trata de una inhibición producida por un compuesto de naturaleza ácida. Finalmente, mediante HPLC, se ha determinado que las cuatro cepas producen entre 22,40 y 43,06 mg L<sup>-1</sup> de ácido feniláctico, un compuesto de reconocida acción antibacteriana y antifúngica, siendo la producción de los *L. plantarum* el doble que la de *L. casei* y *L. paracasei*. Estos resultados complementan otros anteriores y permiten afirmar que las cuatro cepas de *Lactobacillus* son buenas candidatas para ser usadas como cultivos bioprotectores.

Financing: Este estudio ha sido parcialmente financiado por FEDER 2014-2020 (Proyecto RTA2015-00018-C03-03, INIA) (FEDER 2014-2020).

## Niveles, identificación y resistencia a antibióticos de enterobacterias en diferentes tipos de quesos en la ciudad de León

**Carlos Alonso-Calleja**<sup>1,2</sup>, Daniela Ramírez-Lozano<sup>1,2</sup>, Cristina Rodríguez-Melcón<sup>1,2</sup>, Rosa Capita<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana, s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Calle La Serna, nº 58, 24007, León, España

Se estudiaron 15 tipos de quesos (quesos tiernos, semicurados y curados, elaborados con leche cruda y/o pasteurizada, de vaca, oveja y/o cabra) adquiridos en establecimientos de venta al público de la ciudad de León (España). Se detectaron cepas de enterobacterias en muestras de 5 tipos de quesos (los niveles oscilaron entre  $0,25 \pm 0,50 \log_{10} \text{ ufc/g}$  y  $2,61 \pm 0,58 \log_{10} \text{ ufc/g}$ ), observándose la mayor concentración en un queso tipo Roquefort de origen francés elaborado con leche cruda de oveja. Los recuentos obtenidos son congruentes con los resultados de otros autores. Se aislaron 80 cepas de enterobacterias a partir del medio VRBGA. Los aislamientos se identificaron (API 20E) como *Salmonella enterica* (26,3%), *Escherichia coli* (22,5%), *Enterobacter* spp. (17,5%), *Enterobacter cloacae* (8,8%), *Serratia liquefaciens* (6,3%), *Providencia* spp. (5,0%), *Citrobacter* spp. (3,8%), *Pantoea* spp. (3,8%), *Citrobacter freundii* (2,5%), *Cedecea* spp. (2,5%) y *Pseudomonas* spp. (1,3%). Se determinó la susceptibilidad de las cepas frente a un panel de 15 antibióticos de interés clínico (difusión por disco, EUCAST). La mayor prevalencia de resistencia se observó para ampicilina (51,3% de las cepas), amoxicilina-ácido clavulánico (46,3%), cloranfenicol (28,8%) y gentamicina (10,0%). Por lo que respecta a las cepas de *Salmonella enterica*, la prevalencia de resistencia fue del 100% (ampicilina), 95,2% (estreptomycin), 90,5% (cloranfenicol), 9,5% (amoxicilina-ácido clavulánico, cefoxitina) y 4,8% (cefotaxima). Hay que señalar que estos elevados porcentajes de cepas resistentes suponen un importante desafío sanitario, ya que, en caso de ocurrir una infección alimentaria, se vería comprometida la efectividad terapéutica de diferentes antibióticos.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).



## Aislamiento y caracterización de nuevos bacteriófagos activos frente a *Clostridium tyrobutyricum* responsable de la hinchazón tardía de queso

**Marta Ávila**<sup>1</sup>, Carmen Sánchez<sup>1</sup>, Javier Calzada<sup>1</sup>, Melinda J. Mayer<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Isabel Berruga<sup>3</sup>, Teresa M<sup>a</sup> López-Díaz<sup>4</sup>, Arjan Narbad<sup>2</sup>, Sonia Garde<sup>1</sup>

(1) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA, CSIC), Dpto. Tecnología de Alimentos, Crta. de la Coruña, km 7,5, 28040, Madrid, España

(2) Quadram Institute Bioscience, Norwich Research Park, NR4 7UQ, Norwich, Reino Unido

(3) Universidad de Castilla-La Mancha, Sección de Calidad Alimentaria, Instituto de Desarrollo Regional, Campus Universitario s/n, 02071, Albacete, España

(4) Universidad de León, Dpto. Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana, 24071, León, España

La hinchazón tardía o butírica es un problema grave en quesos de pasta dura y semidura. La producen algunas especies de *Clostridium*, fundamentalmente *C. tyrobutyricum*, que metabolizan el ácido láctico del queso y producen ácido butírico y acético, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>, provocando defectos de aroma, sabor y textura en el queso. Los bacteriófagos ofrecen un gran potencial para el control de *Clostridium* en queso debido a su especificidad, a que son poco costosos, y no alteran las características sensoriales de los alimentos. Sin embargo, existen escasos trabajos sobre su uso frente a *Clostridium* spp. alterantes de alimentos. En este trabajo buscamos nuevos bacteriófagos capaces de infectar *C. tyrobutyricum* alterantes de queso. Para el aislamiento recogimos ensilado, suelo, leche y quesos de granjas-queserías de Castilla-La Mancha y Castilla y León, y conseguimos 96 aislados activos frente a *C. tyrobutyricum*, la mayoría de ensilado. Procedimos a su caracterización: rango de hospedador (frente a distintas especies de *Clostridium* y a bacterias lácticas de queso), morfología, perfil de restricción del genoma y estabilidad en leche y tampón a distintas temperaturas y pHs. El rango de hospedador de los aislados se restringe a *C. tyrobutyricum*. Seleccionamos los 8 aislados con mayor lisis y rango de hospedador, y son fagos con cola no contráctil, de la familia Siphoviridae, con 5 perfiles de restricción diferentes. En general, la viabilidad de los fagos testados fue buena en leche y tampón. Nuestros resultados apuntan a una buena supervivencia de los fagos durante la fabricación y maduración del queso.

Financing: Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación del proyecto RTA2015-00018-C03 (Ministerio de Economía y Competitividad de España)

## Adherencia e invasión a células intestinales humanas de especies de *Aliarcobacter* spp. de origen alimentario

**Itsaso Baztarrika Uria**<sup>1</sup>, Adrián Salazar Sánchez<sup>1</sup>, Ilargi Martínez Ballesteros<sup>1</sup>, Rodrigo Alonso Monsalve<sup>1</sup>, Irati Martínez Malax-etxebarria<sup>1</sup>

(1) Universidad del País Vasco UPV/EHU, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, C/ Paseo de la Universidad 7, Vitoria-Gasteiz, España

Varias especies del género *Aliarcobacter* (anteriormente *Arcobacter*) han sido asociadas a infección humana, principalmente *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii*, pero también otras como *A. thereius* y *A. lanthieri*. Aun considerándose un peligro para la salud humana, poco se conoce sobre el potencial patogénico de este género asociado principalmente a gastroenteritis humana. El objetivo de este trabajo fue determinar el fenotipo de virulencia de aislamientos de *A. butzleri* (n=38), *A. cryaerophilus* (n=16), *A. skirrowii* (n=2), *A. thereius* (n=3), *A. lanthieri* (n=2), *A. vitoriensis* (n=2) y *Aliarcobacter* spp. (n=3) obtenidos de alimentos (n=39) y aguas (n=27) mediante la realización de ensayos de adherencia e invasión en células CaCo-2. Todos los aislamientos presentaron capacidad adherente e invasora, definiéndose 51 (77,3 %) como altamente adherentes y 48 (72,7 %) como altamente invasoras. Diez aislamientos destacaron por demostrar valores superiores a los del control positivo en la adherencia y otros 4 por demostrarlos en la invasión, incluyendo especies minoritarias como *A. skirrowii*, *A. lanthieri* y *A. vitoriensis*. Entre las especies de mayor representación, *A. butzleri* destacó significativamente sobre *A. cryaerophilus* tanto por su adherencia (p=0,022) como por su invasión (p=0,009). En general, a pesar del origen alimentario de las cepas más adherente (AB-PV 2) e invasora (AB-QS 1), los aislamientos procedentes de aguas residuales mostraron valores significativamente superiores para ambas capacidades (p=0,009 para adherencia y p=0,000 para invasión).

Financing: El trabajo deriva de los proyectos EHUA16/21, PPG17/27 y PPGA19/17, financiados por la UPV/EHU.

### Estudio de desafío de *Listeria monocytogenes* en queso fresco artesanal elaborado a escala de laboratorio.

**Olga María Bonilla Luque**<sup>1</sup>, Aricia Possas<sup>1</sup>, Antonio Valero<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Dpto. Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus Universitario de Rabanales s/n. Edificio Charles Darwin Planta sótano. Ctra. Madrid-Cádiz Km 396A, 14071, Córdoba, España

Una gran parte de los brotes alimentarios asociados al consumo de queso están causados por *Listeria monocytogenes*. Los modelos de microbiología predictiva son herramientas relevantes para estimar el comportamiento microbiano en un determinado alimento. Para ello, resulta fundamental identificar los principales factores que influyen sobre la dinámica de poblaciones en función de condiciones ambientales de procesado y almacenamiento. En este estudio se monitorizó la evolución de quesos frescos inoculados con 4-5 log ufc/g de un cóctel de 5 cepas de *L. monocytogenes* y almacenados a 4 y 25°C durante 10 días. La elaboración del queso a escala laboratorial se hizo con cultivos iniciadores de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* y *L. lactis* subsp. *Cremoris*, según protocolos previamente publicados. Los resultados indicaron una reducción de concentración de 2,78 log ufc/g tras 10 días de almacenamiento a 25°C. Sin embargo, la concentración inicial se mantuvo transcurrido el tiempo de almacenamiento a 4°C. El control de pH varió desde 6,46 a 5,17 a 4°C, mientras que, a 25°C, descendió al valor de 4,92. Durante el almacenamiento a ambas temperaturas, no se observaron diferencias significativas en el valor de *a<sub>w</sub>*, siendo 0,9861 su valor medio. A partir de los resultados obtenidos se concluye que el queso puede suponer un medio favorable para la supervivencia de *L. monocytogenes* en condiciones de refrigeración. Asimismo, la adición de cultivos iniciadores constituye una estrategia de bio-preservación adecuada en este tipo de productos para la mejora de la seguridad alimentaria.

Financing: Proyecto PRIMA ArtisaneFood: Innovative Bio-interventions and Risk Modelling Approaches for Ensuring Microbial Safety and Quality of Mediterranean Artisanal Fermented Foods.

## Selección de levaduras productoras de compuestos orgánicos volátiles antifúngicos aisladas de viñedos

**Catalina M. Cabañas**<sup>1,2,3</sup>, Santiago Ruiz-Moyano<sup>1,2</sup>, Ana Martínez<sup>1,2</sup>, Maria Vázquez-Hernández<sup>1,2</sup>, Alberto Martín<sup>1,2</sup>, Alejandro Hernández<sup>1,2</sup>

(1) 1 Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Escuela de Ingenierías Agrarias. Universidad de Extremadura. Badajoz. España

(2) 2 Instituto Universitario de Investigación en Recursos Agrarios (Inura). Universidad de Extremadura. Badajoz. España.

(3) ccabaasc@alumnos.unex.es

Entre los principales problemas del cultivo de la uva se encuentran las pérdidas producidas en pre-cosecha y post-cosecha causadas por el desarrollo fúngico. Entre los mohos responsables de pudriciones en uva destacan *Botrytis cinerea*, *Penicillium* spp. o *Alternaria* spp. El control de estos patógenos mediante el uso de microorganismos antagonistas es una de las alternativas viables al uso de fungicidas de síntesis, además de relevante por su carácter respetuoso con el medio ambiente. El objetivo principal de este trabajo fue seleccionar levaduras antagonistas contra mohos fitopatógenos entre la población natural de uvas. Para ello se aislaron e identificaron levaduras y mohos mediante técnicas moleculares. Posteriormente se caracterizó la actividad antagónica de las levaduras mediante pruebas de producción de compuestos volátiles antifúngicos. Entre los mohos predominantes en las uvas con síntomas de pudrición destacó la presencia de *Penicillium glabrum*, por lo que fue seleccionado como objetivo de la actividad antagonista. Entre las 42 levaduras identificadas 3 aislados fueron productores de compuestos volátiles antifúngicos, sobresaliendo *Pichia kudriavzevii* PK18 en cuanto a capacidad reductora de crecimiento. Finalmente, se realizó un ensayo de confrontación con el moho seleccionado en uvas. *Pichia kudriavzevii* PK18 presentó una elevada capacidad de controlar la incidencia de *P. glabrum* en las uvas infestadas.

Financing: RTI2018-096882-B-100 (MCI/AEI/FEDER, UE) Junta de Extremadura y Fondos FEDER (GR18165)

### Actividad inhibitoria de extractos de plantas aromáticas frente a *Clostridium* spp. alterantes de queso.

**Javier Calzada Gómez**<sup>1</sup>, Nuria Muñoz-Tébar<sup>2</sup>, Marta Ávila Arribas<sup>1</sup>, Emilio J. González-Navarro<sup>2</sup>, Carmen Sánchez López<sup>1</sup>, Manuel Carmona<sup>2</sup>, Ana Molina<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Isabel Berruga Fernández<sup>2</sup>, Sonia Garde López-Brea<sup>1</sup>

(1) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (CSIC-INIA), Tecnología de Alimentos, Crta de la Coruña km 7.5 28040, Madrid, España

(2) Universidad de Castilla La Mancha, Sección de Calidad Alimentaria, Instituto de Desarrollo Regional, Campus universitario s/n 02071 Albacete, España

El interés por el uso de extractos de plantas aromáticas como conservantes en alimentos ha aumentado notablemente por sus propiedades bactericidas, fungicidas y antioxidantes. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad inhibitoria in vitro de aceites esenciales (AE) y de extractos de residuos de destilación (ERD) de orégano, ajedrea, hisopo, cantueso, santolina, mejorana y estragón frente a cepas de *Clostridium* spp. relacionadas con la hinchazón tardía del queso. Los AE se extrajeron por hidrodestilación, y los ERD se consiguieron a partir de 100 g de la biomasa residual resultante mediante extracción Soxhlet en 400 mL de etanol al 60% v/v. Las 12 cepas ensayadas, aisladas de queso Manchego con hinchazón tardía y de colección, pertenecen a las especies *Clostridium tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. beijerinckii* y *C. sporogenes*. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los AE y ERD (máxima concentración ensayada 10 mg/mL y 500 µg/mL, respectivamente) mediante el método de microdilución, en caldo RCM, tras incubar 7 días en anaerobiosis a 37°C. La sensibilidad de *Clostridium* a los AE y ERD fue cepa dependiente. Ningún AE inhibió el crecimiento de *C. sporogenes*. Solo los AE de orégano y ajedrea inhibieron a algunas cepas de *C. tyrobutyricum* y *C. butyricum*. *C. beijerinckii* fue la especie más sensible a la acción de los AE. Todos los ERD inhibieron a todas las cepas de *Clostridium* ensayadas. En general, los mejores resultados de inhibición fueron para los ERD de hisopo, estragón y cantueso, con CMIs entre 0,9 y 31,3 µL/mL.

Financing: Proyecto RTA2015-00018-C03 (Ministerio de Economía y Competitividad de España). Nuria Muñoz-Tébar es beneficiaria de un contrato predoctoral UCLM y FSE.

## Estudio preliminar sobre la calidad microbiológica del atún y del salmón destinados a ser consumidos en crudo.

Laura Camuña Pardo<sup>1</sup>, Marta Sanchis Talón<sup>1</sup>, Frederic-Francesc Gómez Bertomeu<sup>1</sup>, Alberto Miguel Stchigel Glikman<sup>1</sup>

(1) Universitat Rovira i Virgili, Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Sant Llorenç 21, Reus, España

El objetivo del presente estudio fue analizar la calidad microbiológica de muestras de atún y de salmón comercializados en diferentes establecimientos de la ciudad de Reus para ser consumidos en crudo. Dos muestras de atún y tres de salmón fueron homogenizadas en stomacher hasta obtener diluciones 1:10 en agua peptonada 0,1 % tamponada, y estas fueron inoculadas por duplicado en agar para recuento en placa (ARP; microorganismos aerobios psicotrofos), Chromocult® Coliform Agar (CCA; coliformes totales [CT] y fecales [CF]), agar con dextrina y ampicilina (ADA; *Aeromonas* spp.) y agar con tiosulfato citrato bilis y sacarosa (TCBS; *Vibrio* spp.). En 4/5 muestras las concentraciones de microorganismos aerobios psicotrofos estuvieron entre  $8 \times 10^3$  y  $1,2 \times 10^7$  UFC/g. Los CF estuvieron ausentes, pero en 2/5 los CT fueron entre 4 y  $6,6 \times 10^3$  UFC/g. Tres de las muestras tuvieron recuentos en ADA (de 45 a  $6 \times 10^3$  UFC/g), y solo una muestra en TCBS (45 UFC/g). La tinción de Gram, las pruebas bioquímicas y el MALDI-TOF permitieron identificar las cepas de CT como mayoritariamente pertenecientes a *Klebsiella oxytoca*, mientras que las de ADA pertenecieron a *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Candida krusei* (= *Issatchenkia orientalis*). La identidad de las cepas de TCBS es, hasta la fecha, desconocida. Estos resultados permiten concluir que la calidad microbiológica de las muestras estudiadas era buena, mientras que ponen en duda la efectividad del ADA para la detección selectiva directa de *Aeromonas* spp. a partir de las muestras.



### Cuantificación de células viables de *Listeria monocytogenes* en muestras de carne de ave

Sarah Panera-Martínez<sup>1,2</sup>, Cristina Rodríguez-Melcón<sup>1,2</sup>, Ouda Belabbes<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso-Calleja<sup>1,2</sup>, **Rosa Capita**<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León, España

(2) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Universidad de León, Calle La Serna, nº 58, 24007 León, España

La detección de *Listeria monocytogenes* en alimentos se ha basado tradicionalmente en métodos de enriquecimiento y cultivo en medios selectivos. La aplicación de técnicas de q-PCR reduce el tiempo de detección y permite la cuantificación del microorganismo. Además, si se utiliza con un marcador de viabilidad, es posible cuantificar exclusivamente las células viables (v-PCR). El objetivo de este estudio fue determinar la concentración de células viables de *L. monocytogenes* en 30 muestras de despieces de carne de ave (pollo y pavo) mediante la aplicación de una técnica de v-PCR. Se homogeneizaron 25 gramos de piel en 225 ml de agua de peptona al 0,1% y se separaron dos alícuotas. Una de ellas se trató con 25  $\mu$ M de monoácido de propidio (PMAxx) previamente a la extracción del ADN. Este compuesto tiene una alta afinidad por el ADN, al que se une bloqueando su amplificación. Puesto que solo puede atravesar las membranas dañadas, el PMAxx impide únicamente la amplificación de los ácidos nucleicos de las células inactivadas. La diferencia de ciclos de amplificación entre alícuotas y la utilización de una recta patrón permitieron determinar la concentración de células viables en cada muestra. Se observaron diferencias ( $P < 0,001$ ) entre los recuentos estimados ( $\log_{10}$  ufc/g) de células totales ( $4,99 \pm 0,60$ ) y células viables ( $4,35 \pm 0,43$ ). La v-PCR es una técnica rápida para la detección *L. monocytogenes* en alimentos, que no necesita pasos previos de enriquecimiento y que permite cuantificar las células viables, incluidas las viables no cultivables.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20)

## Prevalencia y niveles de *Listeria monocytogenes* en muestras de carne picada de pollo adquiridas en España y Portugal

Rosa Capita<sup>1,2</sup>, Cristina Rodríguez-Melcón<sup>1,2</sup>, Sarah Panera-Martínez<sup>1,2</sup>, Alexandra Esteves<sup>3</sup>, Carlos Alonso-Calleja<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana, s/n, 24071, León, España

(2) Universidad de León, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Calle La Serna, nº 58, 24007, León, España

(3) Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Departamento de Ciências Veterinárias, Escola Superior de Ciências Agrárias e Veterinárias, 5000-801, Vila Real, Portugal

El objetivo de este estudio fue conocer y comparar la prevalencia y los niveles de *Listeria monocytogenes* en carne picada de pollo procedente de carnicerías de León (España) y Vila-Real (Portugal). Se analizaron 20 muestras (10 de cada país). Se detectó *L. monocytogenes* (Norma UNE-EN ISO 11290-1, aislamiento a partir de medio OCLA, confirmación por PCR) en 14 muestras (70% del total), 9 de origen español y 5 procedentes de Portugal ( $P > 0,05$ ; prevalencia del 90% y del 50%, respectivamente). Se determinaron los niveles de *L. monocytogenes* por q-PCR en las 20 muestras ensayadas. Trece muestras (8 procedentes de España y 5 de Portugal) fueron positivas por OCLA-PCR y por q-PCR (las concentraciones estimadas oscilaron entre 4,496 y 5,170 log<sub>10</sub> ufc/g), una muestra (España) fue negativa por OCLA-PCR y por q-PCR, una muestra (España) fue positiva por OCLA-PCR y negativa por q-PCR (se consideró que estaba contaminada con un nivel de *L. monocytogenes* inferior al límite de detección de la técnica, fijado en 4,175 log<sub>10</sub> ufc/g) y 5 muestras (Portugal) fueron negativas por OCLA-PCR y positivas por q-PCR, lo que indica que las bacterias estaban inactivadas o en estado viable no cultivable. La elevada prevalencia y concentración de *L. monocytogenes* en carne picada de pollo sugiere que este alimento supone un peligro potencial para el consumidor y subraya la necesidad de su correcta manipulación. El método clásico de aislamiento y la q-PCR se complementan para la detección en alimentos de células de *L. monocytogenes* en diferentes estados fisiológicos.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).

### Calidad y seguridad microbiológica de la carne de cabra en puntos de venta

Jéssica da Silva Guedes<sup>1</sup>, Alba Martinez Laorden<sup>1</sup>, Elena Gonzalez Fandos<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Rioja, Agricultura y Alimentacion, Ciencia y Tecnologia, Madre de Dios 53 26006, Logroño, España

La carne de cabra destaca por sus propiedades dietéticas y nutricionales. Sin embargo, su composición hace que este alimento sea susceptible a la contaminación microbiana, pudiendo estar presentes bacterias patógenas. El objetivo de este estudio es evaluar la calidad y seguridad microbiológica de la carne de cabra. Se recolectaron 11 muestras de carne de cabra en distintos puntos de venta entre enero y diciembre de 2020. Se analizaron los siguientes grupos microbianos: flora aerobia mesófila, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. y enterobacterias. También se procedió a determinar la presencia y recuento de *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter* spp. Posteriormente se procedió al aislamiento e identificación. La presencia de *Listeria* spp. fue detectada en el 27,28% de las muestras analizadas, no se detectó la presencia de *L. monocytogenes* en ninguna de las muestras analizadas. Los recuentos de *Listeria* spp. fueron superiores a 2 log ufc/g en el 66,67% de los casos. No se detectó presencia de *Campylobacter* spp. en ninguna de las muestras analizadas. Los recuentos de flora aerobia mesófila y *Pseudomonas* spp. fueron  $6,01 \pm 0,80$  y  $4,41 \pm 1,09$  log ufc/g, respectivamente. Los recuentos de *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y enterobacterias oscilaron entre 1,30 y 2,68 log ufc/g; 1,60 y 3,41 log ufc/g y 2,07 y 3,71 log ufc/g, respectivamente. El porcentaje de muestras con presencia de *Listeria* spp. sugieren la necesidad de adoptar medidas para su control.

Financing: Proyecto POCTEFA, TESTACOS. Beca Marie Sklodowska-Curie N 801586.

## Efecto sinérgico del fago phiPLA-RODI y de la exopolisacárido despolimerasa Dpo7 para eliminar biofilms de *Staphylococcus aureus*

Ana Catarina Duarte<sup>1</sup>, Lucía Fernández<sup>1</sup>, Ana Rodríguez<sup>1</sup>, Pilar García<sup>1</sup>

(1) Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), DairySafe Group, Paseo Río Linares, s/n, 33300, Villaviciosa, España

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram-positiva con capacidad de formar biofilms tanto en superficies bióticas como abióticas, protegiéndose así de tratamientos con antibióticos y agentes desinfectantes. Este patógeno es considerado actualmente prioritario por la OMS, siendo necesario desarrollar nuevas estrategias para tratar y prevenir las infecciones estafilocócicas. En este contexto, la terapia con fagos se propone como una alternativa segura a los antimicrobianos convencionales que podría ayudar a controlar la propagación de la resistencia a los antibióticos. Sin embargo, aún se necesita optimizar esta terapia en diferentes entornos. Así, sería útil determinar si la combinación de fagos con otros antimicrobianos tendrá un efecto potenciador o antagonista sobre su capacidad para matar el patógeno. En este trabajo, se investigó el potencial efecto sinérgico entre una exopolisacárido despolimerasa de origen fágico, Dpo7, y el bacteriófago virulento phiPLA-RODI. Para ello, se obtuvieron biofilms de *S. aureus* y se trataron con el fago, la exopolisacárido despolimerasa o una combinación de ambos antimicrobianos. Se tomaron muestras después de 24 horas y se compararon con un control no tratado. Se observó que el número de bacterias viables en el biofilm se redujo significativamente cuando se utilizó la combinación de ambos antimicrobianos; sin embargo, el tratamiento con el fago o la exopolisacárido despolimerasa individualmente no reveló un efecto antibiofilm significativo. En general, los resultados muestran la existencia de un efecto sinérgico entre phiPLA-RODI y la exopolisacárido despolimerasa Dpo7 en la reducción de la densidad bacteriana en biofilms de *S. aureus*, que podría ser clave su eliminación.

Financing: Programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea en virtud del Acuerdo de subvención Marie Skłodowska-Curie no.813439

### Diversidad de bacterias lácticas aisladas de quinoa y amaranto de origen andino identificadas por MALDI-TOF MS

**Patricia Elizaquivel Bárcenas**<sup>1</sup>, Maria Amparo Ruvira Garrigues<sup>1</sup>, Marina Perozzi<sup>2</sup>, Montserrat Náchter-Vázquez<sup>6</sup>, Graciela Vignolo<sup>4</sup>, Rosa Aznar Novella<sup>1,3,5</sup>

(1) Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) Universitat de València, C/ Catedrático Agustín Escardino, 9, 46980 Paterna, Valencia, España

(2) Instituto de Biología Celular y Molecular de Rosario (IBR CONICET), Ocampo y Esmeralda, Rosario, Santa Fe, Argentina

(3) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Departamento de Biotecnología, P. Box 73, 46100 Burjassot, Valencia, España

(4) Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA), Chacabuco 145, 4000, Tucumán, Argentina

(5) Universitat de València (UVEG), Departamento de Microbiología y Ecología, Av. Dr. Moliner, 50, Burjassot, Valencia, España

(6) Instituto Nacional de InvestigaçãO Agrária e Veterinária (INIAV), Rua dos Lagidos, Lugar da Madalena, Vairão, Portugal

La quinoa y el amaranto son pseudocereales de origen andino reconocidos como "superalimentos" por su contenido en proteínas, aminoácidos esenciales, oligoelementos y vitaminas y, además, carecen de gluten. Estas características nutricionales unidas a su capacidad de adaptarse a diferentes condiciones climáticas y geográficas han potenciado su producción e incrementado su consumo. La utilización de bacterias lácticas (BL) autóctonas seleccionadas para fermentar la masa madre es una herramienta biotecnológica prometedora para explotar el potencial de los alimentos fermentados a base de pseudocereales. El objetivo de este estudio ha sido aislar e identificar BL de tres variedades de semillas de quinoa y una de amaranto procedentes de Argentina, así como de masas madre espontáneas, como fuente de potenciales cultivos funcionales en la producción de nuevos alimentos. Para la identificación bacteriana se utilizó la técnica MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted-Laser-Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry), que permite la discriminación de especies filogenéticamente relacionadas mediante el análisis de perfiles proteicos generados a partir de proteínas que se expresan constitutivamente, principalmente ribosómicas. Se recuperaron e identificaron 133 BL, 84 de quinoa y 49 de amaranto, adscribiéndose a las siguientes especies: *Enterococcus casseliflavus* (51), *E. mundtii* (29), *E. faecium* (9), *E. hirae* (2), *E. hermanniense* (1), *E. gallinarum*/*E. casseliflavus* (9), *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (30) y *L. mesenteroides* subsp. *dextranicum* (2). La mayor diversidad se observó en las masas de amaranto variedad kiwicha y quinoa variedad "Real Hornillos", de las cuales, además de las distintas especies de *Enterococcus*, se recuperaron cepas de las dos subespecies de *L. mesenteroides*.

Financing: Financiado por los proyectos ProInfant (CYTED – MINECO PCIN2017-003) y MicroAndes (EU FP7 Marie Curie Actions, GA nº 247650)

## Cooperación entre el sistema lítico de dos profagos de *Lactococcus lactis* en la lisis del hospedador

**Susana Escobedo**<sup>1</sup>, Mikel Pérez de Pipaon<sup>1</sup>, Ana Belén Campelo<sup>1</sup>, Udo Wegmann<sup>2</sup>, Ana Rodríguez<sup>1</sup>, Beatriz Martínez<sup>1</sup>

(1) Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Dairy Safe, Paseo Río Linares s/n., Villaviciosa, Asturias, España

(2) University of East Anglia, School of Chemistry, Norwich Research Park, Norwich, United Kingdom

La lisis del hospedador es un paso crucial en el proceso infectivo de los bacteriófagos. En este trabajo, hemos estudiado dos cepas de *Lactococcus lactis* que difieren en su contenido en profagos y en su respuesta a la inducción del ciclo lítico con mitomicina C: *L. lactis* TP+CAP<sup>-</sup> alberga un fago completo (TP712) capaz de formar viriones infectivos pero incapaz de provocar la lisis del cultivo, y *L. lactis* TP+CAP<sup>+</sup> que contiene un profago adicional (CAP) y que lisa tras el tratamiento con mitomicina C. Pudimos demostrar que las funciones líticas de ambos fagos son necesarias para una lisis eficiente de la bacteria hospedadora. La expresión de los genes líticos del profago CAP, que codifican para una pinholina con dos dominios transmembrana y una endolisina modular con un dominio catalítico tipo amidasa<sub>5</sub>, provocó la lisis parcial del cultivo. Sin embargo, cuando la expresión de estos genes se realizó conjuntamente con la inducción del profago TP712, la lisis celular se aceleraba y era completa. Este efecto potenciador no ocurría con variantes de TP712 carentes de holina, sugiriendo que esta proteína era necesaria para una lisis eficiente. Experimentos posteriores demostraron que la cooperación entre ambos fagos residía en el hecho de que, para hidrolizar el peptidoglicano, la endolisina del fago CAP (LysCAP) requiere la despolarización de la membrana citoplasmática. De hecho, la proteína LysCap purificada solo lisa células que previamente se tratan con ionóforos. Por tanto, la poli-lisogenia en cultivos iniciadores utilizados por la industria quesera aumenta el riesgo de fermentaciones fallidas.

Financing: BIO2017-88147-R (AEI/FEDER, UE)



### Formación de células persistentes de *Listeria Monocytogenes* bajo condiciones de desecación

**Xavier Fernández Hospital**<sup>1</sup>, Eva Hierro Paredes<sup>1</sup>, Manuela Fernández Álvarez<sup>1</sup>, Luxin Wang<sup>2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Veterinaria, Av. Puerta de Hierro S/N 28040, Madrid, España

(2) University of California, Davis (UCDavis), Food Science and Technology, Food Science and Technology, 3210 Robert Mondavi Institute – South, Davis, EEUU

*Listeria monocytogenes* (LM) puede sobrevivir y proliferar en las condiciones ambientales que típicamente se encuentran en la industria alimentaria. En un ambiente hostil, las células pueden entrar en un estado persistente, cuya presencia en las plantas de procesado representa una grave amenaza para la salud pública. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de LM para formar células persistentes en condiciones de desecación y de almacenamiento en refrigeración. Se seleccionaron las 3 cepas de LM con la mayor capacidad de adhesión. La formación de células persistentes se evaluó mediante lavado y resuspensión de cultivos frescos de LM en caldo BHI y jugo vegetal (JV). Las células resuspendidas se inocularon en cupones de acero inoxidable que, tras secarse a temperatura ambiente, se almacenaron a 4°C durante 11 días. Los supervivientes se incubaron en BHI con diferentes concentraciones de gentamicina (0-100 ppm) durante 4h, y los porcentajes de células persistentes se determinaron mediante recuentos en TSA. Los cultivos de LM en BHI en fase estacionaria (~8,5 log ufc/cupón) generaron 0,75 y 0,01% de células persistentes cuando se expusieron a 10 y 100 ppm de gentamicina, respectivamente. Aunque la desecación y almacenamiento redujeron los recuentos de LM en los cupones, el número relativo de células persistentes se mantuvo constante o disminuyó ligeramente. La baja supervivencia de LM inoculada en los cupones en JV limitó la detección de células persistentes. Este trabajo muestra la capacidad de LM para formar células persistentes cuando sobrevive a la desecación.

Financing: Este trabajo se ha financiado con las becas post-doctorales UCM-del Amo y José Castillejo.

## Análisis de la efectividad de la endolisina lysrodi para eliminar *Staphylococcus Aureus* en leche

**Lucía Fernández**<sup>1,2</sup>, Ana Rodríguez<sup>1,2</sup>, Pilar García<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Tecnología y Biotecnología de Productos Lácteos, Paseo Río Linares, s/n, Villaviciosa (Asturias), España

(2) Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo (Asturias), Spain

*Staphylococcus aureus* es uno de los principales microorganismos responsables de la mastitis bovina, enfermedad que da lugar a pérdidas económicas en el sector lácteo. Además, este patógeno puede también llegar a contaminar la leche, derivando así en un problema de salud humana. Recientemente, se está explorando el uso de bacteriófagos, virus que infectan bacterias, y sus proteínas derivadas como una alternativa y/o complemento a los antibióticos y desinfectantes convencionales. LysRODI es una endolisina de origen fágico con actividad peptidoglucano hidrolasa que, cuando se administra desde el exterior, degrada el peptidoglucano de la pared celular bacteriana, lo que acaba desembocando en la lisis de la célula. En trabajos anteriores ya se había demostrado su efectividad frente a biofilms formados por este microorganismo. Este trabajo explora la eficacia de esta proteína para el tratamiento de leche contaminada con *S. aureus*. Así, se estudió el efecto del tratamiento con LysRODI a distintos tiempos de incubación y a distintas temperaturas (25°C y 37°C). También se analizó la actividad de este enzima frente a distintas cepas de esta bacteria y distintos niveles de contaminación bacteriana. Los resultados mostraron la posibilidad de utilizar esta proteína para reducir el número de células de *S. aureus* en leche, si bien la eficacia del tratamiento depende de las condiciones ambientales y del grado de contaminación. Por tanto, será importante estudiar en un futuro la posible combinación de LysRODI con otros antimicrobianos para conseguir maximizar la eliminación de *S. aureus*.

Financing: PID2019-105311RB-I00 (MICIU/AEI/FEDER, UE, Spain)

### Caracterización de la diversidad microbiana en productos cárnicos porcinos y superficies de instalaciones con métodos dependientes e independientes de cultivo

Núria Ferrer-Bustins<sup>1</sup>, Belén Martín<sup>1</sup>, Sara Bover-Cid<sup>1</sup>, Anna Jofré<sup>1</sup>

(1) Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias (IRTA), Programa de Funcionalidad y Seguridad Alimentarias, Finca Camps i Armet, s/n, Monells, Espanya

La microbiota de la carne es compleja y tiene su origen en los microorganismos propios del animal y de las superficies del matadero y sala de despique. El objetivo del estudio fue evaluar la diversidad microbiana en carne fresca de cerdo y superficies de diferentes empresas a través de métodos dependientes e independientes de cultivo para identificar y correlacionar poblaciones microbianas. Las muestras fueron analizadas a través de recuento en placa y secuenciación masiva de amplicones del gen 16S rRNA (MiSeq, Illumina). Para cada empresa se recogieron muestras de ocho superficies (sierras, cintas transportadoras, cajas y desagües) y dos tipos de producto (costilla, panceta y lomo), los cuales se muestrearon recién obtenidos (frescos) y a lo largo de su conservación, analizándose un total de 108 muestras. La diversidad microbiana de los productos cárnicos fue específica de cada empresa mostrando diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Los géneros con mayor presencia en todos los productos fueron *Carnobacterium*, *Serratia*, *Lactobacillus* y *Aeromonas*, destacando la presencia de *Hafnia*-*Obesumbacterium* y *Lactococcus* en lomo. En superficies, los géneros más abundantes fueron *Acinetobacter* y *Moraxella*. También se encontró gran abundancia de *Pseudomonas* y *Exiguobacterium* en cajas; *Carnobacterium*, *Serratia*, *Anoxybacillus* y *Lactobacillus* en cintas; *Anoxybacillus* y *Streptococcus* en sierras y *Acinetobacter* y *Pseudomonas* en desagües. El uso de técnicas independientes de cultivo permitió una caracterización más exhaustiva de la microbiota que al recuento en placa y mostró que el factor empresa determina los microorganismos presentes en el producto fresco así como los responsables de su alteración.

Financing: Agradecimientos: Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI)

## Análisis de las poblaciones de bacterias lácticas en quesos de pasta blanda del interior de Portugal

**José David Flores Félix**<sup>1</sup>, Fernando Sánchez-Juanes<sup>2</sup>, Ana R. Nunes<sup>1</sup>, Luis R. Silva<sup>1</sup>, Gilberto Alves<sup>1</sup>

(1) Universidade da Beira Interior, Facultad de Ciencia da Saude, Avd. Infante D. Henriques s/n, Covilhã, Portugal

(2) Universidad de Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Complejo Asistencial Universitario de Salamanca, Plaza Doctores de la Reina s/n, Salamanca, España

Existen múltiples variedades de queso asociadas a diferentes localizaciones geográficas que presentan características influenciadas los procesos tradicionales de elaboración o las características de la leche utilizada. En el centro y oeste de la península Ibérica existe una importante tradición en la realización de queso mediante la utilización de cuajo de *Cynara cardunculus* a partir de leche no pasteurizada como es el queso de la Sierra de la Estrella (Portugal). En el presente estudio se han analizado las poblaciones de bacterias lácticas presente en quesos pertenecientes a la DOP "Queijo da Serra da Estrela" y su capacidad para producir bacteriocinas frente a diferentes patógenos. En este trabajo se han aislado un total de 88 cepas procedentes de 3 quesos de lotes diferentes producidos siguiendo las indicaciones del pliego de la DOP. Las cepas fueron agrupadas e identificadas mediante MALDI-TOF MS y su afiliación fue confirmadas mediante secuenciación del gen *pheS*, mostrando que los aislados pertenecían 8 especies diferentes de los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc*. Se determinó la capacidad para producir bacteriocinas frente a diferentes patógenos, mostrando actividad la mayoría de las cepas frente a *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* o *Serratia marcescens*, así algunas cepas pertenecientes al género *Lactobacillus* como QSE20, QSE62 y QSE82 presentan capacidad de inhibición frente al menos 6 de las 13 especies estudiadas. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de las poblaciones de bacterias lácticas autóctonas en la seguridad alimentaria de los quesos elaborados con leche cruda.

Financing: Este proyecto ha sido financiado por el programa Horizonte 2020-Marie Skłodowska-Curie N° 101003373.

## Selection and characterisation of potential yeast starters from spontaneous fermentation of wholegrain wheat, rye, and oat sourdoughs

Beatriz García-Béjar<sup>1</sup>, Pilar Fernández-Pacheco<sup>1</sup>, Javier Carreño Domínguez<sup>2</sup>, Ana Briones Pérez<sup>1</sup>, María Arévalo-Villena<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla - La Mancha, Departamento Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Facultad Ciencias y Tecnologías Químicas, Edificio Marie Curie, Avenida Camilo José Cela, s/n, Ciudad Real, España

(2) Universidad de Castilla - La Mancha, Instituto Regional de Investigación en Ciencia Aplicada (IRICA), Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas, Edificio Marie Curie, Avenida Camilo José Cela, s/n, Ciudad Real, España

New strategies in cereal-based industry go through the elaboration of modern sourdoughs with better microbial stability and safety as well as nutritional value such as those based on whole grain flours. For that reason, there is an increased interest in the selection of yeast strains for using them as new starters. Based on the above information, the aim of this study was to isolate, identify and characterise diverse yeast strains from wholegrain spontaneous sourdoughs. Three wholegrain sourdoughs (wheat, rye and oat) were fermented for 6 days and sampled every 24 hours. A total of 76 isolates were identified by PCR-RAPD and catalogued in 6 different species by sequencing ITS region. Majoritarian species was *Saccharomyces cerevisiae*, present in all sourdoughs, while other species such as *Pichia fermentans* was only found in one sourdough (oat). Additionally, pH and yeast counts were sampled every 24 hours while fermentation process was in development. For biotechnological characterization, vitality of all strains obtained was calculated by the kinetic parameters study (lag phase ( $\lambda$ ), generation time (G), maximum OD (OD<sub>max</sub>) and the specific growth rate constant ( $\mu_{max}$ )) and fermentation rate was determined thanks to impedance measurements. Furthermore, their ability for using polysaccharides (cellulose, xylose, and  $\beta$ -glucan) presented in the wholegrain flour was assayed. Vitality and fermentation rate results showed that 12 and 5 strains, respectively, had better behaviour than the positive control (baker's yeast) while only the 27% of strains were able to assimilate at least one of the fiber polysaccharides.

Financing: Junta de Comunidades de Castilla - La Mancha y Fondo Social Europeo (EXP: SBPLY/16/180501/000098). Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada.

**Efecto del tipo de cultivo, ecológico o no-ecológico, en el resistoma de *Lactuca sativa***

**Emma Gómez Peral<sup>1</sup>**, Itziar Alkorta Calvo<sup>1</sup>, Mikel Anza<sup>2</sup>, Aitor Anitua<sup>2</sup>, Carlos Garbisu<sup>2</sup>

(1) Universidad del País Vasco, Departamento de Bioquímica y Biología molecular, Facultad de Ciencia y Tecnología, Barrio Sarriena, Leioa, España

(2) NEIKER- Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Departamento de Conservación de Recursos Naturales, Grupo de Ecología Microbiana del Suelo, Parque Científico y Tecnológico de Bizkaia P812, E-48160, Derio, España

Los productos frescos, frutas y verduras, llevan asociada una microbiota natural no patógena para el ser humano, sin embargo, puede contaminarse con bacterias resistentes a antibióticos (ARB) procedentes de fuentes humanas o animales. Por ello, estos productos que se consumen crudos o mínimamente procesados constituyen un riesgo de infección para el ser humano. Las frutas y verduras pueden contaminarse con ARB en cualquier momento del proceso de cultivo, cosecha y procesamiento. Entre las principales causas de dicha contaminación están la contaminación del suelo, el riego con agua contaminada y la fertilización con enmiendas orgánicas. Así, estos productos pueden actuar como vectores o reservorios de ARB y de genes de resistencia a antibióticos (ARG) generalmente localizados en elementos genéticos móviles (MGE). Esta convergencia en productos de consumo crudos representa una amenaza de salud pública, contribuyendo a la diseminación de resistencias a antibióticos y a la aparición de nuevas ARB. Las distintas prácticas agrícolas condicionan la presencia de ARB en los productos hortícolas. En este sentido, la diferencia entre la agricultura ecológica y no-ecológica en cuanto a la naturaleza orgánica e inorgánica de los fertilizantes, es un factor a tener muy en cuenta en relación con la presencia de ARB en los productos resultantes. Así mismo el uso de antibióticos en la agricultura intensiva puede ser otro factor determinante. En este trabajo se estudia la presencia de ARB en lechugas procedentes de cultivos ecológicos y no-ecológicos. Así como su capacidad para transferir dichas resistencias a otras bacterias.

Financing: Proyectos de la UPV/EHU (GIU18/229 y COLAB19/08), del Gobierno Vasco Gobierno Vasco (ELKARTEK 2020 KK-2020/00007)



### Estudio de la actividad antifúngica de la reuterina frente a mohos alterantes de quesos de oveja de pasta prensada

**Emilio José González Navarro**<sup>1</sup>, Nuria Muñoz Tébar<sup>1</sup>, Marta Ávila Arribas<sup>2</sup>, Manuel Carmona Delgado<sup>1</sup>, Ana María Molina Casanova<sup>1</sup>, Teresa María López Díaz<sup>3</sup>, Sonia Garde López-Brea<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Isabel Berruga Fernández<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Sección de Calidad Alimentaria, Instituto de Desarrollo Regional (IDR), Campus universitario s/n, 02071 Albacete, España

(2) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (CSIC-INIA), Tecnología de Alimentos, Crta. de la Coruña, km 7,5, 28040 Madrid, España

(3) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, C/Pedro Cármenes, s/n, Campus de Vegazana, 24007 León, España

En la elaboración y maduración del queso pueden aparecer contaminaciones fúngicas indeseadas que la industria quesera trata de evitar empleando antifúngicos de síntesis como la natamicina, cada vez más rechazados por los consumidores que buscan alimentos más saludables. La reuterina (3-hidroxi propionaldehído, 3-HPA) es un metabolito intermediario producido durante el metabolismo anaeróbico del glicerol a 1,3- propanodiol por algunas cepas de *Limosilactobacillus reuteri*, siendo un potente antimicrobiano frente a microorganismos patógenos y alterantes alimentarios. El objetivo de este trabajo ha sido la evaluación de la actividad in vitro de la reuterina (producida por la cepa *L. reuteri* INIA P572) frente a cepas de mohos alterantes de quesos de oveja de pasta prensada aislados en seis queserías de Castilla-La Mancha y cepas de colección. Las cepas ensayadas (n=15) pertenecían a las especies *Penicillium bifforme*, *P. commune*, *P. crustosum*, *P. roqueforti*, *P. verrucosum*, *Aspergillus jensenii*, *A. puulauensi* y *A. flavus*. Siguiendo el método de referencia de microdilución en caldo M38-A (CLSI) se determinó visual y espectrofotométricamente (450 nm) la concentración mínima inhibitoria (CMI) a las 72 h de incubación a 25°C. Posteriormente se determinó la concentración mínima fungicida (CMF). La CMI de la reuterina osciló entre 1,1 y 8,9 mM para las cepas pertenecientes al género *Penicillium* sp. y fue inferior para las de *Aspergillus* sp. (1,1 y 4,4 mM). Las cepas más resistentes pertenecían a las especies *P. crustosum*, *P. commune* y *P. verrucosum*. En el 46% de las cepas se encontró coincidencia entre la CMI y la CMF.

Financing: Financiación de proyecto RTA2015-00018-C03 (Ministerio de Economía y Competitividad). Nuria Muñoz-Tébar es beneficiaria de un contrato predoctoral UCLM y FSE.

## Adaptación del fermentador de soja *Tetragenococcus* a los quesos azules de los Picos de Europa mediada por transferencia genética horizontal

Ana González-Guerra<sup>1</sup>, Raquel Gutiérrez-Lanza<sup>1</sup>, Ana Belen Florez<sup>2</sup>, Baltasar Mayo<sup>2</sup>, Fernando De la Cruz<sup>1</sup>, Raúl Fernández-López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Cantabria, Microbiología y genómica, Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC), Avda Albert Einstein 22, Santander, Cantabria, España

(2) Universidad de Oviedo, Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Paseo Río Linares, s/n, Villaviciosa, Asturias, España

Los microorganismos utilizados actualmente en la fabricación del queso derivan de especies silvestres que se han adaptado a los requisitos específicos del ambiente lácteo, en un proceso que se viene desarrollando desde que los humanos introdujeron esta tecnología, hace aproximadamente 8.000 años. Comprender esta dinámica es importante, no solo desde el punto de vista biotecnológico, sino porque representa un paradigma del impacto de la transferencia genética horizontal en la adaptación de los microorganismos a desafíos ambientales. En este trabajo mostramos como *Tetragenococcus*, un género ampliamente utilizado en Asia para la fermentación de alimentos como el kimchi o la salsa de soja, se ha adaptado al ambiente lácteo a través de eventos de transferencia genética horizontal. En particular, nuestros resultados muestran como *Tetragenococcus* forma parte de la microbiota característica de los quesos de las DOP Picón de Bejes-Tresviso y Cabrales, donde puede representar hasta un 20% del total del recuento bacteriano. Análisis metagenómicos indicaron que este género no está presente en otros quesos azules, como Roquefort, Bleu d'Auvergne o Stilton, y por tanto representa una adaptación local característica de los quesos de la región de los Picos de Europa. A pesar de esta sorprendentemente limitada distribución geográfica, los análisis genéticos revelaron que al menos tres especies diferentes de *Tetragenococcus* han sido capaces de adaptarse a través de diferentes trayectorias evolutivas. Nuestros resultados indican que especies con capacidades metabólicas similares pueden adaptarse localmente al ambiente lácteo mediante múltiples eventos independientes de transferencia genética horizontal.

Financing: Proyecto de investigación: "Biología de sistemas de la señalización en microorganismos" - PID2019-110216GB-I00/ AEI / 10.13039/50110011033

### Aislamiento y producción de péptidos antimicrobianos a partir de *Paenibacillus amylolyticus*

Laura Mena Ordóñez<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Belén Iglesias Valenzuela<sup>1</sup>, Rubén Pérez Pulido<sup>1</sup>, Javier Rodríguez López<sup>1</sup>, Rosario Lucas López<sup>1</sup>, Antonio Gálvez del Postigo Ruiz<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> José Grande Burgos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Ciencias de la Salud. Área de Microbiología

Los péptidos antimicrobianos son de gran interés para la bioconservación de alimentos, solos o en combinación con otras tecnologías de barrera. Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos de síntesis ribosómica, modificados o no, que inhiben el desarrollo de microorganismos patógenos, productores de toxinas o alterantes de los alimentos. La mayoría de las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas se han estudiado ampliamente en los alimentos. Sin embargo, las bacteriocinas producidas por la cepa *Paenibacillus amylolyticus* están muy poco estudiadas y no todas están caracterizadas. En este trabajo se ha estudiado la actividad antimicrobiana de extractos parcialmente purificados mediante adsorción en fase reversa a partir de una cepa de *Paenibacillus amylolyticus* cultivada en un medio definido. Los extractos mostraron actividad frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas de interés en alimentos como *B. cereus*, *S. aureus*, *Salmonella*, *E. coli* y *L. monocytogenes*. De forma paralela, se ha obtenido la secuencia parcial del genoma de la cepa de *Paenibacillus amylolyticus*, lo que nos permitirá predecir el potencial de esta cepa para producir sustancias con actividad antimicrobiana. Determinar el efecto de la adición de péptidos con actividad antimicrobiana sobre la biodiversidad bacteriana de diferentes modelos alimentarios es fundamental para conocer la actividad y eficacia de estos compuestos y determinar su efecto bactericida, bacteriolítico o bacteriostático. Cabe esperar que los resultados proporcionen información novedosa y nos permitan caracterizar esta proteína de origen natural, además de proporcionarnos información útil para el sector de la industria agroalimentaria en la aplicación de péptidos antimicrobianos como bioconservantes.

Financing: Financiación a cargo del Programa Ramón y Cajal y Ayuda Predoctoral Acción 9 de la UJA.

## Efecto de los tratamientos por altas presiones en la biodiversidad bacteriana de un aliño para ensaladas

**M<sup>a</sup> José Grande Burgos<sup>1</sup>**, Rubén Pérez Pulido<sup>1</sup>, Javier Rodríguez López<sup>1</sup>, Belén Iglesias<sup>1</sup>, Irene Ortega Blázquez<sup>1</sup>, Julia Toledo del Árbol<sup>1</sup>, Antonio Gálvez del Postigo Ruiz<sup>1</sup>, Rosario Lucas López<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Ciencias de la Salud. Área de Microbiología

Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos de síntesis ribosómica, modificados o no, que sirven para inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos, productores de toxinas o alterantes de los alimentos. La mayoría de las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas se han estudiado ampliamente en los alimentos. Sin embargo, las bacteriocinas producidas por la cepa *Paenibacillus amylolyticus* están muy poco estudiadas y no todas están caracterizadas. En este trabajo se ha estudiado la actividad antimicrobiana de extractos parcialmente purificados mediante adsorción en fase reversa a partir de una cepa de *Paenibacillus amylolyticus* cultivada en un medio definido. Los extractos mostraron actividad frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas de interés en alimentos como *B. cereus*, *S. aureus*, *Salmonella*, *E. coli* y *L. monocytogenes*. De forma paralela, se ha obtenido la secuencia parcial del genoma de la cepa de *Paenibacillus amylolyticus*, lo que nos permitirá predecir el potencial de esta cepa para producir sustancias con actividad antimicrobiana. Determinar el efecto de la adición de péptidos con actividad antimicrobiana sobre la biodiversidad bacteriana de diferentes modelos alimentarios es fundamental para conocer la actividad y eficacia de estos compuestos y para determinar su efecto bactericida, bacteriolítico o bacteriostático. Cabe esperar que los resultados proporcionen información novedosa y nos permitan caracterizar esta proteína de origen natural, además de proporcionarnos información útil para el sector de la industria agroalimentaria en la aplicación de péptidos antimicrobianos como bioconservantes.

Financing: Agradecimientos: Proyecto AGL2016-77374-R.

### Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos de brócoli obtenidos con fluidos supercríticos.

**Cristina Hidalgo Rodríguez**<sup>1</sup>, María de los Ángeles Rivas Muñoz<sup>1</sup>, Iris Gudiño Rubio<sup>1</sup>, Emilio Aranda Medina<sup>1</sup>, María de Guía Córdoba Ramos<sup>1</sup>, Rocio Casquete Palencia<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Avda. Adolfo Suárez s/n 06007, Badajoz, España

El brócoli es conocido por su alto valor nutricional, así como los numerosos beneficios para la salud que aporta, derivados de todos sus compuestos nutritivos. Actualmente, el uso de extractos naturales y seguros como agentes antimicrobianos en alimentos es un tema de gran interés. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana y el contenido de compuestos bioactivos de extractos de brócoli obtenidos mediante fluidos supercríticos. Los extractos fueron extraídos mediante el uso de CO<sub>2</sub> utilizando un equipo Helix SFE System Basic Model. Se aplicó un diseño factorial completo con tres puntos centrales; las variables fueron: presión (150-250 bar), temperatura (40-50°C) y tiempo (2-4 horas). Los extractos fueron caracterizados midiendo su contenido de compuestos bioactivos y su capacidad antimicrobiana mediante la capacidad de crecimiento en medio sólido frente a bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* y *L. innocua*) y levaduras (*Zygosaccharomyces bailii*, *Priceomyces carsonii* y *Krejvarinja fluxuum*). Los extractos extraídos con la condición (200 bar, 45°C, 2 horas) mostraron un mayor contenido en compuestos fenólicos totales. Los resultados de la actividad antimicrobiana de los extractos manifestaron actividad frente a todos los microorganismos ensayados. El mayor efecto inhibitorio para las levaduras y bacterias se obtuvieron cuando se usó el extracto obtenido a condiciones de 40°C, 200 bares y 50°C y 150 bar, respectivamente. Según los resultados, podemos decir que la extracción mediante fluidos supercríticos permite obtener extractos seguros y puros con actividad antimicrobiana que pueden ser aplicados en la industria alimentaria.

Financing: Agradecemos a la Junta de Extremadura y Fondos Feder por financiar el Grupo de Investigación GR18165 y el proyecto IB16158.

## Optimización de un método rápido basado en Q-PCR para la detección rápida del virus del mosaico verde (CGMMV) del pepino.

Mercedes Aranda Medina<sup>3</sup>, Alicia Rodríguez Jiménez<sup>1</sup>, **Cristina Hidalgo Rodríguez<sup>1</sup>**, Emilio Aranda Medina<sup>1</sup>, Rocío Velázquez Otero<sup>2</sup>, María de Guía Córdoba Ramos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Avda. Adolfo Suárez s/n. 06007, Badajoz, España.

(2) Universidad de Extremadura, Departamento de Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal, Escuela de Ingenierías Agrarias, Avda. Adolfo Suárez s/n. 06007, Badajoz, España.

(3) Universidad de Extremadura, Departamento de Expresión Gráfica, Escuela de Ingenierías Industriales, Avda. de Elvas s/n. 06006, Badajoz, España

El cultivo del pepino (*Cucumis sativus*) tiene gran importancia debido a su elevado índice de consumo. Con una producción nacional de 775'9 millones de kg, España es una de las grandes productoras europeas. Entre los principales problemas de este cultivo está la presencia del virus del mosaico verde (CGMMV), que produce deformaciones y manchas tanto en la planta como en fruto, ocasionando grandes pérdidas económicas. Su detección temprana es fundamental para evitar su propagación en la plantación y, con ello, salvaguardar la rentabilidad y viabilidad de ésta. La utilización de técnicas moleculares como la PCR en tiempo real (qPCR) permitiría cuantificar de forma rápida y precisa la presencia de virus, a diferencia de las técnicas moleculares convencionales. El objetivo de este trabajo fue poner a punto un método rápido, basado en qPCR, para la detección precoz y rápida del virus CGMMV. Para ello, se diseñó y optimizó un método de qPCR para cuantificar la presencia de virus CGMMV en el pepino. Se desarrolló un protocolo basado en el fluorocromo SYBRGreen, diseñándose cebadores específicos (CGMMV-R y CGMMV-F) a partir de la información disponible. Las condiciones óptimas incluyeron 35 ciclos a 62°C de temperatura de hibridación-extensión. La curva de disociación presentó un valor de 80,60°C. Finalmente, se contrastó el método con otras técnicas existentes. En conclusión, bajo las condiciones descritas y con los cebadores específicos diseñados, se comprobó con una fiabilidad del 100% y una eficiencia del 99%, la detección del virus CGMMV en muestras de sustrato, aguas, hojas, insectos y frutos.



### Estudio de una cepa bacteriana multirresistente procedente de un zumo vegetal

**Rosario Lucas López<sup>1</sup>**, Rubén Pérez Pulido<sup>1</sup>, Javier Rodríguez López<sup>1</sup>, Laura Mena Ordóñez<sup>1</sup>, Belén Iglesias<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> José Grande Burgos<sup>1</sup>, Antonio Gálvez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Jaén, Departamento Ciencias de la Salud, Facultad Ciencias Experimentales, Paraje de las Lagunillas s/n, Jaén, España

Los zumos vegetales crudos pueden actuar como transmisores de microorganismos patógenos o portadores de diferentes resistencias. *Enterobacter cloacae* es un microorganismo ubicuo en la naturaleza que forma parte de la microbiota en humanos, y que puede transmitirse a través de los alimentos. Los tratamientos por alta presión hidrostática figuran entre los métodos no térmicos utilizados en el procesado de alimentos, incluidos los alimentos vegetales. Se estudió la presencia de enterobacterias en un zumo preparado con diferentes vegetales tratados previamente por altas presiones. El zumo se almacenó en refrigeración durante 20 días realizándose recuentos en medios selectivos adicionados de antibióticos. A los 20 días de almacenamiento se detectaron colonias en el medio de cultivo MacConkey agar + cefotaxima a 1mg/l incubado a 37° en anaerobiosis. Las colonias aisladas se identificaron mediante secuenciación del 16S rDNA como *Enterobacter cloacae*. En el ensayo de resistencias a antibióticos se observó resistencia a amoxicilina, cefoxitina, cefotaxima, y eritromicina. Se detectaron los genes de resistencia blaCTX-M y blaSHV. En cuanto a los tratamientos con alta presión, se comprobó la supervivencia de la cepa a diferentes tratamientos por altas presiones consecutivos (450 y 600 MPa, 5 min, 22 y 50 °C), cada 72h, observándose que la cepa después del primer tratamiento conseguía recuperarse, en el caso de los tratamientos a 450 MPa, aunque los recuentos disminuían cinco unidades logarítmicas respecto a las muestras control. En el caso de los tratamientos a 600 MPa no se detectó casi crecimiento en los tres tratamientos consecutivos cada 72h.

Financing: Agradecimientos: Proyecto P18-FR-1530.

## Efecto de los tratamientos por alta presión hidrostática sobre la carga microbiana y la resistencia a antimicrobianos en guacamole

Javier Rodríguez López<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> José Grande Burgos<sup>1</sup>, Rubén Pérez Pulido<sup>1</sup>, Laura Mena Ordóñez<sup>1</sup>, Belén Iglesias<sup>1</sup>, Antonio Gálvez<sup>1</sup>, **Rosario Lucas López<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Jaén, Departamento Ciencias de la Salud, Facultad Ciencias Experimentales, Paraje de las Lagunillas s/n, Jaén, España

La vida útil del guacamole se puede prolongar mediante tratamientos por alta presión hidrostática (APH). En el presente estudio se utilizó salsa de guacamole recién elaborada, sin ningún tratamiento, suministrada por un productor local. Se aplicaron 4 tratamientos por APH diferentes (5 min.): A, 450 MPa a 22 °C; B, 450 MPa a 50 °C; C, 600 MPa a 22 °C; D, 600 MPa a 50 °C. Las muestras control y las tratadas fueron refrigeradas durante 50 días. Los controles mostraron un aumento paulatino en los recuentos de aerobios mesófilos totales y mohos y levaduras hasta el día 40. Los recuentos en agar McConkey fueron más bajos, y decrecieron con el tiempo. Los recuentos en agar McConkey suplementado con cefotaxima o imipenem fueron inferiores, pero se detectaron viables hasta los días 40 y 30, respectivamente. En agar KPC se detectó crecimiento abundante en aerobiosis, pero no en anaerobiosis. En agar suplementado con cloruro de benzalconio solo se detectó un bajo crecimiento, a tiempo 0. Los tratamientos por APH a 50 °C provocaron una mayor reducción de la carga microbiana. En las muestras tratadas por APH no se detectó crecimiento en presencia de antibióticos o de biocida. Los resultados indican que la eficacia de los tratamientos por APH en guacamole se puede incrementar aumentando la temperatura a 50 °C. No obstante, todos los tratamientos estudiados reducen los niveles de Enterobacteriaceae y de bacterias resistentes a carbapenémicos y proporcionan estabilidad frente a la acidificación del producto por BAL.

Financing: Agradecimientos: Proyecto AGL2016-77374-R

### Potencial antimicrobiano del polisacárido FUCOIDAN de algas Phaeophyceae frente a los patógenos gastrointestinales *Escherichia coli* y *Clostridioides difficile*

Sergi Maicas<sup>1</sup>, Héctor Aparisi<sup>1</sup>, Neus Ricós-Muñoz<sup>1</sup>, Maria Consuelo Pina-Pérez<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Microbiología y Ecología, Ciencias Biològicas, Dr. Moliner, 50, Burjassot, Espanya

La búsqueda de compuestos antimicrobianos naturales con aplicaciones clínicas, alimentarias y cosméticas está en auge las últimas décadas. Nos interesan especialmente aquellos extraídos de algas por su aplicabilidad en la lucha contra patógenos humanos, y en concreto el fucoidan, un polisacárido sulfatado presente en algas pardas del género Phaeophyceae. Considerado como un ingrediente nutraceutico de futuro, favorece un balance saludable en la microbiota gastrointestinal. El potencial antimicrobiano del fucoidan (extraído a partir de las algas *Macrocystis pyrifera*, *Undaria pinnatifida* y *Fucus vesiculosus*) se evaluó in vitro frente a los patógenos *Escherichia coli* (CECT 101) y *Clostridioides difficile* (CECT 531 T). En ensayos de crecimiento/inhibición o inactivación se evaluó su capacidad para inhibir la formación de biopelículas (factor de virulencia inherente a ambos patógenos). Tanto la concentración como el origen del fucoidan afectaron su potencial antimicrobiano frente a los patógenos ( $p$ -value < 0.05). El fucoidan procedente de *U. pinnatifida* y *M. pyrifera* mostró capacidad bacteriostática frente a *E. coli*, inhibiendo en 1 ciclo log<sub>10</sub> y 1.75 ciclos log<sub>10</sub> respectivamente, así como el crecimiento in vitro para concentraciones  $\geq 1500$   $\mu\text{g/ml}$ . Frente a *C. difficile* se detectó potencial bactericida para el fucoidan de *U. pinnatifida* (reducción de 2 ciclos log<sub>10</sub>, 12h de exposición, concentración > 2000  $\mu\text{g/mL}$ ). Ambos patógenos mostraron una reducción significativa en la capacidad de formación de biopelículas (fucoidan > 500  $\mu\text{g/mL}$ ). Los resultados de este estudio demuestran la efectividad del fucoidan (reconocido como GRAS en alimentación humana para dosis de 250 mg/día) tanto en clínica como en alimentación.

Financing: Conselleria de Innovación, Universidades, Ciencia y Sociedad Digital (Generalitat Valenciana) GV2020/031

## Nuevas evidencias del efecto específico de una dieta alta en aceite de oliva virgen sobre la microbiota intestinal

Natalia Andújar Tenorio<sup>1</sup>, Antonio Cobo Molinos<sup>2</sup>, Ana María Martínez Rodríguez<sup>3</sup>, Marina Hidalgo Pestaña<sup>1</sup>, Ana Belén Segarra Robles<sup>1</sup>, Isabel Prieto Gómez<sup>1</sup>, Antonio Gálvez del Postigo Ruiz<sup>1</sup>, **Magdalena Martínez Cañamero<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Jaén, Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Experimentales, Paraje de Las Lagunillas s/n 23071, Jaén, España

(2) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus Universitario de Cartuja s/n 18071, Granada, España

(3) Universidad de Jaén, Departamento de Estadística e Investigación Operativa, Facultad de Ciencias Experimentales, Campus de Las Lagunillas s/n 23071, Jaén, España

Es evidente que la dieta condiciona las poblaciones microbianas existentes en el intestino y, particularmente, las dietas altas en grasas despiertan un interés adicional por el gran número de patologías asociadas que producen y en las que ya está claro que la microbiota tiene un papel importante. Para estudiar el efecto de dietas altas en diferentes tipos de grasas sobre la microbiota intestinal, hemos mantenido a tres grupos de ratones sólo con pienso estándar, o enriquecido con mantequilla o aceite de oliva virgen. Tras seis semanas de dieta, los ratones fueron colocados en jaulas metabólicas donde se les midieron diferentes variables fisiológicas (peso, ingesta de alimento y de agua, diuresis y presión arterial) y se estudió la microbiota en heces. Con los resultados hemos llevado a cabo estudios estadísticos para determinar las diferencias entre las dietas y hemos ajustado modelos de regresión lineal múltiple para estudiar las correlaciones con las distintas variables. De las diez familias bacterianas que muestran diferencias significativas por pares, sólo en cuatro encontramos una frecuencia relativa distinta entre dieta estándar y las dos dietas altas en grasa, mientras que en las otras seis las diferencias significativas por pares implican a sólo uno de los grupos altos en grasa o los enfrentan entre ellos. El estudio se enmarca en un proyecto más amplio sobre el efecto del aceite de oliva en la microbiota intestinal por lo que presentaremos una comparativa con los resultados obtenidos previamente y comunicados con anterioridad (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190368> y <https://doi.org/10.3390/microorganisms7020061>), estableciendo posibles planteamientos a futuro.

Financing: Universidad de Jaén; Junta de Andalucía; Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

### Actividad de cuatro proteínas antifúngicas (AFPs) en hongos productores de micotoxinas

**Pedro V. Martínez Culebras**<sup>1,2</sup>, Mónica Gandía Gómez<sup>2</sup>, Alicia Alicia Boronat Muñoz<sup>1</sup>, Jose Francisco Marcos<sup>2</sup>, Paloma Manzanares Mir<sup>2</sup>

(1) Universidad de Valencia, Dpto. Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Toxicología y Medicina Legal, Farmacia, Avda. Vicente Andrés Estellés s/n, Burjassot (Valencia), España

(2) Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC), Biotecnología, C/Catedrático Agustín Escardino Benlloch, 7, Paterna (Valencia), España

Las proteínas antifúngicas (AFPs) obtenidas de hongos filamentosos presentan un gran potencial para el control de los hongos contaminantes. En este estudio, se ha evaluado la actividad antifúngica de cuatro AFPs de *Penicillium digitatum* (PdAfpB) y *Penicillium expansum* (PeAfpA, PeAfpB y PeAfpC) pertenecientes a las clases A, B y C, contra diferentes especies de hongos micotoxigénicos. Se incluyeron un total de 38 cepas que representan 32 especies pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Byssochlamys*, *Fusarium* y *Penicillium*. PeAfpA mostró una actividad antifúngica muy fuerte, ya que fue capaz de inhibir por completo el crecimiento de todos los hongos evaluados en un rango de concentraciones que van desde 0,5 a 16 µg/mL. PdAfpB y PeAfpB, aunque menos eficaces que PeAfpA, mostraron una actividad significativa contra la mayoría de los hongos micotoxigénicos probados. Es importante destacar que PeAfpC, anteriormente descrito como inactivo, mostró una gran inhibición contra las cepas de la especie *Byssochlamys spectabilis*. Este hongo causa problemas importantes en alimentos pasteurizados, en particular en zumos, y es un productor de patulina. Aunque menos efectivas que en medio líquido, las AFP afectaron el crecimiento de los hongos en medio sólido. Este estudio también discute el potencial de las AFPs, en particular PeAfpA, como futuros compuestos antifúngicos de aplicación agricultura, post-cosecha y alimentación.

## Uso de envases de atmósferas modificadas para prolongar la vida útil de la fruta

**Ana Martínez Dorado<sup>1</sup>**, Iris Gudiño<sup>1</sup>, Alejandro Hernández<sup>1</sup>, Rocío Casquete<sup>1</sup>, María de Guía Córdoba<sup>1</sup>

(1) Instituto Universitario de Investigación en Recursos Agrarios (INURA), Universidad de Extremadura, 06007, Nutrición y Bromatología, Escuela de Ingenierías Agrarias, Av. de Adolfo Suárez, s/n, Badajoz, España

El manejo poscosecha de la fruta se ve limitado por su rápida maduración y alta susceptibilidad a la descomposición debido a cambios inducidos por su actividad metabólica y enzimática, además de la proliferación de microorganismos. Por tanto, es necesario emplear técnicas de poscosecha que permitan la extensión de la vida útil en la fruta, como el uso de envasado en atmósfera modificada, en combinación con la temperatura de almacenamiento a niveles de refrigeración. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de atmósferas modificadas pasivas mediante el sistema Perfotec en la estabilidad de la fruta paraguayo y peras almacenadas en frío. Se utilizó el equipo Perfotec el cual realiza microperforaciones en función de la respiración de la fruta. A la fruta envasada se determinó la calidad microbiológica y parámetros físicos-químicos (pH, sólidos solubles, acidez titulable, textura y color) durante 28 días almacenadas a 1 °C. El envasado en atmósferas modificadas mostró un descenso en los recuentos de mohos y bacterias aerobias mesófilas a lo largo de los días de almacenamiento en refrigeración. Así mismo, se observó un descenso en el porcentaje de pérdida de peso, en la evolución de los sólidos solubles, de la acidez, lo que permitió retrasar la pérdida de firmeza de la fruta estudiada, manteniendo su color. Se puede concluir que el uso de atmósferas modificadas pasivas permite aumentar la vida útil de la fruta paraguayo y pera, minimizando pérdida y retraso en los trastornos poscosecha que se deben principalmente a la proliferación de mohos.

Financing: Junta de Extremadura y Fondos Feder



### Calidad y seguridad microbiológica de la carne de pato en puntos de venta

**Alba Martínez Laorden<sup>1</sup>**, Jéssica da Silva Guedes<sup>1</sup>, Sara Blanco González<sup>1</sup>, Elena González Fandos<sup>1</sup>  
(1) Universidad de La Rioja, Agricultura y Alimentación, Ciencia y Tecnología, Madre de Dios 53, 26006, Logroño, España

En los últimos años se ha producido un incremento en la producción y consumo de la carne de pato a nivel mundial. Esta carne se caracteriza por su alto valor nutricional y características sensoriales. A pesar del crecimiento existen pocos estudios sobre calidad y seguridad microbiológica de este tipo de carne. El objetivo de este trabajo fue determinar el perfil microbiológico de carne de pato. Durante el año 2020 fueron recolectadas 31 muestras de pato, en puntos de venta de La Rioja. Se analizaron los siguientes grupos microbianos: flora aerobia mesófila, *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y enterobacterias. También se evaluó la presencia y recuento de *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter* spp. Posteriormente se procedió al aislamiento e identificación. La presencia de *Listeria* spp. se detectó en el 41,94% de las muestras, pero no se encontró presencia de *L. monocytogenes* en ninguna de las mismas. Solo se observaron recuentos de *Listeria* spp. superiores a 2 log ufc/g en dos de los casos. En el 22,58% de las muestras se detectó *Campylobacter* spp, siendo los recuentos siempre inferiores a 1 log ufc/g. Los recuentos medios de flora aerobia mesófila y *Pseudomonas* spp. fueron  $4,72 \pm 1,14$  y  $3,14 \pm 0,87$  log ufc/g, respectivamente. Los recuentos de *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y enterobacterias oscilaron entre 1,30 y 3,66 log ufc/g; 1,30 y 2,45 log ufc/g; y 1,30 y 3,79 log ufc/g, respectivamente. La detección de *Listeria* spp. y *Campylobacter* spp. en las muestras analizadas sugieren la necesidad de adoptar medidas para su control.

Financing: Proyecto POCTEFA, TESTACOS. Contrato predoctoral Universidad de La Rioja. Ayuda ATUR 2020 Universidad de La Rioja.

## Prevalencia y potencial patogénico de especies de *Aliarcobacter* aisladas en Vitoria-Gasteiz a partir de diferentes alimentos destinados al consumo humano

**Irati Martínez Malax-etxebarria**<sup>1</sup>, Cecilia Girbau Iturralde<sup>1</sup>, Adrián Salazar-Sánchez<sup>1</sup>, Itsaso Baztarrika Uria<sup>1</sup>, Rodrigo Alonso Monsalve<sup>1</sup>, Aurora Fernández-Astorga<sup>1</sup>

(1) Universidad del País Vasco UPV/EHU, Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Paseo de la Universida nº7, Vitoria-Gasteiz, España

Las especies de *Aliarcobacter* (anteriormente *Arcobacter*) se aíslan con frecuencia de aguas superficiales, mariscos y alimentos. Varias de ellas se asocian a enteritis humana, considerándose el consumo de alimentos contaminados y agua no tratada su principal vía de transmisión. El objetivo de este trabajo fue examinar la prevalencia de *Aliarcobacter* spp. en muestras de alimentos incluyendo productos del mar, carnes, verduras y quesos frescos adquiridos en mercados y grandes superficies de Vitoria-Gasteiz, y caracterizar genéticamente mediante MLST y detección de genes de virulencia los aislamientos obtenidos. Se aislaron *aliarcobacterias* en el 22,3% de las 220 muestras analizadas, incluyendo todos los tipos de alimento. Los productos marinos presentaron un porcentaje de aislamientos (43,3%) significativamente ( $p < 0,05$ ) superior al del resto. La distribución de las especies detectadas (*A. butzleri*, *A. criaerophylus*, *A. skirrowii*, *A. thereius* y *A. vitoriensis*) varió significativamente ( $p = 0,000$ ) en función del alimento. *A. butzleri* prevaleció en todos los alimentos excepto en los productos del mar, para los que se observó asociación significativa ( $p = 0,000$ ) con *A. criaerophylus*. Se detectaron genes de virulencia en todos los aislamientos, pero ninguno resultó positivo para la totalidad de genes ensayados (*cadF*, *cj1349*, *ciaB*, *mviN*, *pldA*, *tlyA*, *irgA*, *hecA*, *hecB* and *iroE*). *A. butzleri* fue la especie con mayor tasa de detección. Mediante MLST se obtuvieron 68 ST diferentes, de los que el 89,7% resultaron ser nuevos. Para el ST 517, se observó asociación ( $p = 0,000$ ) con los aislamientos derivados de productos del mar. Curiosamente, todos los aislamientos ST 517 presentaron los mismos genes de virulencia.

Financing: El trabajo deriva de los proyectos AGL2014-56179-P y PPG17/27, financiados respectivamente por MINECO (Gobierno de España) y UPV/EHU.

## Efecto de enterocinas a y b en la supervivencia y expresión génica de *Listeria Monocytogenes* en jamón curado loncheado

Raquel Montiel Moreno<sup>1</sup>, Aida Pérez-Baltar<sup>1</sup>, Margarita Medina<sup>1</sup>

(1) INIA-CSIC, Tecnología de Alimentos, Ctra. A Coruña Km. 7, Madrid, España

El jamón curado loncheado es un producto cárnico RTE (ready-to-eat) que puede contaminarse con *Listeria monocytogenes* durante su preparación industrial, fundamentalmente durante el deshuesado, loncheado y envasado. Las enterocinas son bacteriocinas con actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram-positivas como *L. monocytogenes*, pero se desconoce su influencia sobre la fisiología del patógeno. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un extracto de enterocinas A y B en la supervivencia de *L. monocytogenes* y la expresión de cinco genes de virulencia relacionados con la invasión/adhesión (*inlA*, *inlB*, *clpC*, *fbpA* y *prfA*) en jamón curado loncheado conservado a 4 y 20 °C durante 30 d. Las cepas de *L. monocytogenes* S7-2 (serotipo 4b) y S2 (serotipo 1/2a) exhibieron una resistencia moderada a las enterocinas A y B inmediatamente después de su aplicación en jamón curado, con un mayor efecto antimicrobiano al final del almacenamiento. Los resultados de la RT-qPCR revelaron un aumento de la expresión génica en la cepa S7-2 tras la adición de las enterocinas. Esta sobreexpresión inicial se atenuó durante el almacenamiento, y a los 30 d, los genes de invasión/adhesión fueron reprimidos, especialmente a 20 °C. Asimismo, se observó una inducción positiva de la expresión en la cepa S2 a los 1 y 7 d a 4 y 20 °C, que se redujo al final del almacenamiento. La expresión génica resultó afectada por las enterocinas pero las células supervivientes de *L. monocytogenes* no resultaron potencialmente más virulentas.

Financing: Proyecto RTA2017-00027-C03-01

## Efecto de diferentes levaduras frente al crecimiento y desarrollo de *Geotrichum candidum* en ensayos *in vitro* e *in vivo*.

**Carlos Moraga Lozano**<sup>1,2</sup>, Sonia Ruiz Altamirano<sup>1,2</sup>, Santiago Ruiz-Moyano<sup>1,2</sup>, Manuel J. Serradilla<sup>3</sup>, Paula Tejero<sup>1,2</sup>, María de Guía Córdoba<sup>1,2</sup>, Alejandro Hernández<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Avenida Adolfo Suárez, s/n, Badajoz, España

(2) Instituto Universitario de Recursos Agrarios (INURA), Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Avenida de la Investigación, s/n, Badajoz, España

(3) Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX), Área de Vegetales, Avenida Adolfo Suárez, s/n, Badajoz, España

Existen hongos patógenos como son *Geotrichum candidum*, *Geotrichum capitatum* y *Geotrichum citri-aurantii* que suponen un problema cada vez mayor para la industria frutícola, ya que son los causantes de la podredumbre ácida en diversas frutas. Para combatir esta enfermedad, los productos químicos son los métodos más utilizados, los cuales son un problema debido a la toxicidad que generan tanto en los seres humanos como en el medio ambiente, y al número creciente de resistencias detectadas. Por estas y otras razones, el uso de productos naturales y ecológicos aumenta cada vez más. En este estudio se evaluó la capacidad de distintas levaduras aisladas de medios frutícolas, de hojas y de fruta, para controlar el crecimiento de tres cepas de *Geotrichum candidum*. Para ello se realizaron varios ensayos *in vitro*, como la confrontación directa, la producción de compuestos volátiles y la captación de nutrientes. Finalmente, con las levaduras que mejores resultados obtuvieron en los ensayos *in vitro*, se realizaron ensayos *in vivo* en ciruelas del cultivar Black Lady. Los resultados mostraron que las levaduras producían una inhibición moderada en la confrontación directa, algunas basaron su acción en el secuestro del hierro y tuvieron una capacidad moderada de producir compuestos volátiles contra *Geotrichum candidum*. En el ensayo *in vitro*, se observó que la levadura L44 (*Metschnikowia pulcherrima*) con capacidad para secuestrar el hierro y la levadura L153 (*Aureobasidium pullulans*) cuyo mecanismo de acción es fundamentalmente la competencia por el espacio fueron capaces de controlar el desarrollo de *G. candidum* en ciruelas.

Financing: RTI2018-096882-B100 (MCI/AEI/FEDER/UE) Junta de Extremadura y FEDER (GR18165)

### Identificación molecular de mohos filamentosos aislados en quesos puros de oveja de Castilla-La Mancha

**Nuria Muñoz Tébar**<sup>1</sup>, Emilio José González Navarro<sup>1</sup>, Jesús A. Santos<sup>2</sup>, Manuel Carmona Delgado<sup>1</sup>, Ana María Molina Casanova<sup>1</sup>, Teresa María López Díaz<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Isabel Berruga Fernández<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Sección de Calidad Alimentaria, Instituto de Desarrollo Regional (IDR), Campus universitario s/n, 02071 Albacete, España

(2) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, C/Pedro Cármenes, s/n, Campus de Vegazana, 24007 León, España

Los mohos son uno de los principales grupos de microorganismos alterantes del queso y algunas cepas pueden producir micotoxinas. Así, su control es una de las principales preocupaciones de la industria alimentaria, ya que pueden producir importantes pérdidas económicas y suponer riesgos de seguridad alimentaria. Este trabajo trató de identificar mohos obtenidos de la superficie de quesos semicurados de oveja pertenecientes a 6 queserías situadas en Castilla-La Mancha. Del total de muestras recogidas, 16 cepas fueron cultivadas exitosamente bajo condiciones de laboratorio e identificadas a nivel de especie mediante técnicas de identificación molecular por secuenciación del gen de la  $\beta$ -tubulina. Los mohos identificados pertenecían a los géneros *Penicillium* ssp. (87,5%) y *Aspergillus* ssp. (12,5%). Se identificaron cuatro especies diferentes (*P. biforme*/*P. commune* -7-, *P. crustosum* -7-, *A. puulaauensis* -1- y *A. jensenii* -1-). Además, se evaluó la producción de 3 tipos de micotoxinas (ocratoxina, ácido ciclopiazónico y patulina) observándose que todas las cepas *P. commune* eran productoras de ácido ciclopiazónico, propiedad de utilidad taxonómica ya que esta especie es productora de dicho extrolito, mientras que el resto no producían ninguna de las micotoxinas testadas, en concordancia con su identificación. Tanto *P. commune*/*biforme*, como *P. crustosum* son especies halladas comúnmente en quesos, especialmente la primera de ellas. *A. puulaauensis* y *A. jensenii* no han sido encontradas previamente en quesos de oveja de pasta prensada, por lo que la identificación de estos mohos ayudará a la industria láctea en el diseño de mejores estrategias de control frente a microorganismos alterantes.

Financing: Financiación de proyecto RTA2015-00018-C03 (Ministerio de Economía y Competitividad). Nuria Muñoz-Tébar es beneficiaria de un contrato predoctoral UCLM y FSE.

## Actividad antifúngica de aceites esenciales de orégano, ajedrea y estragón contra mohos aislados de quesos puros de oveja

Nuria Muñoz Tébar<sup>1</sup>, Emilio José González Navarro<sup>1</sup>, Manuel Carmona Delgado<sup>1</sup>, Ana María Molina Casanova<sup>1</sup>, Teresa María López Díaz<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Isabel Berruga Fernández<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Sección de Calidad Alimentaria, Instituto de Desarrollo Regional (IDR), Campus universitario s/n, 02071 Albacete, España

(2) Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, C/Pedro Cármenes, s/n, Campus de Vegazana, 24007 León, España

Los aceites esenciales (AE) de plantas aromáticas son una buena alternativa a los conservantes sintéticos, ya que poseen propiedades antifúngicas y son considerados como GRAS por la FDA. El objetivo de este trabajo fue el de evaluar la actividad de tres AE frente a mohos alterantes aislados de quesos de oveja en queserías de Castilla-La Mancha. Los AE de orégano (*Origanum vulgare*), ajedrea (*Satureja montana*) y estragón (*Artemisia dracunculus*) se extrajeron por hidrodestilación. La actividad antifúngica se evaluó frente a cepas de las especies *Penicillium commune*/biforme, *P. crustosum*, *Aspergillus jensenii* y *A. puulaauensis* aislados de quesos puros de oveja en queserías de Castilla-La Mancha. La actividad antifúngica se determinó, en términos de porcentaje de inhibición con respecto al control, mediante el método de difusión en agar. Además, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) utilizando el método de microdilución M38-A2 (CLSI) y posteriormente se evaluó la concentración mínima fungicida (CMF) sembrando los pocillos sin crecimiento en agar PDA. Para el conjunto de mohos estudiados, los AE de orégano y ajedrea mostraron porcentajes de inhibición más altos (entre un 33-47 y 37-57 %, respectivamente) que los obtenidos con estragón (29-36 %). Asimismo, los valores más bajos de CMI y CMF demostraron la elevada actividad fungistática y fungicida de los AE de ajedrea y orégano, en comparación con el estragón. Este trabajo sugiere que estos AE tienen un gran potencial en el control de mohos alterantes de queso, pudiendo ser una alternativa adecuada a los antifúngicos de origen sintético.

Financing: Financiación de proyecto RTA2015-00018-C03 (Ministerio de Economía y Competitividad). Nuria Muñoz-Tébar es beneficiaria de un contrato predoctoral UCLM y FSE.



### **Actividad antimicrobiana e inhibidora de la formación de biopelículas de procianidinas de origen vegetal frente a patógenos alimentarios: relaciones estructura-actividad.**

**Elena Ortega Morente**<sup>1</sup>, Antonio Cobo Molinos<sup>2</sup>, Antonio Gálvez del Postigo Ruiz<sup>1</sup>, Alfonso Alejo Armijo<sup>3</sup>, Joaquín Altarejos Caballero<sup>3</sup>, Sofía Salido Ruiz<sup>3</sup>

(1) Universidad de Jaén, Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Experimentales, Paraje Las Lagunillas S/N, Jaén, España

(2) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Granada, España

(3) Universidad de Jaén, Departamento de Química Inorgánica y Orgánica, Facultad de Ciencias Experimentales, Paraje Las Lagunillas S/N, Jaén, España

El grupo de investigación Compuestos de Interés Biológico ha aislado a partir de madera de laurel el polifenol cinamtanina B-1, una procianidina similar a las descritas en el arándano rojo, por lo que cabía esperar un posible potencial en la reducción de la formación de biopelículas por parte de diversos microorganismos. Sobre estas premisas, se estudiaron las actividades antimicrobianas e inhibidoras de la formación de biopelículas de este compuesto y de la procianidina B-2, frente a una selección de patógenos alimentarios. Los dos compuestos muestran ambas actividades biológicas: capacidad antimicrobiana a concentraciones elevadas y prevención de la formación de biopelículas a bajas concentraciones, encontrándose mejores resultados para la cinamtanina B1, especialmente sobre tres cepas de *Staphylococcus aureus*. Para profundizar en el conocimiento de los aspectos estructurales que pueden influir en las actividades biológicas de estas procianidinas, se diseñaron a continuación un conjunto de análogos a la procianidina A-2, una versión estructural simplificada de la cinamtanina B-1, y evaluamos estas actividades frente a una selección de bacterias resistentes, previamente aisladas por el grupo de investigación Microbiología de los Alimentos y del Medio Ambiente a partir de alimentos ecológicos. De estos estudios se deduce que el análogo que contiene un grupo electrón-atrayente en el anillo A presenta las mejores actividades biológicas, por lo que puede constituir la base de estudios posteriores para profundizar sobre estas relaciones estructura-actividad ya descritas, así como para su aplicación como conservante natural o como potenciador de la acción de biocidas en el ámbito alimentario

## Evaluación de un producto basado en fagos como biocida según las normas europeas EN1656, EN16437 y EN14349.

**Jennifer Otero**<sup>1</sup>, Susana Campoy<sup>1</sup>, Pilar Cortés<sup>1</sup>, Montserrat Llagostera<sup>1</sup>

(1) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Genètica i de Microbiologia, Facultat de Biociències, Edifici C, Campus de la UAB, Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), España

En el marco del proyecto europeo Phagovet, se está desarrollando un producto biocida compuesto por un cóctel de cuatro bacteriófagos de Salmonella que promete ser una solución rentable y eficaz para combatir la salmonelosis en el sector avícola. Para el uso del producto Phagovet en producción animal, se determinó su actividad bactericida contra Salmonella según la norma EN14885 para productos antisépticos y desinfectantes. Para ello se siguieron las normativas para productos químicos en suspensiones líquidas (EN1656), superficies no porosas (EN14349) y superficies porosas (EN16437). Sin embargo, debido a que dichas normativas están desarrolladas para productos químicos, fue necesario modificar algunos parámetros como temperatura y neutralización para poder evaluar bacteriófagos. A una concentración de  $1 \times 10^9$  PFU/ml se obtuvo una reducción de  $4,3 \pm 0,1$  y  $4,5 \pm 0,4 \log_{10}$  CFU/ml de *S. Typhimurium* en condiciones simuladas de baja y alta suciedad, respectivamente, en suspensión líquida. En superficies no porosas y con una concentración de  $1 \times 10^{11}$  PFU/ml, se obtuvo una reducción de  $3,6 \pm 0,1$  y  $4,1 \pm 0,4 \log_{10}$  CFU/ml en condiciones de baja y alta suciedad, respectivamente. En cambio, en superficies porosas la reducción fue algo menor. En conclusión, a pesar de las dificultades inherentes a evaluar un producto biológico con una normativa diseñada para compuestos químicos, el producto Phagovet muestra una muy buena eficacia como agente biocida contra Salmonella en medio líquido y también en superficies de alta y baja suciedad, especialmente si la superficie no es porosa.

Financing: Programa H2020 FAST TRACK TO INNOVATION (H2020-EIC-FTI-2018-2020 ) con el número de referencia No: 820523.

### Caracterización microbiológica de masas madre panaderas artesanas de la provincia de Sevilla

**Alejandro Parejo Cubillana**<sup>1</sup>, Gonzalo García-Vellido Almellones<sup>1</sup>, Manuel Garrido Romero<sup>2</sup>, Juan Quintero Blanco<sup>1</sup>, Juan Jiménez Martínez<sup>1</sup>, Andrés Garzón Villar<sup>1</sup>, Belén Floriano Pardo<sup>2</sup>

(1) Universidad Pablo de Olavide, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica / Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Ctra. de Utrera Km1, Sevilla, España

(2) Universidad Pablo de Olavide, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Ctra. de Utrera Km1, Sevilla, España

En los últimos años ha aumentado la tendencia a buscar un pan de mayor calidad, como el que se produce utilizando masa madre, a la vez que las empresas panaderas, especialmente las artesanas, han ido adquiriendo un creciente interés en otorgar a sus productos una denominación y características propias que les permita distinguirlos del resto. La identificación y la caracterización de la microbiota que forma parte de las masas madre panaderas artesanas podría ayudar a mejorar nuestro conocimiento de dichos nichos ecológicos y a desarrollar protocolos de intervención biotecnológica con microorganismos que se encuentren presentes en ellas. Aunque este interés ha ido aumentando en Europa, en España aún hay poca información acerca de la complejidad ecológica y microbiológica presente en estos productos. En este estudio se ha llevado a cabo una comparación de dos masas madre procedentes de dos panaderías artesanas de la provincia de Sevilla. Una de ellas es una masa madre líquida que se mantiene en un fermentador industrial en unas condiciones más controladas, mientras que la otra es una masa madre sólida que se mantiene de una forma más tradicional. Se han analizado las levaduras, las bacterias lácticas y las bacterias acéticas presentes en estas dos masas madre. Como resultado se han encontrado diferentes poblaciones microbianas que podrían ser las responsables de otorgar a los productos finales de cada panadería características organolépticas diferentes. En la presente comunicación se describe la composición microbiológica de las dos muestras y se discute su posible relación con las condiciones de conservación.

Financing: Este proyecto ha sido realizado gracias a una ayuda del Plan Propio de Investigación de la Universidad Pablo de Olavide.

## Las prácticas agrícolas no influyen en la presencia de hongos productores de micotoxinas en uvas

Jéssica Gil-Serna<sup>1</sup>, Alba Sáez-Matia<sup>1</sup>, Emilio Jiménez-Torcate<sup>1</sup>, Covadonga Vázquez<sup>1</sup>, **Belén Patiño Álvarez<sup>1</sup>**

(1) Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, Ciencias Biológicas, José Antonio Novais, 12, MADRID, España

La presencia de micotoxinas en uvas y sus productos derivados ha sido ampliamente estudiada en España, destacando la ocratoxina A como la micotoxina más relevante y *Aspergillus carbonarius* como su principal productor. Sin embargo, siendo España el primer productor mundial de vino ecológico, hasta el momento no se había analizado el efecto de las prácticas agrícolas sobre la presencia de micotoxinas en este producto. En este trabajo se ha realizado un estudio metagenómico para conocer la diversidad fúngica en uvas cultivadas en viñedos de manejo ecológico y convencional en España. Los resultados indican que no hay diferencias ni en la diversidad ni la abundancia de especies fúngicas en las muestras, independientemente del manejo del viñedo. La presencia de hongos productores de micotoxinas tampoco es diferente en uvas ecológicas o convencionales por lo que el manejo del cultivo no parece ser un factor determinante en la posible contaminación por estas toxinas. En general, hay que destacar que *A. carbonarius* no se detectó en ninguna de las muestras analizadas mientras que sí se observó la presencia de especies del agregado *Aspergillus niger* que podrían producir tanto OTA como fumonisina B2. Las especies de la sección *Flavi* potenciales productoras de aflatoxinas estuvieron presentes en prácticamente todas las muestras lo que reafirma el hecho de que estas especies están ampliando su distribución a matrices donde antes no se desarrollaban.

Financing: Trabajo financiado por la Cátedra AgroBank-UdL y el Ministerio de Ciencia e Innovación (RTI 2018-097593-B-C21)

### Extractos vegetales como promotores de la actividad antioxidante de microorganismos de origen intestinal

Eva Rodríguez Minguez<sup>1</sup>, María Vázquez Toscano<sup>1</sup>, **Antonia María Picón Gálvez<sup>1</sup>**

(1) INIA (CSIC), Dpto. Tecnología de Alimentos, Carretera de La Coruña Km 7, 20040 Madrid, España

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de extractos vegetales ricos en polifenoles sobre la actividad antioxidante de 6 cepas de bacterias intestinales de origen humano de diferentes especies de los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. Las cepas seleccionadas pertenecen a la colección de microorganismos del INIA, y son resistentes in vitro al paso simulado por el tracto gastrointestinal. Se utilizaron extractos vegetales de alcachofa y berenjena por ser ricos en polifenoles y poseer un potencial efecto anticolesterolémico. La actividad antioxidante se determinó por el método de Gil-Rodríguez et al. (2015). Se prepararon suspensiones celulares con una absorbancia a 600 nm (A600) de 1,2 a partir de cultivos crecidos en medios suplementados con un 40 % de cada extracto vegetal incubados en anaerobiosis a 37 °C durante 24 h, y se mezclaron con una solución 0,2 mM de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). En el medio control, los porcentajes de reducción de DPPH variaron entre el 29,4 y el 63,5 %. La presencia de los extractos vegetales en el medio de cultivo se tradujo en un incremento significativo ( $P < 0,05$ ) de la actividad antioxidante de las cepas, con valores comprendidos entre el 78,2 y 85,1 % para el extracto de alcachofa, y entre el 47,3 y el 81,8 % para el de berenjena. Además, ambos extractos vegetales estimularon significativamente ( $P < 0,05$ ) el crecimiento de las cepas, lo que se tradujo en un aumento de la A600 y una disminución del pH de los cultivos.

Financing: Proyecto RTI2018-099271-R-I00

## Microbiota de algas frescas comestibles tratadas por altas presiones y almacenadas en refrigeración

Ana del Olmo Sánchez<sup>1</sup>, **Antonia María Picón Gálvez**<sup>1</sup>, Manuel Nuñez Gutiérrez<sup>1</sup>

(1) INIA (CSIC), Tecnología de Alimentos, Carretera de La Coruña Km 7, Madrid, España

Las algas frescas son una buena fuente de ingredientes funcionales, compuestos bioactivos, fibra, vitaminas, aminoácidos y minerales, y constituyen un recurso sostenible. Sin embargo, debido a su riqueza en nutrientes y su alto contenido en agua, las algas son alimentos muy perecederos. La aplicación de tratamientos de altas presiones ha permitido prolongar su vida útil, pero no existe información sobre el efecto de las altas presiones sobre la microbiota de las algas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la diversidad bacteriana de seis especies de algas frescas comerciales (las algas verdes *Codium fragile* y *Ulva lactuca*, las algas marrones *Himanthalia elongata*, *Laminaria ochroleuca* y *Undaria pinnatifida* y el alga roja *Chondrus crispus*) antes y después de aplicar tratamientos de altas presiones (400 o 600 MPa durante 5 minutos), y al final de su vida útil en refrigeración. Se observó una gran diversidad microbiana en las algas no tratadas (control). Los 523 aislados de las algas control pertenecían a 18 órdenes, 35 familias, 71 géneros y 135 especies mientras que los 506 aislados de las algas tratadas por altas presiones pertenecían a 13 órdenes, 23 familias, 43 géneros y 103 especies. El tratamiento por altas presiones redujo significativamente el número de aislados pertenecientes a 6 familias y favoreció la abundancia relativa de aislados de la familia Bacillaceae, disminuyendo considerablemente la diversidad. El almacenamiento en refrigeración también provocó una disminución de la diversidad a nivel de género y especie, tanto en las algas control como en las tratadas por altas presiones.

Financing: Proyectos AGL 2013-42911-R y RTI2018-099271-R-I00



### Potencial prebiótico y nutraceútico de la Spirulina tras el procesado mediante la tecnología de Plasma Frío Atmosférico

**MARIA CONSUELO PINA PÉREZ<sup>1</sup>**, Ella Karina López Suárez<sup>1</sup>, Michael Beyrer<sup>2</sup>, Sergi Maicas<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Microbiologia y Ecología, Ciencias Biológicas, c/Dr. Moliner, 50, Burjassot, España

(2) HES.SO VALAIS-WALLIS, Food Engineering Laboratory, Institute of Life Technologies, Rue de l'Industrie 19, 1950 Sion, SION, SUIZA

La Spirulina es considerada hoy en día como uno de los super alimentos de mayor interés por su valor funcional y aplicabilidad en alimentación y clínica. Sin embargo, la persistencia de formas bacterianas esporuladas en ingredientes en polvo puede comprometer la seguridad final del producto. El presente estudio pretende evaluar el potencial prebiótico (frente a *Lactobacillus reuteri* y *Lactobacillus rhamnosus* GG) y nutraceútico de la Spirulina tras el procesado mediante la tecnología del Plasma Frío (Cold atmospheric plasma, CAP) (1.1-3.3 W, 5 min). Para ello, se realizó un seguimiento in vitro de exposición a Spirulina tratada y sin tratar (1000 µg/mL en medio Man Rogosa Sharpe Broth, MRSB; 48 h; 30 °C, en condiciones de anaerobiosis), evaluando los siguientes parámetros: (i) cinéticas de crecimiento microbiano; (ii) pH; (iii) perfil metabolómico; y (iv) actividad antioxidante. La Spirulina tratada por CAP, a potencias > 1.7W incrementó significativamente el crecimiento de *L. reuteri* y *L. rhamnosus* GG (2 ciclos log<sub>10</sub>) respecto al crecimiento observado en medio suplementado con Spirulina control, posiblemente debido a la rotura de membranas celulares (e hidrólisis de compuestos polisacáridos) inducida bajo tratamiento. Se observó además: una actividad antioxidante incrementada; reducido pH; y perfil metabolómico (aminoácidos y ácidos grasos de cadena corta SFCA) mejorado en la fermentación de muestras de Spirulina tratadas. Estos resultados validan la utilización efectiva de la tecnología CAP, no solo desde un punto de vista de seguridad microbiológica, sino en la mejora nutricional del producto tratado (carácter prebiótico y funcional).

Financing: Conselleria de Innovación, Universidades, Ciencia y Sociedad Digital (GVA) - Referencia. GV2020/031 Ayudas a grupos I+D+I emergentes. H2020-MSCA-IF EU: 748314

## Efecto de bencenoides e isoprenoides producidos por *Hanseniospora vineae* en el crecimiento y fermentación de levaduras *Saccharomyces*

Iván Puerta García<sup>1</sup>, Ricardo Sánchez Cármenes<sup>1</sup>, Eduardo Boido<sup>2</sup>, Eduardo Dellacassa<sup>3</sup>, Francisco Carrau<sup>2,4</sup>, María José Valera Martínez<sup>2</sup>

(1) Universidad de Oviedo, Departamento de Bioquímica y Biología molecular, Facultad de Biología, C/ Catedrático Valentín Andrés s/n, Oviedo, España.

(2) Universidad de la República, Área de Enología y Biotecnología de las Fermentaciones, Facultad de Química, Av. General Flores 2124, Montevideo, Uruguay.

(3) Universidad de la República, Departamento de Química Orgánica (Laboratorio de Biotecnología de Aromas), Facultad de Química, Av. General Flores 2124, Montevideo, Uruguay.

(4) Universidad de la República, Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, Av. General Flores 2125, Montevideo, Uruguay

Con la industrialización en la producción del vino, se ha desarrollado una tendencia al uso de la levadura con mayor eficiencia fermentativa: *Saccharomyces cerevisiae*, provocando la estandarización de los vinos resultantes, disminuyendo la complejidad organoléptica de los productos a la vez que ignorando la diversidad potencial de las levaduras autóctonas. Sin embargo, las levaduras no-*Saccharomyces*, tradicionalmente relacionadas con características indeseadas, se han puesto en valor debido a su capacidad de aportar mayor complejidad al aroma final de los vinos. *Hanseniaspora vineae* es una levadura vínica capaz de sintetizar compuestos aromáticos como bencenoides e isoprenoides, con potencial efecto en el crecimiento celular. Este trabajo tiene como objetivo determinar la capacidad de los bencenoides e isoprenoides producidos por *H. vineae* para modificar el comportamiento del crecimiento y la capacidad fermentativa de cepas enológicas de *S. cerevisiae*. Para ello se ha estudiado, mediante medidas de la absorbancia en microplacas, el crecimiento de siete cepas enológicas de *S. cerevisiae* tanto comerciales como nativas de Uruguay. Estos estudios se realizaron en mosto sintético previamente fermentado por *H. vineae*, así como en medio fresco con diferentes concentraciones de alcohol bencílico, alcohol 2-feniletílico y farnesol. Por otro lado, se llevaron a cabo estudios para evaluar su efecto en las fermentaciones. Las diferentes cepas mostraron distinto comportamiento ante los compuestos estudiados y de forma dependiente según el tamaño de inóculo empleado, exhibiendo diferencias significativas en su crecimiento.

Financing: Proyecto Alianza ANII-ALI-2-2019-1-155314. Fondo Carlos Vaz Ferreira FVF\_2019\_113. Dirección Nacional de Innovación, Ciencia y Tecnología. MEC Uruguay.

### Evaluación de la seguridad de cepas del género *Leuconostoc* procedentes de queso

**Inés María Ramos Monge**<sup>1</sup>, Sara Rodríguez Sánchez<sup>2</sup>, Susana Seseña Prieto<sup>2</sup>, Justa María Poveda Colado<sup>1</sup>, María de los Llanos Palop Herreros<sup>2</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada (IRICA), Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas, Av. Camilo José Cela, 10, 13005, Ciudad Real, España

(2) Universidad de Castilla-La Mancha, Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avenida de Carlos III s/n, Toledo, España

Las bacterias lácticas (BAL) se reconocen como "seguras" y han recibido la consideración GRAS (Generally Recognized as Safe) y QPS (Qualified Presumption of Safety). Sin embargo, algunas especies pueden actuar como patógenos oportunistas y su presencia se ha relacionado con la aparición de infecciones. Algunas cepas pueden también producir aminas biógenas, compuestos que pueden ser tóxicos si se ingieren en determinadas concentraciones. Por estos motivos, es importante analizar aspectos relacionados con su seguridad, especialmente en aquellas cepas que vayan a ser utilizadas en la elaboración de alimentos. En el presente trabajo se ha evaluado la seguridad de 23 cepas del género *Leuconostoc* (Ln.) procedentes de queso, pertenecientes a las especies Ln. mesenteroides subsp. dextranicum, Ln. lactis y Ln. paramesenteroides. Para ello, se ha analizado la producción de factores de virulencia (hemolisinas, lipasas, DNAsas, gelatinasas y coagulasas), la resistencia a algunos antibióticos habituales en el tratamiento de infecciones, mediante métodos fenotípicos, y su capacidad aminobiogénica mediante RP-HPLC. Ninguna de las cepas produjo ninguno de los factores de virulencia analizados y todas fueron susceptibles a la eritromicina, la estreptomina, la clindamicina y el cloranfenicol, a excepción de la C16W5. Por el contrario, todas fueron resistentes a la vancomicina y el 96% lo fueron al trimetoprim-sulfometoxazol. Para la ampicilina y la tetraciclina, los resultados fueron variables. En cuanto a las aminas biógenas, tan solo tres cepas (C4W1, C16W3 y N8W1) fueron productoras, por lo que han sido descartadas para su uso en la producción de alimentos fermentados.

## Evaluación de la actividad prebiótica in vitro de extractos de fibra dietética mejorada de subproductos del brócoli

**María de los Ángeles Rivas Muñoz<sup>1</sup>**, María José Benito Bernáldez<sup>1</sup>, Santiago Ruíz-Moyano Seco de Herrera<sup>1</sup>, Alberto Martín González<sup>1</sup>, Rocío Casquete Palencia<sup>1</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, AV/Adolfo Suárez S/N C.P 06007, Badajoz, España

La fibra dietética es muy importante en la alimentación por los efectos benéficos que genera en la microbiota intestinal, su efecto prebiótico es una de sus actividades bioactivas más importantes. Existe gran cantidad de alimentos como el brócoli y sus subproductos que contienen de 30-90% de fibra dietética, la cual es fermentada en el intestino grueso. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue analizar la actividad prebiótica in vitro de seis bacterias ácido lácticas intestinales beneficiosas (*Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus sakei*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus casei*) en presencia de extractos de fibra dietética de subproductos de brócoli (hojas y tallos) sometidos a tratamiento enzimático y con fluidos supercríticos. Para tal fin, se inoculó cada cepa en una suspensión de medio Man-Rogosa-Sharpe modificado semisólido y se suplementaron con 2 g / L de cada extracto de fibra dietética filtrada y estéril como única fuente de carbohidratos. La turbidez se midió en un lector de microplacas de fluorescencia, a 570 nm durante 48 horas a 37°C. Los resultados obtenidos en la actividad prebiótica in vitro han demostrado que la fibra dietética de hojas y tallo del brócoli es fermentada por las bacterias, siendo el tratamiento enzimático el que proporcionó los valores más altos de crecimiento. Los resultados revelan que los subproductos de brócoli pueden considerarse fuentes de fibra dietética de alta calidad para aplicaciones alimentarias con buenas características prebióticas.

Financing: Los autores agradecen: Junta de Extremadura y Fondos Feder por financiación del Grupo de Investigación GR18165 y el proyecto TA18007.

### MIRRI, la infraestructura europea de investigación al servicio de la microbiología

**Lidia Rodrigo-Torres<sup>1</sup>**, Rosa Aznar<sup>1,2</sup>, Aurora Zuzuarregui<sup>2</sup>, José Miguel López-Coronado<sup>2</sup>, Peio Ziarsolo<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Microbiología y Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Doctor Moliner 50, Burjasot, España

(2) Universitat de València, Colección Española de Cultivos Tipo, Catedrático Agustín Escardino 9, Paterna, España

La Infraestructura de Investigación de Recursos Microbianos (MIRRI, [www.mirri.org](http://www.mirri.org)) promueve la preservación, investigación sistemática, provisión y valorización de los recursos microbianos y la biodiversidad. Actualmente se encuentra en proceso de establecerse legalmente como Consorcio Europeo de Infraestructuras de Investigación (ERIC). El objetivo de MIRRI es coordinar y complementar el trabajo de los Centros de Recursos Biológicos microbianos (mBRCs), para reducir la redundancia de los recursos que conservan, aumentar su capacidad y contribuir a la reproducibilidad, la integridad y el carácter acumulativo de la investigación. El núcleo del funcionamiento de MIRRI será el Entorno de Trabajo Colaborativo (CWE), plataforma digital dinámica que reunirá a los socios y usuarios de MIRRI. El CWE se está construyendo en el marco del proyecto de la UE con acrónimo IS\_MIRRI21 ([ismirri21.mirri.org](http://ismirri21.mirri.org)), donde 14 instituciones de 9 países europeos y un país asociado trabajan en la implementación de la base de datos y servicios, herramientas en línea y procedimientos, que permitirán a los usuarios comunicarse y acceder a la información de una manera eficiente en el tiempo, a través de 4 módulos: i) Información de la infraestructura de investigación, ii) Recursos, datos y servicios microbianos, iii) Colaboración y expertos, iv) Formación y educación (T&E) A través del CWE, MIRRI construye un punto único de acceso a una amplia gama de microorganismos (sus datos y derivados), servicios, asesoramiento de expertos y programas de formación sobre el uso y la conservación de los microorganismos en apoyo de la bioeconomía circular para un futuro verde, saludable y sostenible.

Financing: Proyecto IS\_MIRRI21, financiado por el programa de Investigación e Innovación Horizonte 2020 (Unión Europea), INFRADEV03 RIA GA N° 871129

## Determinación de la susceptibilidad a antibióticos en cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas de carne de ave en España y Portugal

**Cristina Rodríguez-Melcón**<sup>1,2</sup>, Alexandra Esteves<sup>3</sup>, Rosa Capita<sup>1,2</sup>, Carlos Alonso-Calleja<sup>1,2</sup>

(1) Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n, 24071-León, España

(2) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), Universidad de León. Calle La Serna, nº 58, 24007-León, España

(3) Departamento de Ciências Veterinárias, Escola Superior de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), 5000-801 Vila Real, Portugal

La producción de carne de ave es una de las más extendidas, siendo el pollo la especie de cría más común. La contaminación de la carne de pollo con microorganismos patógenos, como *Listeria monocytogenes*, es una preocupación a escala mundial debido al elevado consumo de este alimento. El objetivo de este estudio fue determinar los patrones de resistencia a antibióticos en cepas de *L. monocytogenes* aisladas de muestras de carne picada de pollo adquiridas en diferentes establecimientos situados en León (España) y Vila-Real (Portugal). Se ensayaron 70 cepas de *L. monocytogenes* frente a un panel de 15 antibióticos (difusión por disco, CLSI). Las cepas presentaron resistencia a entre 5 y 10 antibióticos. El número medio de resistencias fue mayor ( $P < 0,001$ ) en las cepas aisladas en España ( $7,87 \pm 1,22$ ) que en las de Portugal ( $6,44 \pm 1,04$ ). En ambos grupos de cepas se observó una prevalencia de resistencia superior al 95% para oxilina, cefoxitina, cefotaxima, cefepime y enrofloxacin. Las cepas aisladas en España presentaron mayor prevalencia de resistencia que las de Portugal a ampicilina, eritromicina, trimetoprim-sulfametoxazol, rifampicina, ciprofloxacina y nitrofurantoina. Se observó una mayor prevalencia de resistencia en las cepas aisladas en Portugal, respecto a las procedentes de España, en el caso de la gentamicina. Estos resultados indican que la carne picada de pollo es un reservorio importante de cepas de *L. monocytogenes* con resistencias múltiples, hecho preocupante en el contexto de la Seguridad Alimentaria que implica la necesidad de una adecuada formación de los manipuladores de alimentos.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Agencia Estatal de Investigación, RTI2018-098267-R-C33); Junta de Castilla y León (Consejería de Educación, LE018P20).



### Estabilidad en refrigeración de bebidas fermentadas de soja como vehículo de isoflavonas bioactivas y bacterias probióticas.

**Ana Ruiz de la Bastida**<sup>1</sup>, Ángela Peirotén<sup>1</sup>, Pilar Gaya<sup>1</sup>, Susana Langa<sup>1</sup>, Juan Luis Arqués<sup>1</sup>, Jose María Landete<sup>1</sup>

(1) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-CSIC), Departamento de Tecnología de Alimentos, Ctra. de La Coruña, km 7, 5, 28040 Madrid, Madrid, España

Las isoflavonas son fitoestrógenos que se encuentran principalmente en la soja. Su consumo está relacionado con diversos beneficios en la salud humana. Sin embargo, estos compuestos suelen presentarse en su forma glicosilada (fundamentalmente daidzin y genistin), y es necesaria su transformación en agliconas (daidzeina y genisteina) para su absorción en el intestino. Esta transformación es llevada a cabo por la microbiota intestinal, pero está sujeta a una gran variabilidad entre individuos, resultando en diferentes niveles circulantes de las agliconas y sus derivados. Se testaron 5 lactobacilos y 4 bifidobacterias como starters para la fermentación de bebida de soja, estudiando su crecimiento, supervivencia y producción de daidzeina y genisteina tras la fermentación y durante el almacenaje en frío a lo largo de 28 días. *Bifidobacterium pseudocatenulatum* INIA P815 fue capaz de metabolizar por completo los glicósidos presentes en la bebida al fermentarla, alcanzando altos niveles de agliconas. Cepas como *Lactobacillus rhamnosus* INIA P344, *Limosilactobacillus mucosae* INIA P508 y *Bifidobacterium breve* INIA P734 también obtuvieron buenos resultados en dicha transformación, aunque de forma más dilatada en el tiempo. Los lactobacilos mostraron una buena supervivencia en la bebida de soja fermentada durante el almacenamiento, mientras que las bifidobacterias sufrieron descensos importantes de viables. Una bebida fermentada de estas características, con buenos niveles de agliconas y de bacterias vivas a lo largo del almacenamiento, podría dar lugar a alimentos funcionales que aporten los beneficios de las isoflavonas al mismo tiempo que actúan de vehículo para cepas probióticas.

Financing: Este trabajo fue financiado por el Proyecto RTA2017-00002-00-00 del Ministerio de Ciencia e Innovación.

## Microbiología Agroalimentaria: mejora de la calidad de uva mediante el empleo de bioproductos de origen microbiano (Proyecto H2020 NOVATERRA)

**Gonzalo Sacristán Pérez-Minayo**<sup>1</sup>, Carlos Rad Moradillo<sup>2</sup>, Javier López Robles<sup>2</sup>, Jorge Miñón Martínez<sup>3</sup>, Rocío Barros García<sup>4</sup>, Roberto Frías Iruzubieta<sup>5</sup>, Marcin Dzikowski<sup>6</sup>, Felicidad de Herralde Travería<sup>7</sup>

(1) Universidad de Burgos, Biotecnología y Ciencia de los Alimentos. Area de Microbiología, Facultad de Ciencias

(2) Universidad de Burgos, Química. Area de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Ciencias

(3) AGRAE Solutions S.L., Burgos, España

(4) Universidad de Burgos, ICCRAM, Burgos, España

(5) Grupo La Rioja Alta S.A., Dpto. Viticultura, España

(6) Corteva Agriscience, Biostimulation, Nitrogen Management, Soil Health, Biology Lead Technical Expert,, Alemania

(7) Instituto de Investigación y Tecnologías Agroalimentarias IRTA,, Fruticultura / Viticultura, España

El Proyecto H2020 'Integrated Novel Strategies for Reducing the Use and Impact of Pesticides, Towards Sustainable Mediterranean Vineyards and Olive Groves' (<https://www.novaterraproject.eu/about/>) persigue la reducción en la utilización de fitosanitarios en dos cultivos de importancia a nivel europeo, el viñedo y el olivar. El Proyecto cuenta con veinte socios, entre universidades, empresas y centros de investigación, pertenecientes a seis países europeos: Francia, Italia, Bélgica, Grecia, Portugal y España. De forma general, la utilización de microorganismos beneficiosos en el sistema productivo se ha empleado tanto por su capacidad bioestimuladora como bioprotectora. En el Proyecto NOVATERRA se llevan a cabo diferentes ensayos tanto en viñedo como en olivar de diferentes países, en los que se pretende evaluar la eficacia de la incorporación de productos bioestimulantes de origen bacteriano. También se estudia la posibilidad de reducir la fertilización nitrogenada con la estabilización del nitrógeno presente mediante la tecnología Optynite™. Asimismo la combinación de la tecnología Optynite™ con productos bioestimulantes puede resultar ser una opción viable como alternativa en la reducción de ciertos fitosanitarios, sin afectar en el rendimiento en cantidad y calidad. También se pretende mejorar la calidad del suelo así como la microbiota edáfica mediante los ensayos de cubiertas vegetales en viñedo. Se estudiará el efecto de la incorporación de cubiertas florales (gramíneas y flores silvestres) como cubiertas sembradas de cereal (*Brachipodium distachyum*). La finalidad última de NOVATERRA se centra en la protección de la salud de los consumidores y la del medio ambiente.

Financing: The NOVATERRA project has received funding from the European Commission's Horizon 2020 Grant Agreement Number 101000554.

### Caracterización de la capacidad de formación de biofilm de *Aliarcobacter butzleri* de origen alimentario

**Adrián Salazar-Sánchez**<sup>1</sup>, Itsaso Baztarrika Uria<sup>1</sup>, Ilargi Martínez Ballesteros<sup>1</sup>, Cecilia Girbau Iturralde<sup>1</sup>, Rodrigo Alonso Monsalve<sup>1</sup>, Irati Martínez Malax-etxebarria<sup>1</sup>

(1) Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU)

*Aliarcobacter* (*Arcobacter*) *butzleri* es un patógeno emergente de transmisión alimentaria asociado principalmente a enfermedad gastrointestinal humana y ocasionalmente a bacteriemia. De alta prevalencia en alimentos, es capaz de formar biofilms sobre superficies ampliamente utilizadas en la industria alimentaria. Éste es un importante factor de virulencia a considerar, por convertir las superficies en contacto con alimentos contaminados en posible foco de infección y contaminación cruzada de *A. butzleri*. El objetivo de este trabajo fue estudiar el potencial de formación de biofilm de 53 aislamientos de *A. butzleri* obtenidos en Vitoria-Gasteiz a partir de diversos alimentos, mediante detección de genes asociados a adherencia (*flis*, *luxS*, *pta*, *waaF*, *spoT*, *flaA* y *flaB*) y ensayos de formación de biofilm sobre poliestireno, vidrio reforzado y acero inoxidable. Los genes estudiados fueron detectados en el 100 % de los aislamientos. Sin embargo, la capacidad de formar biofilms fue desigual. De las 53 cepas inicialmente ensayadas sobre poliestireno, 19 (35 %) formaron biofilms. Todas ellas mostraron la misma capacidad sobre vidrio y acero. Estos resultados sugieren que, bajo las mismas condiciones de crecimiento, la formación de biofilm es dependiente de cepa pero no de superficie. Tres cepas destacaron sobre el resto por su fenotipo superadherente, siendo dos de ellas derivadas de productos del mar. En conjunto, la capacidad de adherencia de los aislamientos analizados es mayor en vidrio que en plástico, por lo que los materiales empleados en la manipulación y/o envasado de alimentos podrían condicionar el riesgo de transmisión de ésta especie.

Financing: El trabajo deriva de los proyectos AGL2014-56179-P y PPG17/27, financiados respectivamente por MINECO (Gobierno de España) y UPV/EHU.

## Influencia de las condiciones de esporulación en la superlatencia de *Geobacillus stearothermophilus*

**Maika Salvador Arnadillo<sup>1</sup>**, Víctor Freire Carrascosa<sup>1</sup>, Santiago Condón Usón<sup>1</sup>, Elisa Gayán Ordás<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Zaragoza, Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Veterinaria, C/Miguel Servet 177, Zaragoza, España

Los esporos de *Geobacillus* spp. son importantes agentes de alteración de los alimentos, ya que son capaces de resistir a los tratamientos de esterilización y germinar durante el almacenamiento. Por otro lado, *Geobacillus* spp. tiene gran interés biotecnológico por sus propiedades termófilas. Sin embargo, estos microorganismos producen una gran proporción de esporos superlatentes (i.e., incapaces de germinar en medios nutritivos) que dificultan su control en la industria alimentaria y biotecnológica. A pesar de la importancia de la superlatencia en este género, se desconoce cómo las condiciones ambientales de esporulación afectan a este fenómeno. Por ello, en esta investigación se estudió el efecto de la composición del medio, composición de la atmósfera y temperatura de esporulación en la superlatencia de dos cepas de *G. stearothermophilus* (CECT43 y NUB3621R). El porcentaje de esporos superlatentes, así como el rendimiento de esporulación, varió con la composición del medio, concentración de oxígeno y cepa, siendo las diferencias mayores en medios pobres en nutrientes. Por el contrario, el estado líquido o sólido del medio no influyó en la superlatencia. La temperatura de esporulación fue el factor más influyente. El rendimiento de esporulación aumentó al incrementar la temperatura de 45°C a 65°C. Sin embargo, las poblaciones producidas a 45°C presentaban el porcentaje de esporos superlatentes más bajo al germinar a 45°C, mientras que las obtenidas a 65°C mostraron la menor proporción de superlatentes a la misma temperatura de germinación. Por tanto, temperaturas de esporulación próximas a las de germinación favorecen la latencia en esporos de *G. stearothermophilus*.

Financing: Contratos Predoctorales de Personal Investigador en Formación del Gobierno de Aragón concedidos a Maika Salvador y Víctor Freire.

## Evaluación del potencial de *Hanseniaspora uvarum* para producir compuestos orgánicos volátiles anti-*Botrytis*

**Paula Tejero Cordero**<sup>1,2</sup>, Alicia Rodríguez<sup>1,2</sup>, Alberto Martín<sup>1,2</sup>, Carlos Moraga<sup>1,2</sup>, Catalina M. Cabañas<sup>1,2</sup>, Alejandro Hernández<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Av. de Adolfo Suárez, s/n, 06007, Badajoz, España

(2) Instituto Universitario de Recursos Agrarios (INURA), Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Av. de la Investigación s/n 06006, Badajoz, España

*Botrytis cinerea* es un hongo patógeno que infecta a una gran variedad de cultivos tanto en precosecha como en postcosecha, causando grandes pérdidas. Un mecanismo para hacer frente a este moho es mediante el uso de microorganismos antagonistas o agentes de biocontrol, los cuales son una alternativa muy atractiva para la industria alimentaria, ya que es un método "natural". De entre todos los microorganismos utilizados como biocontrol podemos destacar a las levaduras ya que tienen muchas características que las hacen óptimas para esta función. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de producir compuestos volátiles anti-*Botrytis cinerea* por 6 diferentes cepas de *Hanseniaspora uvarum*. Se realizaron confrontaciones en sistemas de doble placa en los que periódicamente se midió el diámetro radial del crecimiento del moho comparándolo con un control sin confrontar con levaduras. A su vez se identificaron los compuestos volátiles producidos por las levaduras mediante extracción con fibras SPME, y analizados mediante un CG-MS. De igual manera se comprobó a nivel microscópico los efectos de estos compuestos sobre el desarrollo del micelio y la pared celular. Los resultados obtenidos indicaron que 5 de las 6 cepas de *Hanseniaspora* redujeron el crecimiento de *Botrytis cinerea* entre un 23,8 y un 57,3%. Los compuestos volátiles asociados a esa reducción fueron identificados mayoritariamente como ésteres y alcoholes. Además, se observó a nivel microscópico como las hifas de los mohos presentaron mayores engrosamientos en la pared celular, estructuras aberrantes y una mayor vacuolización del citoplasma.

Financing: RTI2018-096882-B-100 (MCI/AEI/FEDER/UE) Junta de Extremadura y FEDER (GR18165)

## Impacto de las prácticas vitivinícolas en las dinámicas poblacionales, fermentativas y producción de metabolitos de interés enológico en fermentaciones vínicas

**Sandra Tomasi<sup>1</sup>**, Javier Ruiz<sup>1</sup>, Javier Vicente<sup>1</sup>, Miguel de Celis<sup>1</sup>, Domingo Marquina<sup>1</sup>, Antonio Santos<sup>1</sup>, Ignacio Belda<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, fisiología y Microbiología, Ciencias Biológicas, C/ José Antonio Novais 12, Madrid, España

Las comunidades microbianas que se establecen en las uvas son responsables del desarrollo de los procesos fermentativos que convierten el mosto de uva en vino. Las prácticas vitícolas determinan la composición de estas comunidades microbianas, y el itinerario enológico en bodega determina el funcionamiento de este ecosistema microbiano que, a su vez, determinará su contribución a la composición química y el perfil sensorial de los vinos. En este trabajo se muestrearon uvas de la variedad Tempranillo de 18 parcelas de viñedo (9 viñedos ecológicos y 9 convencionales) situadas en 5 regiones vitivinícolas (10 parcelas en La Rioja, 2 en Madrid, 2 en La Mancha, 2 en Valdepeñas y 2 en Ribera del Guadiana). Se llevaron a cabo fermentaciones espontáneas con 3 condiciones experimentales, determinadas por la temperatura de fermentación, la adición de SO<sub>2</sub> y la adición de nutrientes nitrogenados (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). A nivel global, las fermentaciones llevadas a cabo a baja temperatura (18°C) sufrieron un incremento significativo (aproximadamente del 50%) en la duración del proceso fermentativo con respecto a la condición control (25°C), mientras que las fermentaciones donde se suplementó con NH<sub>4</sub><sup>+</sup> como nutriente nitrogenado mostraron cinéticas fermentativas ligeramente más rápidas. Asimismo, se determinaron las concentraciones finales de azúcares residuales (glucosa/fructosa), ácido acético, ácido málico, glicerol, amonio y nitrógeno aminoacídico para conocer el impacto de las condiciones fermentativas en la producción/consumo de dichos metabolitos, así como el efecto indirecto del manejo del viñedo en el funcionamiento de las comunidades microbianas que se desarrollan durante la fermentación vínica.

Financing: Agencia Estatal de Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación: Proyecto Winetraxions (PID2019-105834GA-I00)



### Uso de un cultivo iniciador probiótico para la elaboración de quesos "Torta del Casar" con características funcionales.

**Almudena V. Merchán**<sup>1,2</sup>, Ana Martínez<sup>1,2</sup>, Anabel Fuertes Toro<sup>1,2</sup>, Santiago Ruiz-Moyano<sup>1,2</sup>, María de Guía Córdoba Ramos<sup>1,2</sup>, María José Benito Bernáldez<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Extremadura, Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Avda. Adolfo Suárez s/n, Badajoz, España

(2) Universidad de Extremadura, Instituto Universitario de Investigación en Recursos Agrarios (INURA), Avda. de la Investigación s/n, Badajoz, España

Los quesos bajo DOP "Torta del Casar" se elaboran con leche cruda de oveja, coagulante vegetal de *Cynara cardunculus* L., y sin cultivo iniciador. Al tratarse de un producto tradicional sin tratamiento térmico, a menudo la variabilidad microbiana de la leche genera pérdidas de producto. Por tanto, es necesario encontrar cultivos iniciadores que mejoren la homogeneidad del producto manteniendo sus cualidades sensoriales únicas. El objetivo de este estudio ha sido elaborar quesos con características funcionales y evaluar el control que ejercen estas especies frente a la microbiota alterante durante la maduración. Por ello, se han seleccionado dos bacterias ácido-lácticas: *Lb. plantarum* Lb12, autóctona de queso "Torta del Casar" y *Lb. reuteri* PL503, bacteria probiótica intestinal, ambas con características funcionales previamente estudiadas. Estas cepas se inocularon a 10<sup>5</sup> ufc/ml en los quesos de forma aislada (lotes Lp y Lr) y conjunta (lote mixto). Se estudió la implantación de los microorganismos durante la maduración, logrando *Lb. plantarum* Lb12 mantenerse a 10<sup>7</sup> ufc/g durante todo el procesado, aunque *Lb. reuteri* PL503 disminuyó sus recuentos hasta 10<sup>4</sup> ufc/g. Se observó que el lote mixto presentó mayor cremosidad y menor recuento de enterobacterias y *Pseudomonas* spp. que el lote control a los 60 días de maduración. Los lotes Lp y Lr mostraron mayor dureza y no presentaron disminución de microorganismos alterantes. Por tanto, se propone la utilización del cultivo mixto para la elaboración de quesos más seguros y funcionales, consiguiéndose una mejora en la calidad higiénico-sanitaria y manteniendo las cualidades sensoriales únicas de estos quesos.

Financing: Trabajo financiado por Junta de Extremadura-Fondos FEDER (GR18165). Almudena V. Merchán agradece a la Junta de Extremadura la Beca PD16026.

## Selección de cepas de levadura de quesos de leche de oveja de pasta blanda tipo "torta" con características probióticas

**María Vázquez-Hernández**<sup>1</sup>, Almudena V. Merchán<sup>1</sup>, Ana Martínez<sup>1</sup>, María José Benito<sup>1</sup>, Mercedes Aranda-Medina<sup>2</sup>, Santiago Ruiz-Moyano<sup>1</sup>

(1) Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Av. de Adolfo Suárez s/n 06007, Badajoz, España

(2) Expresión Gráfica, Escuela de Ingenierías Industriales, Campus Universitario, Av. de Elvas s/n 06006, Badajoz, España

El queso de pasta blanda tipo "torta" es un producto de elaboración artesanal a base de leche cruda y coagulante vegetal en el que el papel de los diferentes grupos microbianos participantes en su maduración no ha sido estudiado en profundidad. A pesar de que las bacterias ácido-lácticas constituyen la microflora dominante, las múltiples actividades biológicas presentadas por las levaduras durante los procesos fermentativos y los efectos terapéuticos en el control de desórdenes intestinales de *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* en concreto, han puesto el foco en la potencialidad probiótica de otras levaduras. La elección y estandarización de cepas de levadura tecnológicamente adecuadas como cultivos iniciadores es crucial para definir y mejorar el perfil sensorial y nutricional del queso tipo "torta". En este estudio se han analizado las propiedades probióticas de 80 cepas de levaduras autóctonas aisladas de este queso. Los resultados mostraron un comportamiento altamente cepa-dependiente en las diferentes actividades ensayadas, especialmente patente en el análisis de la actividad antiproliferativa utilizando líneas celulares HT-29, donde se observó una inhibición desde un 40% a un 5% del crecimiento de las células en presencia del contenido intracelular de las levaduras. En cambio, no se detectó efecto inhibitorio de HT-29 por la secreción de compuestos citotóxicos al medio extracelular. Las cepas de *Pichia fermentans* y *Kluyveromyces marxianus* ensayadas mostraron una alta capacidad de formación de biofilm, mientras que las especies del género *Pichia* fueron las que mostraron mayor tasa de absorción de colesterol.

Financing: Trabajo financiado Junta de Extremadura y fondos FEDER (GR18165; IB16038)

### Caracterización genotípica y fenotípica de cepas de *Lachancea thermotolerans* para la evaluación de su potencial enológico

**Javier Vicente**<sup>2</sup>, Santiago Benito<sup>1</sup>, Javier Ruiz<sup>2</sup>, Miguel De Celis<sup>2</sup>, Sandra Tomasi<sup>2</sup>, Eva Navascués<sup>3</sup>, Ignacio Belda<sup>2</sup>, Antonio Santos<sup>2</sup>, Domingo Marquina<sup>2</sup>

(1) Universidad Politécnica de Madrid, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Madrid, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Biología, Madrid, España

(3) Pago De Carraovejas, Peñafiel, España

Las levaduras no-*Saccharomyces* son importantes en la industria enológica por influir en diferentes parámetros de calidad del vino, desde incrementar la complejidad aromática a ejercer un control sobre color y microbiota. Debido al cambio climático la calidad de los mostos se está viendo alterada siendo los parámetros de acidez y el contenido de azúcares los más afectados. *Lachancea thermotolerans* es una levadura con un poder fermentativo medio, elevada producción de ácido láctico e importante producción de compuestos aromáticos. Por estas características se ha propuesto su utilización como herramienta para la corrección de mostos produciendo un descenso del pH por la producción de ácido láctico y una reducción del grado alcohólico probable por su menor capacidad fermentativa. Las técnicas actuales de caracterización de cepas de *L. thermotolerans*, así como otras levaduras no-*Saccharomyces*, son escasas y difícilmente implementables. Los diferentes parámetros enológicos estudiados en este trabajo muestran una gran diversidad entre cepas, siendo los más significativos la producción de ácido L-láctico (0,0-3,8 g/L) y su relación con la degradación de ácido málico (1,3-2,9 g/L), así como la resistencia a etanol (hasta 12% vol/vol) y metabisulfito (hasta 200 ppm); resultados que justifican la importancia de la selección de cepas. En este sentido, y con el objetivo de realizar un genotipado sencillo para diferenciar cepas de *L. thermotolerans*, se ha desarrollado una nueva técnica basada en la amplificación por PCR multiplex de diferentes loci que presentan secuencias repetidas en tándem. La técnica ha mostrado un elevado grado de discriminación tanto intra como interespecífica.

Financing: Trabajo financiado por CDTI-CIEN (IDI-20210391). Javier Vicente, contrato UCM-YEI, Consejería de Educación y Ciencia de la CM y FSE (PEJ-2019-AI/BIO-12459).

## Estudio de las poblaciones de bacterias y levaduras durante el proceso de elaboración de kombucha

**Altea Villalón Melo<sup>1</sup>**, Álvaro Rodríguez Alonso<sup>1</sup>, María José Pérez Álvarez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Vigo, Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias, Edificio Politécnico, Campus Universitario As Lagoas s/n 32004, Ourense, España

La kombucha es una bebida tradicional en la que una infusión azucarada de té es fermentada por un consorcio de bacterias y levaduras. Durante 11 días de fermentación se realizó un seguimiento microbiológico de dos tipos de kombucha elaboradas con una infusión azucarada de té negro, según dos métodos de inoculación: un método tradicional, que consiste en la adición al 10% de un líquido de kombucha comercial al término de su fermentación, denominado cultivo iniciador; y un método denominado "backslopping", en el que se preparó un pie de cuba a partir del mismo cultivo iniciador empleado en el método tradicional y que se añadió al 10%. El estudio comparativo entre ambas kombuchas, de las que se obtuvieron un total de 53 levaduras y 42 bacterias analizadas morfológicamente y mediante secuenciación de su ADN, muestra que los principales microorganismos que dominan el inicio de la fermentación son *Brettanomyces bruxellensis* y *Brettanomyces anomalus*, responsables de la conversión de sacarosa a etanol y los que dominan las etapas finales de la fermentación son *Acetobacter okinawensis* y *Glucanobacter oxydans*, quienes convierten el etanol en ácido acético. Además, se observó que el método de inoculación "backslopping" produce un mayor crecimiento microbiológico, especialmente en la población de levaduras y que las bacterias de la especie *Glucanobacter oxydans* tienen menor abundancia con respecto al método tradicional.

### Evaluación de crioprotectores para mantener la viabilidad de bacterias lácticas destinadas a alimentación animal.

**Aida Yuste**<sup>1</sup>, M. Àngels Calvo Torras<sup>1</sup>, Esteban Arosemena Angulo<sup>1</sup>

(1) Universitat Autònoma de Barcelona, Departamento de Sanidad y Anatomía Animales, Facultad de Veterinaria, Campus Universitari de Bellaterra, 08193, Bellaterra (Barcelona)

En estos últimos años, la adición de probióticos en alimentación animal ha adquirido un gran interés debido a los estudios que ponen en evidencia su capacidad de mejorar el estado sanitario de los animales destinados a consumo humano. En este estudio se aportan los resultados obtenidos al evaluar la acción crioprotectora de diversos compuestos para la preservación de la viabilidad de una cepa de *Lactobacillus* aislada de la microbiota intestinal de *Helix aspersa* Müller y de la que se ha demostrado su potencial probiótico. España es el segundo país europeo en consumo de caracol, sin embargo, no existe una regulación expresa de la calidad microbiológica de este alimento y por ello, es de interés favorecer la adición de cepas probióticas capaces de reducir la presencia de microorganismos patógenos y en consecuencia disponer de un producto para la alimentación más seguro desde el punto de vista microbiológico. Los crioprotectores objeto de estudio han sido: leche desnatada, sacarosa, maltodextrina, trehalosa y la combinación de leche desnatada con sacarosa. El análisis de resultados permite evidenciar que la trehalosa al 15% favorece la mayor tasa de la supervivencia de la cepa ya que tres meses después de haber obtenido los liófilos mantienen un 95% de viabilidad.

**Hongos y Levaduras**  
**Presentación Oral**

**Debaryomyces hansenii y cationes alcalinos: De halotolerancia a toxicidad**

**Francisco Ruiz-Pérez<sup>1</sup>**, Laura Ramos-Moreno<sup>1</sup>, Francisco Javier Ruiz-Castilla<sup>1</sup>, Elisa Rodríguez-Castro<sup>1</sup>, Carlos Leal-Rodríguez<sup>1</sup>, Adriana Serrano-Toril<sup>1</sup>, Rodrigo Calvo-Solanilla<sup>1</sup>, Fernando Calero<sup>1</sup>, José J. Aguilar<sup>1</sup>, José Ramos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología, Facultad de ciencias, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario CeIA3, Córdoba, España

Debaryomyces hansenii es una levadura adaptada a desarrollarse en ambientes salinos, por lo que, generalmente se ha considerado como una levadura halotolerante. A lo largo de los años se han estudiado los efectos de los cationes alcalinos sobre esta levadura, principalmente los cationes sodio (generalmente tóxico para los organismos) y potasio (control no tóxico). Estos trabajos han indicado que el sodio es en cierta medida beneficiosos para esta levadura y que incluso la protege frente a situaciones adicionales de otros tipos de estrés abiótico. Sin embargo, no se ha estudiado el efecto de otros cationes alcalinos como es el caso del litio. El presente trabajo ha tenido como objetivo principal obtener información sobre los efectos del litio en el desarrollo de D. hansenii utilizando como patrón de comparación sodio y potasio. Demostramos que, al contrario de lo que sucede con el sodio, el litio se comporta siempre como un tóxico para la célula a pesar de acumularse en su interior a concentraciones un orden de magnitud inferiores a las de sodio. Además mostraremos que la presencia de sodio o potasio en el medio externo son capaces de contrarrestar la toxicidad debida a litio. Palabras claves: Debaryomyces hansenii, halotolerante, cationes alcalinos, litio, toxicidad.

Financing: XXII Plan Propio Investigación, Universidad de Córdoba.(Grupo BIO-202)



### Caracterización funcional de la ruta de MAP quinasas de integridad celular (CIP) en la levadura dimórfica *Schizosaccharomyces japonicus*

Elisa Gómez Gil<sup>1</sup>, Alejandro Franco<sup>1</sup>, Beatriz Vázquez-Marín<sup>1</sup>, Francisco Prieto-Ruiz<sup>1</sup>, Armando Pérez-Díaz<sup>1</sup>, Jero Vicente-Soler<sup>1</sup>, Marisa Madrid<sup>1</sup>, Teresa Soto<sup>1</sup>, José Cansado<sup>1</sup>

(1) Grupo de Fisiología Microbiana, Departamento de Genética y Microbiología, Campus de Excelencia Internacional de Ámbito Regional (CEIR) Campus Mare Nostrum Universidad de Murcia 30071, Murcia, España.

Las rutas de señalización mediadas por proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs) juegan un papel fundamental en las células eucariotas durante la respuesta celular adaptativa frente a cambios ambientales. En la levadura modelo *Schizosaccharomyces pombe*, la ruta de MAP quinasas de integridad celular (CIP) y su elemento central, la MAPK Pmk1, desempeñan una función clave durante la regulación de la integridad celular, la citoquinesis y la homeostasis iónica. *Schizosaccharomyces japonicus*, una especie perteneciente al mismo género, presenta importantes diferencias respecto a *S. pombe*, entre las que destaca su capacidad de experimentar una transición dimórfica levadura-hifa. Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que la arquitectura del módulo de MAPKs de la ruta CIP y sus reguladores aguas arriba, los ortólogos de PKC Pck1 y Pck2, están conservados en ambas especies. Sin embargo, algunas funciones de la ruta CIP en *S. pombe*, como son el control de la citoquinesis y la respuesta frente a la disponibilidad de glucosa, están ausentes en *S. japonicus*. Además, Pck1 y Pck2 regulan de forma antagónica la diferenciación hifal de *S. japonicus* mediante un control preciso de la actividad de Pmk1. El intercambio de MAPKs entre ambas levaduras ha mostrado que, mientras que Pmk1 de *S. japonicus* es completamente funcional en *S. pombe*, la MAPK de *S. pombe* muestra una importante limitación funcional y de promoción de la diferenciación levadura-hifa cuando se expresa en *S. japonicus*. Dicho déficit podría estar relacionado con la peculiar estructura secundaria del lóbulo N de la MAPK en esta levadura.

Financing: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, España y Fundación Séneca de la Región de Murcia, España.

## Evaluación de la capacidad de detoxificación de micotoxinas por microorganismos probióticos o aislados de uvas.

**Carolina Gómez Albarrán<sup>1</sup>**, Belén Patiño Álvarez<sup>1</sup>, Covadonga Vázquez Estévez<sup>1</sup>, Jéssica Gil Serna<sup>1</sup>  
(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, Ciencias Biológicas, Madrid, España

La presencia de aflatoxina B1 (AFB1), fumonisina B1 (FB1) y ocratoxina A (OTA) en alimentos y piensos supone una gran amenaza para la salud humana y animal, además de elevadas pérdidas económicas. La detoxificación biológica y, en concreto, el uso de probióticos y otros microorganismos QPS, se posiciona como una de las estrategias más prometedoras para reducir la concentración de estas micotoxinas en alimentos y piensos. En este trabajo, se ha evaluado mediante ELISA, la capacidad de detoxificación de AFB1, FB1 y OTA por parte de diversos microorganismos aislados de productos probióticos y de uvas. Los resultados indican que la mayoría de las bacterias y levaduras analizadas presentan una elevada capacidad de reducción de la concentración inicial de AFB1, OTA y FB1 con valores de hasta el 87%, 81% y 82%, respectivamente. *Hanseniaspora uvarum* fue capaz de reducir de manera significativa las tres toxinas evaluadas tanto FB1 (79,4%), AFB1 (79,5%) como OTA (71,6%). Para conocer el mecanismo implicado en la detoxificación de *H. uvarum*, se realizó el mismo ensayo anteriormente indicado, pero con células inactivadas térmicamente. Los resultados de este estudio parecen indicar que *H. uvarum* detoxifica AFB1, FB1 y OTA por medio de la adsorción ya que no se han encontrado diferencias en los porcentaje de eliminación de estas micotoxinas entre células viables e inactivadas. En conclusión, estos resultados describen el gran potencial de los microorganismos analizados en este estudio como agentes de detoxificación biológica de micotoxinas, lo que permitiría reducir los problemas asociados a su exposición.

Financing: Trabajo financiado por el MICINN (RTI 2018-097593-B-C21). Carolina Gómez Albarrán es beneficiaria de una beca FPI del MICINN (PRE 2019-087768).

## Identificación de *Candida auris* y especies relacionadas mediante PCR multiplex basada en genes únicos codificantes para proteínas GPI

**María Alvarado González**<sup>3</sup>, Jesús Alberto Gómez Navajas<sup>3</sup>, María Teresa Blázquez Muñoz<sup>3</sup>, Jordan Fernández Pereira<sup>3</sup>, Joaquín Bartolomé Álvarez<sup>1</sup>, Alba Cecilia Ruiz-Gaitán<sup>4</sup>, Eulogio Valentín<sup>2</sup>, Elena Eraso<sup>5</sup>, Piet W. J. De Groot<sup>3</sup>

(1) Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, Servicio de Salud de Castilla-La Mancha, Albacete, España

(2) Universidad de Valencia, GMCA Research Unit, Departamento de Microbiología y Ecología, Burjassot, España

(3) Centro Regional de Investigaciones Biomédicas, Parque Científico y Tecnológico de Castilla-La Mancha, Universidad de Castilla-La Mancha, Micología Molecular, Albacete, España

(4) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Grupo de Investigación Infección Grave, Valencia, España

(5) Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Bilbao, España

La levadura patógena *Candida auris* está ganando rápidamente importancia clínica debido a su resistencia a tratamientos antifúngicos y su persistencia en entornos hospitalarios. El diagnóstico temprano y preciso de las infecciones por *C. auris* es crucial, sin embargo, los sistemas comerciales a menudo conducen a su incorrecta identificación. Por esta razón, hemos desarrollado métodos de PCR convencionales y en tiempo real para la identificación precisa y rápida de *C. auris* y su discriminación de especies estrechamente relacionadas aprovechando la singularidad de algunos genes codificantes para proteínas GPI. Se diseñaron primers específicos de especie para dos genes codificantes para proteínas GPI por cada especie, *C. auris*, *C. haemulonii*, *C. pseudohaemulonii*, *C. duobushaemulonii*, *C. lusitanae* y *C. albicans* y, se probó con éxito su especificidad. La eficacia de los primers de *C. auris* se validó mediante la identificación correcta de 155 aislados genéticamente diversos de *C. auris*. Se llevó a cabo un enfoque múltiple que permitió la discriminación eficiente de las distintas especies gracias al uso de amplicones de diferentes tamaños y con diferentes puntos de fusión. La sensibilidad para las reacciones de PCR en tiempo real de *C. auris* se situó entre 50 y 5 UFC / PCR con valores de umbral de ciclo de 29 y 32, respectivamente. En un entorno más clínico, el método produjo amplicones de *C. auris* cuando las células se mezclaron con sangre o suero. Los métodos de PCR fueron precisos, rápidos y fáciles de realizar, y la PCR convencional eliminó la necesidad de equipos costosos.

Financing: Ministerio de Economía y Competitividad [SAF2017-86188-P] y Gobierno Regional de Castilla-La Mancha [SBPLY/19/180501/000114] y [SBPLY/19/180501/000356]

## La limitación de hierro incrementa la vida cronológica de *Saccharomyces cerevisiae* a través de la activación de la autofagia

**Sandra Montellà Manuel<sup>1</sup>**, Nuria Pujol Carrion<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Angeles De la Torre Ruiz<sup>1</sup>

(1) Facultad de Medicina. Universidad de Lleida. Alcalde Rovira Roure nº 80. 25008-Lleida.

En este trabajo demostramos que la limitación de hierro desencadena la inducción de la autofagia generalizada mediada por TORC1 en cultivos de *Saccharomyces cerevisiae*. Simultáneamente, las células cuya única limitación nutricional es el hierro entran en una fase quiescente, como lo demuestra la enorme acumulación de trehalosa y el aumento de la resistencia a otros estreses. Hemos comprobado que para que todo ello ocurra es necesaria la activación del complejo TORC2 y la inactivación del complejo TORC1, ambos convergen en la defosforilación de Atg13 y en el aumento de la actividad quinasa de Atg1, ambos intervienen en el inicio del proceso autofágico. Por otra parte, la repleción de hierro, reduce el flujo autofágico a través de la activación de la AMP quinasa Snf1 y de la activación del factor transcripcional involucrado en la homeóstasis de hierro, Aft1. La convergencia y organización de todos estos procesos de señalización resulta en una significativa extensión de la vida cronológica de *S. cerevisiae* de manera esencialmente dependiente de la actividad autofágica.

### Selección y análisis funcional de dos genes que codifican posibles efectores en *Penicillium digitatum*, principal hongo patógeno postcosecha de cítricos

Víctor Silva Alejandro<sup>1</sup>, Luis González-Candelas<sup>1</sup>, Ana-Rosa Ballester<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Dpto. Biotecnología, C/ Catedrático Agustín Escardino Benlloch, 7 - 46980 Paterna, Valencia, España

*Penicillium digitatum* es el hongo responsable de la podredumbre verde en cítricos, siendo el principal patógeno durante el periodo de postcosecha en condiciones de clima mediterráneo. Esta patología afecta especialmente a España, puesto que se trata del principal exportador mundial de cítricos para consumo en fresco. Los factores de virulencia por los que el patógeno es capaz de infectar los frutos no se conocen en su totalidad, siendo los efectores unos posibles candidatos. Los efectores son pequeñas proteínas secretadas (<350 aminoácidos) que presentan un gran número de cisteínas en su secuencia, no tienen homología con otros dominios proteicos y son mayoritariamente específicas de especie. En el presente trabajo se ha llevado a cabo un análisis bioinformático para identificar posibles efectores presentes en el proteoma de *P. digitatum*. A partir de datos transcriptómicos obtenidos en fases tempranas de la infección de naranjas infectadas con *P. digitatum* se seleccionaron dos posibles efectores fúngicos: PDIP\_68130, que codifica un presunto precursor de feromonas y PDIP\_02870, que codifica una proteína hipotética. Se presentará la caracterización de mutantes de delección en estos dos genes en lo que respecta al crecimiento in vitro y se discutirá el rol que pudieran tener en la virulencia de *P. digitatum*.

Financing: Programa FPI-MICINN PRE2019-084000, RYC-2017-22009 (MICINN/AEI/FSE, UE) y Proyecto AGL2017-88120-R (MCIU/AEI/FEDER, UE)

## El aminoglucósido neomicina en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*: Un nuevo estímulo de la ruta de integridad de la pared celular

**Elena Jiménez-Gutiérrez**<sup>1,2</sup>, Teresa Fernández-Acero Bascones<sup>1,2</sup>, Esmeralda Alonso-Rodríguez<sup>1,2</sup>, María Molina Martín<sup>1,2</sup>, Humberto Martín Brieva<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Pza. Ramón y Cajal, s/n, 28040, Madrid, España

(2) Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCYS), Ctra. de Colmenar Viejo, Km. 9,100. Planta – 2 derecha, 28034, Madrid, España

En la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la ruta de integridad de la pared celular o CWI (Cell Wall Integrity) es la vía de transducción de señales responsable del mantenimiento de la integridad de la pared celular fúngica, estructura fundamental para las células de levadura. Para estudiar la señalización a través de esta ruta, nuestro grupo de investigación desarrolló un circuito genético sintético de retroalimentación positiva denominado IPAC (Integrity Pathway Activation Circuit), cuya activación en condiciones de estimulación se traduce en la inhibición del crecimiento debida a la hiperactivación de la ruta CWI. En un rastreo para la búsqueda de nuevos estímulos de la ruta CWI empleando esta herramienta genética, se identificó a la neomicina como un aminoglucósido capaz de activar al circuito IPAC, impidiendo el crecimiento celular. Asimismo, la ruta CWI es necesaria para la supervivencia de las células de levadura en presencia de neomicina, y en la señalización inducida por este aminoglucósido a través de la ruta CWI contribuyen la quinasa Pkh1 de la ruta de síntesis de esfingolípidos y la proteína de unión a fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2) Slm1 que participa en la ruta de TORC2. En la línea de estos resultados, este compuesto es capaz de interactuar con el PIP2 de la membrana plasmática de las células de mamífero, y algunos componentes de la ruta CWI requieren la presencia de este fosfoinosítido para su correcto funcionamiento, por lo que la activación de la ruta CWI por neomicina podría estarse produciendo por una alteración de los niveles membranales de PIP2.

Financing: E. Jiménez-Gutiérrez ha sido beneficiaria de un Contrato Predoctoral de Personal Investigador en Formación de la Universidad Complutense de Madrid.



### Características de la señalización vía MAPKs de *Saccharomyces cerevisiae* en respuesta al antifúngico clotrimazol.

**Angela Sellers Moya**<sup>1</sup>, Humberto Martín<sup>1</sup>, Maria Molina<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza Ramón y Cajal S/N, Madrid, España

Las rutas de transducción de señales mediadas por MAPKs son esenciales para la respuesta de las células eucariotas a estímulos externos, regulando procesos vitales que permiten la adaptación de las células a su entorno. En la levadura modelo *Saccharomyces cerevisiae* existen 5 de estas rutas de MAPKs, entre las que destacan la de integridad de la pared celular (CWI), la de respuesta a elevada osmolaridad (HOG) y la de respuesta a feromonas. Los antifúngicos de tipo azol son los fármacos más empleados para el tratamiento de infecciones fúngicas, y puesto que la aparición de especies de hongos resistentes a los azoles es cada vez más alarmante, es importante caracterizar la respuesta de las células fúngicas al tratamiento con estos fármacos. Así, hemos descubierto que uno de estos azoles, el clotrimazol, es capaz de afectar de forma significativa a las rutas de MAPKs de *S. cerevisiae*, produciendo la activación de las rutas CWI y HOG y la desfosforilación de las MAPKs de la ruta de respuesta a feromonas. Profundizando en la ruta CWI, hemos observado que su MAPK Slt2 no solo se fosforila en el dominio de activación TEY en respuesta al clotrimazol, sino también en otros residuos de la proteína todavía por identificar, fenómeno que además es dependiente del estrés oxidativo que se genera en la levadura al exponerse a este antifúngico. Por otro lado, también hemos analizado la participación de las diferentes proteínas de esta ruta en la transducción de la señal tras el tratamiento con clotrimazol.

Financing: Esta investigación está financiada con un contrato FPI y el proyecto PID2019-105342GB-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación.

## Estudio del efecto de la fumagilina y su implicación en la infección

**Xabier Guruceaga**<sup>1</sup>, Eduardo Pelegri-Martinez<sup>1</sup>, Uxue Perez-Cuesta<sup>1</sup>, Saioa Cendon-Sanchez<sup>1</sup>, Aize Pellon<sup>2</sup>, Oskar Gonzalez<sup>3</sup>, Emilio Mayayo<sup>4</sup>, Juan Anguita<sup>2</sup>, Rosa M Alonso<sup>3</sup>, Nancy P. Keller<sup>5,6</sup>, Andoni Ramirez-Garcia<sup>1</sup>, Aitor Rementeria<sup>1</sup>

(1) Fungal and Bacterial Biomimics Research Group. University of the Basque Country (UPV/EHU), Department of Immunology, Microbiology and Parasitology, Faculty of Science and Technology, Barrio Sarriena s/n, 48940, Leioa, Spain

(2) Inflammation and Macrophage Plasticity Laboratory, CIC bioGUNE-BRTA (Basque Research and Technology Alliance), Derio, Spain

(3) FARMARTEM Group. University of the Basque Country (UPV/EHU), Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science and Technology, Barrio Sarriena s/n, 48940, Leioa, Spain

(4) University of Rovira i Virgili, Pathology Unit, Medicine and Health Science Faculty, Reus, Tarragona

(5) University of Wisconsin, Department of Medical Microbiology and Immunology, Madison, WI 53706, USA

(6) University of Wisconsin, Department of Bacteriology, Madison, WI 53706, USA

*Aspergillus fumigatus* es un hongo filamentoso saprófito de distribución aérea y mundial que puede causar un amplio rango de patologías. Para ello, el hongo cuenta con un arsenal de factores de virulencia, siendo la producción de toxinas uno de ellos. En un estudio transcriptómico previo, utilizando el microarray de genoma completo AWAFFUGE, descubrimos que el 67% de los genes del cluster biosintético de la fumagilina presentó sobre-expresión durante el proceso de infección de ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida. Mediante ensayos *in vitro*, utilizando las líneas celulares RAW 264.7 y A549 demostramos, utilizando un método de UHPLC, la capacidad diferencial de cada uno de estos tipos celulares para absorber la fumagilina cuando esta se al medio de cultivo. Además, el efecto de la toxina sobre las células fue diferente dependiendo de la línea celular. Mientras que los macrófagos RAW 264.7 sufrieron un descenso significativo de actividad de la cadena transportadora de electrones, de la viabilidad celular y de su proliferación, los neumocitos A549 sufrieron un descenso significativo de la actividad de la cadena transportadora de electrones, de su capacidad de migración y de su proliferación de una manera dosis dependiente. Estos efectos probablemente tienen lugar por la unión de la micotoxina a su diana, la enzima MetAP2. Finalmente, tras realizar un ensayo *in vivo* utilizando ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida, se observó que aquellos ratones infectados con la cepa mutante no productora de fumagilina presentaban menos carga fúngica en sus pulmones que los infectados con las cepas salvaje y complementada.

Financing: Financiación proyecto IT1362-19 GV. XG,UPC y SCS beneficiarias becas predoctorales UPV/EHU ó GV.

### Expresión heteróloga de complejos de señalización dependientes de receptores de tipo Toll en *Saccharomyces cerevisiae*

**Elba del Val**<sup>1</sup>, Julia M Coronas-Serna<sup>1</sup>, María Molina<sup>1</sup>, Victor Jiménez Cid<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza Ramón y Cajal s/n, Madrid, España

Los receptores de tipo Toll (TLR) son un tipo de receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRR) que transmiten la señal mediante la formación de macrocomplejos denominados SMOCs, los cuales amplifican la señal de manera sensible y rápida para poner en marcha la respuesta inmunitaria innata frente a patógenos. A pesar de la importancia que tiene la correcta formación de estos macrocomplejos para el desarrollo y equilibrio de la señalización celular, el conocimiento acerca de su dinámica, jerarquía de ensamblaje y regulación es incompleto. Con el objetivo de profundizar en este campo, en nuestro laboratorio hemos llevado a cabo la expresión heteróloga en el organismo modelo *S. cerevisiae* de distintos componentes de la vía de señalización dependiente de TLR4 en el ser humano, los cuales están naturalmente ausentes en la levadura. De todos ellos, únicamente las quinasas IRAK han mostrado toxicidad y, gracias al análisis de su perfil transcriptómico, hemos podido determinar que dan lugar a respuestas muy diferentes en la levadura. Por otro lado, hemos comprobado mediante co-inmunoprecipitación que se reproducen varias de las interacciones conocidas entre los distintos componentes, como la de IRAK4 y el adaptador MyD88. Asimismo, hemos observado que IRAK4 es reclutado a puntos citoplasmáticos en los que se concentra MyD88 en la levadura. Dichos puntos parecen localizarse muy próximos tanto a retículo endoplásmico como a mitocondrias, lo cual sugiere que puede estar situado en las uniones entre ambos orgánulos. Por todo ello, *S. cerevisiae* constituye una buena plataforma para el estudio funcional de SMOCs humanos.

Financing: Contrato predoctoral de la Universidad Complutense de Madrid y Beca PID2019-105342GB-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación.

**Hongos y Levaduras**  
E-poster

**Relevancia de la homeostasis del cobre en la patogenicidad de *Fusarium Oxysporum***

**Rafael Palos Fernández**<sup>1</sup>, Antonio Di Pietro<sup>1</sup>, Manuel Sánchez López-Berges<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Campus de Rabanales, Edificio Gregor Mendel, 1ª planta., Córdoba, España

*Fusarium oxysporum* infecta más de cien especies de plantas y produce infecciones oportunistas en humanos. MacA, un factor de transcripción esencial en la homeostasis del cobre, es un factor de virulencia en patógenos fúngicos animales. En este trabajo hemos estudiado la función de MacA en *F. oxysporum* generando un mutante nulo para este factor de transcripción (*macAΔ*), así como una cepa complementada. La cepa *macAΔ* no crece en condiciones limitantes de cobre (-Cu) y está afectada en la infección de plantas de tomate, siendo incapaz de colonizar eficientemente el tallo de las plantas. La baja expresión de los genes *ctr* (codifican transportadores de cobre de alta afinidad) en condiciones de infección de plantas, junto con las tasas de mortalidad similares en plantas infectadas con *macAΔ* independientemente de la presencia o ausencia de cobre en el agua de riego, sugiere que el papel de MacA en la virulencia no está relacionado con la limitación de cobre. Para dilucidar el papel de MacA durante la infección, estamos estudiando su relación con el estrés oxidativo y la actividad superóxido dismutasa. Aunque *macAΔ* crece de forma similar a la estirpe silvestre en medio con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y CuSO<sub>4</sub>, su actividad de SOD está extremadamente alterada en -Cu. Además, datos de RNA-seq demuestran que *sod3* está regulado transcripcionalmente por MacA. En resumen, la función de MacA como regulador de la homeostasis del cobre está conservada entre *Fusarium* y otros hongos; sin embargo, aún debe aclararse su papel en la patogénesis de las plantas.

Financing: Proyectos 27375-R (J.A.) a M.S.L.B., PID2019-108045RB-I00 (M.C.I.) a A.D.P. Ayuda FPU (M.C.I.U.) a R.P.F.

### Regulación y actividad del transportador Hak1 en *Candida albicans*

**Francisco J. Ruiz-Castilla**<sup>1</sup>, Elisa Rodríguez-Castro<sup>1</sup>, Laura Ramos-Moreno<sup>1</sup>, Francisco Ruiz-Pérez<sup>1</sup>, Gabriel Caro<sup>1</sup>, Fernando Calero<sup>1</sup>, José J. Aguilar<sup>1</sup>, Carmen Michán<sup>2</sup>, José Ramos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Córdoba, Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario CeIA3, Córdoba, España.

(2) Universidad de Córdoba, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario CeIA3, Córdoba, España

*Candida albicans* es un microorganismo comensal humano que fácilmente puede convertirse en un patógeno y producir bajo determinadas circunstancias enfermedades como la Candidiasis. Para la supervivencia de esta levadura es crucial que exista una homeostasis bien equilibrada del potasio, ya que este catión le es necesario para el correcto funcionamiento de diversas funciones fisiológicas como la regulación del pH, el potencial de membrana o la activación de distintas enzimas. Para cumplir esta misión, *C. albicans* posee tres transportadores de potasio en su membrana plasmática: Trk1, Acu1 y Hak1. En otras levaduras, Hak1 funciona como un simportador de K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> y es activado cuando las concentraciones de potasio en el medio son limitantes. Nuestros estudios sobre la absorción del potasio, el transporte de Rb<sup>+</sup> (análogo del K<sup>+</sup>) y la regulación transcripcional de los transportadores de *C. albicans* demuestran que mutantes *hak1* - presentan un defecto de crecimiento a pH ácido cuando se encuentran en bajas concentraciones de potasio. Este fenotipo se relaciona con una menor capacidad de transporte del catión a la vez que el mutante *hak1* - activa la expresión de *CaACU1* que codifica una ATPasa K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>. Adicionalmente, la cepa mutante *hak1* - muestra una mayor sensibilidad al catión tóxico litio a pHs ácidos. Nuestra hipótesis es que esta mayor sensibilidad se debe al defecto de transporte de potasio, que, en estas condiciones, se acumula en menores cantidades. En resumen, nuestros resultados demuestran la importancia de Hak1 en la homeostasis de potasio en condiciones de estrés por pH ácido y por limitación de potasio.

Financing: XXII Plan Propio Investigación, Universidad de Córdoba.

## Efecto de la interacción inter-específica de levaduras en la respuesta fenotípica y transcripcional al amonio durante la fermentación vínica

Javier Ruiz Ruiz<sup>1</sup>, Miguel de Celis<sup>1</sup>, María de Toro<sup>2</sup>, Ana Mendes-Ferreira<sup>3</sup>, Doris Rauhut<sup>4</sup>, Antonio Santos<sup>1</sup>, Ignacio Belda<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, Ciencias Biológicas, Calle José Antonio Novais 12, Madrid, España

(2) Plataforma de Genómica y Bioinformática, Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), Logroño, España

(3) Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, BioISI-Biosystems and Integrative Sciences Institute,, Portugal

(4) Hochschule Geisenheim University, Department of Microbiology and Biochemistry, Geisenheim, Germany

Durante el proceso fermentación vínica coexisten una gran diversidad de levaduras que, a través de la contribución metabólica directa y del efecto de la interacción entre ellas, son responsables de la producción de metabolitos que determinan la calidad sensorial del vino. El amonio, comúnmente empleado para suplir el déficit de nitrógeno del mosto, tiene un impacto negativo (por su papel clave en la represión catabólica por nitrógeno) en la producción de compuestos aromáticos en el vino. En este trabajo exploramos el efecto de la interacción entre dos especies de levaduras, *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspora delbrueckii*, bajo dos condiciones experimentales de nutrición nitrogenada; estudiando cómo la co-inoculación de ambas especies de levadura determina el efecto de la dosis de amonio en las cinéticas fermentativas, composición química del vino y perfil transcripcional de las levaduras. En primer lugar, se observó que, en condiciones de co-inoculación, se redujo el impacto de la alta concentración de amonio, tanto a nivel fenotípico (cinéticas fermentativas y metabolitos producidos), como transcripcional (número de genes diferencialmente expresados y fold-change acumulado). Además, se pudo definir la respuesta transcripcional de *S. cerevisiae* a la interacción con *T. delbrueckii* (principalmente relacionada con la activación de respuestas al estrés). Asimismo, se pudo determinar la respuesta a la dosis amonio en las dos especies (principalmente relacionada con la represión del uso fuentes de nitrógeno alternativas), observando que, aunque existe un patrón de respuesta transcripcional conservado en ambas especies, los genes sensibles a la represión por nitrógeno aparecieron menos reprimidos en *T. delbrueckii*.

Financing: Proyectos CDTI: IDI-20160102 (Agrovin SA) y IDI-20160750 (Pago de Carraovejas SL).



## La quinasa Slt2 juega un papel en la homeostasis del hierro a través de la regulación del factor transcripcional Aft1.

Núria Pujol Carrión<sup>1</sup>, Mónica Pavón Vergés<sup>2</sup>, Javier Arroyo Nombela<sup>3</sup>, Maria Ángeles de la Torre Ruiz<sup>4</sup>

(1) Universidad de Lleida, Ciencias Médicas Básicas, Medicina, Av Alcalde Rovira Roure, 80, Lleida, España

(2) Universidad Complutense de Madrid, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Av. Séneca, 2, Madrid, España

(3) Universidad Complutense de Madrid, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Av. Séneca, 2, Madrid, España

(4) Universidad de Lleida, Ciencias Médicas Básicas, Medicina, Av. Alcalde Rovira Roure, 80, Lleida, España

El hierro es un metal esencial involucrado en una serie de procesos biológicos comunes a todas las células eucariotas. Las células desarrollan mecanismos para regular estrechamente su homeostasis, con el fin de evitar la excesiva acumulación de dicho metal y la consiguiente toxicidad celular. En la levadura de gemación, el sistema de alta afinidad de captación de hierro está regulado por factor de transcripción Aft1. En este trabajo presentamos evidencias que demuestran que la MAP quinasa Slt2 de la vía de integridad celular (CWI) fosforila y regula negativamente la actividad del factor Aft1 en condiciones de déficit de hierro, tanto en condiciones fermentativas como respiratorias. Slt2 se une físicamente a Aft1 hecho que sugiere que se trata de una regulación directa, dado que hemos observado que la señal de escasez de hierro no se transmite a Slt2 a través de otras vías de señalización como TOR1, PKA, SNF1 o TOR2 / YPK1. Además nuestros resultados también demuestran que el mutante *slt2* presenta una vida cronológica más corta como consecuencia de la desregulación de Aft1.

## La nueva proteína Sca del hongo *Penicillium digitatum* mejora su virulencia y modula la actividad de la proteína antifúngica AfpB

Sandra Garrigues<sup>1</sup>, Jose F. Marcos<sup>1</sup>, Paloma Manzanares<sup>1</sup>, Mónica Gandía<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA-CSIC), Departamento de Biotecnología de Alimentos, C/ Catedrático Agustín Escardino 7, 46980 Paterna (Valencia), España

Las proteínas antifúngicas de hongos ascomicetos (AFPs) podrían contribuir al desarrollo de nuevas moléculas antimicóticas. Sin embargo, todavía se desconoce su papel biológico o sus interacciones funcionales con otras biomoléculas fúngicas. Nuestro grupo ha estudiado la proteína AfpB del patógeno de frutos cítricos *Penicillium digitatum*. Paralelamente, hemos identificado una proteína pequeña, secretada, rica en cisteínas y con carácter aniónico (Sca) correspondiente al gen PDIG\_23520 (sca) de *P. digitatum* CECT 20796. Sca está codificada en el genoma de distintos hongos filamentosos, pero hasta ahora no ha sido caracterizada. Los análisis de homología de secuencia identifican dos dominios diferenciados. El gen sca se expresa durante el crecimiento axénico y al inicio de la infección de *P. digitatum* sobre frutos. Las cepas deletantes ( $\Delta$ sca) y superproductoras (ScaOP) de Sca no muestran diferencias fenotípicas ni de patogenicidad con respecto a la cepa parental. Sca no tiene actividad antimicrobiana, sino que mejora el crecimiento de *P. digitatum* tras añadirse en cantidades superiores a 100  $\mu$ g/mL. Además, Sca potencia la actividad antifúngica de AfpB in vitro. La cepa ScaOP muestra una mayor incidencia de infección sobre frutos cítricos, al igual que ocurre al adicionar Sca purificada al inóculo de la cepa silvestre. Sca además compensa y contrapone el efecto protector de AfpB y el de la proteína PeAfpA del patógeno de manzana *Penicillium expansum* en ensayos de inoculación de frutas. Nuestro estudio muestra que Sca es una proteína nueva que mejora el crecimiento y la virulencia del hongo parental y modula la actividad de AFPs.

Financing: BIO2015-68790-C2-1-R y RTI2018-101115B-C21 del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCIU/AEI/FEDER, UE). PROMETEO/2018/066 de la Conselleria d'Educació (Generalitat Valenciana, España).

### Caracterización biológica y funcional de la proteína antifúngica PeAfpA del patógeno postcosecha *Penicillium expansum*

**Mónica Gandía**<sup>1</sup>, Sandra Garrigues Cubells<sup>1</sup>, Elena Moreno Giménez<sup>1</sup>, Moisés Giner Llorca<sup>1</sup>, Jose F. Marcos López<sup>1</sup>, Paloma Manzanares Mir<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Departamento de Biotecnología de Alimentos, Agustín Escardino 7, Paterna, 46980 Valencia, España

Las proteínas antifúngicas (AFPs) son pequeñas proteínas catiónicas ricas en cisteínas y secretadas al medio de cultivo por hongos filamentosos ascomicetos. Se separan en al menos tres clases filogenéticas (A, B y C) y son consideradas una alternativa muy prometedora como biomoléculas antifúngicas en medicina, agricultura y alimentación. *Penicillium expansum* es el principal patógeno postcosecha en frutos de manzana. Su genoma codifica tres AFPs, PeAfpA, PeAfpB y PeAfpC. Distintas cepas silvestres de *P. expansum* producen PeAfpA y PeAfpC en medio de cultivo líquido. Además, nuestro grupo ha conseguido la producción de las tres AFPs en cepas modificadas de *Penicillium chrysogenum*. Entre ellas, PeAfpA ha demostrado el mayor potencial antifúngico in vitro frente a diferentes hongos fitopatógenos, micotoxigénicos y dermatofitos, así como frente a levaduras. Además, PeAfpA es eficaz en el control experimental de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, incluyendo podredumbres en frutos cítricos y de manzana. Se ha abordado el estudio de la producción de las tres AFPs y la expresión de sus genes correspondientes en diferentes medios de cultivo. PeAfpA y PeAfpC se producen en tres de los ocho medios testados, mientras que PeAfpB no pudo ser detectada en ninguno de ellos. La fuente de carbono utilizada afecta a la expresión del gen *afpA*. La cepa de *P. expansum* deficiente en esporulación CECT 20908 (MD-8) no produce PeAfpA. Se obtuvieron cepas mutantes  $\Delta afpA$  y su caracterización fenotípica y patogénica no reveló ninguna diferencia respecto a la cepa parental ni tampoco patrones diferentes de producción de PeAfpB o PeAfpC.

Financing: Proyectos RTI2018-101115B-C21 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, fondos FEDER) y PROMETEO/2018/066 (Conselleria d'Educació, Generalitat Valenciana)

## Aislamiento e identificación de bacterias endófitas del jengibre con capacidad antifúngica frente a *Botrytis cinerea*

**Alejandro Bódalo Ponce**<sup>1</sup>, María Carbú Espinosa de los Monteros<sup>1</sup>, Carlos Garrido Crespo<sup>1</sup>, Victoria Eugenia González Rodríguez<sup>1</sup>, Hernando José Bolívar Anillo<sup>2</sup>, María Dolores Vela Delgado<sup>3</sup>, Ana Fernández Rodríguez<sup>1</sup>, Rogelio Borrego López<sup>1</sup>, Jesús Manuel Cantoral Fernández<sup>1</sup>

(1) Universidad de Cádiz, Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Avenida República Árabe Saharaui s/n, Puerto Real, España

(2) Universidad Simón Bolívar, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas, Carretera 59 No. 59-65, Barranquilla, Colombia

(3) Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, G. Ingeniería y Tecnología Agroalimentaria, Centro IFAPA Rancho de la Merced, Camino de Esparragosa s/n, Chipiona, España

El género *Botrytis* constituye un grupo de hongos fitopatógenos muy conocido, en el que podemos encontrar especies que parasitan diversas plantas. *Botrytis cinerea* es capaz de infectar a más de 1400 especies de plantas diferentes que causan la enfermedad conocida como 'podredumbre gris'. Los huéspedes de *B. cinerea* incluyen una gran variedad de plantas ornamentales, frutales, verduras y hortalizas, produciéndose grandes pérdidas económicas. En el presente trabajo, se estudió el tubérculo *Zingiber officinale*, perteneciente a la familia Zingiberaceae. Se utiliza en la cocina por su aroma y sabor especiado y en medicina. Este tubérculo refugia una gran cantidad de bacterias endófitas, pudiendo éstas desarrollarse en su interior sin causarle ningún tipo de daño manteniendo una estrecha relación simbiótica. El objetivo de este estudio es aislar y caracterizar las bacterias endofíticas que albergan la planta de jengibre, así como observar si alguna de estas bacterias pudiese inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea*. Se aislaron las bacterias que vivían dentro de la planta esterilizando previamente su superficie. Se cultivaron en medio adecuado y se enfrentaron al patógeno *B. cinerea*, calculándose el porcentaje de inhibición frente al hongo. Además, se extrajo ADN de cada una de las colonias bacterianas que presentaban morfología diferente y se realizó PCR de los genes que codifican la subunidad 16S de los ribosomas (ARNr 16s) y la subunidad beta de una ARN polimerasa bacteriana (*rpoB*) para caracterizarlas taxonómicamente después de ser secuenciadas. Su caracterización aclarará el potencial en la aplicación biotecnológica como agentes de control en infecciones fúngicas.

Financing: Este trabajo se ha financiado con los proyectos RETOS RTI2018-097356-B-C22 y FEDER-UCA 107713.

### Caracterización de mutantes de *Penicillium expansum* defectivos en la producción de patulina como posibles agentes de biocontrol.

**Belén Llobregat Pajarón<sup>1</sup>**, Luis González Candelas<sup>1</sup>, Ana Rosa Ballester Frutos<sup>1</sup>

(1) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA - CSIC), Dpto. Biotecnología, C/ Catedrático Agustín Escardino Benlloch, 7 - 46980 Paterna, Valencia, España

*Penicillium expansum* es uno de los hongos más estudiados del género *Penicillium* debido a su importante patogenicidad en frutos de pepita: origina la enfermedad postcosecha conocida como podredumbre azul. Entre la amplia gama de metabolitos secundarios (MS) que produce, la patulina es la micotoxina más investigada y mejor documentada. Esta micotoxina provoca numerosos efectos tóxicos, como citotoxicidad, mutagenicidad, genotoxicidad e inmunotoxicidad. Debido al riesgo sanitario que representa, la legislación establece límites a la presencia de patulina en distintos alimentos. El agrupamiento génico responsable de la biosíntesis de patulina en *P. expansum* está compuesto por 15 genes (*patA* - *patO*); siendo el gen *patK* el que codifica la primera enzima de la ruta de biosíntesis. Sin embargo, se sabe que el metabolismo secundario en hongos está regulado tanto por factores específicos de cada agrupamiento, como por factores reguladores globales. Entre estos, se encuentra la familia de proteínas reguladoras del complejo velvet (*VeA*, *VelB*, *LaeA*, entre otras), que coordina el desarrollo fúngico y la producción de MS. En el presente estudio hemos caracterizado la capacidad competitiva de mutantes de delección de los genes *veA* y *patK* frente a la cepa silvestre y su efecto sobre la producción de patulina. Los resultados obtenidos indican que los mutantes de delección desplazan a la cepa silvestre durante el crecimiento *in vitro* y, en consecuencia, hay una reducción de los niveles de patulina, con lo que se puede plantear el posible empleo de cepas de *P. expansum* no productoras de micotoxinas como agentes de biocontrol.

Financing: RTI2018-093392-A-I00 (AEI/FEDER, UE), JAEIntro2019-CSIC (JAEINT\_19\_01896), PRE2019-089326 y RYC-2017-22009.

## El análisis de 52 genomas fúngicos aclara la evolución de los estilos de vida de los Agaricales

**Francisco Javier Ruiz-Dueñas<sup>1</sup>**, José M. Barrasa<sup>2</sup>, Marisol Sánchez-García<sup>3</sup>, Susana Camarero<sup>1</sup>, Shingo Miyauchi<sup>4</sup>, Ana Serrano<sup>1</sup>, Dolores Linde<sup>1</sup>, Rashid Babiker<sup>1</sup>, Elodie Drula<sup>5</sup>, Iván Ayuso-Fernández<sup>1</sup>, Remedios Pacheco<sup>1</sup>, Guillermo Padilla<sup>1</sup>, Patricia Ferreira<sup>6</sup>, Jorge Barriuso<sup>1</sup>, Harald Kellner<sup>7</sup>, Raúl Castanera<sup>8</sup>, Manuel Alfaro<sup>8</sup>, Lucía Ramírez<sup>8</sup>, Antonio G. Pisabarro<sup>8</sup>, Robert Riley<sup>9</sup>, Alan Kuo<sup>9</sup>, William Andreopoulos<sup>9</sup>, Kurt LaButti<sup>9</sup>, Jasmyn Pangilinan<sup>9</sup>, Andrew Tritt<sup>9</sup>, Anna Lipzen<sup>9</sup>, Guifen He<sup>9</sup>, Mi Yan<sup>9</sup>, Vivian Ng<sup>9</sup>, Igor V. Grigoriev<sup>9,10</sup>, Daniel Cullen<sup>11</sup>, Francis Martin<sup>4</sup>, Marie-Nöelle Rosso<sup>12</sup>, Bernard Henrissat<sup>5,13</sup>, David Hibbett<sup>3</sup>, Angel T. Martínez<sup>1</sup>

(1) Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB), CSIC, Madrid, España  
 (2) Universidad de Alcalá, Departamento de Ciencias de la Vida, Alcalá de Henares, España  
 (3) Clark University, Biology Department, Worcester, MA, USA  
 (4) INRAE, Laboratory of Excellence ARBRE, Champenoux, France  
 (5) CNRS/Aix-Marseille University, Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, Marseille, France  
 (6) Universidad de Zaragoza, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular y BIFI, Zaragoza, España  
 (7) Technische Universität Dresden, International Institute Zittau, Zittau, Alemania  
 (8) Universidad Pública de Navarra (UPNA), Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Pamplona, España  
 (9) US Department of Energy (DOE) Joint Genome Institute (JGI), Lawrence Berkeley National Lab, Berkeley, CA, USA  
 (10) University of California, Berkeley, Department of Plant and Microbial Biology, Berkeley, CA, USA  
 (11) Forest Products Laboratory, US Department of Agriculture, Madison, WI, USA  
 (12) INRAE, Aix-Marseille University, Biodiversité et Biotechnologie Fongiques, Marseille, Francia  
 (13) King Abdulaziz University, Department of Biological Sciences, Jeddah, Arabia Saudita

Los Agaricomycetes han desarrollado complejas maquinarias enzimáticas que les permiten descomponer los diferentes polímeros vegetales, incluida la lignina. Entre ellos, los Agaricales saprótrofos se caracterizan por su diversidad de hábitats y estilos de vida. El análisis de 52 genomas de Agaricomycetes aquí realizado revela que los Agaricales poseen una gran diversidad de enzimas hidrolíticas y oxidativas para la descomposición de la lignocelulosa. En base a las familias de genes con mayor velocidad evolutiva (dominios de unión a celulosa, glicosil hidrolasa GH43, monooxigenasas líticas de polisacáridos, peroxidasas ligninolíticas, enzimas de la superfamilia de glucosa-metanol-colina oxidasas/deshidrogenasas, lacasas y peroxigenasas), reconstruimos los estilos de vida de los ancestros que dieron lugar a los actuales Agaricomycetes degradadores de lignocelulosa. Los cambios en el conjunto de herramientas enzimáticas de los Agaricales ancestrales se correlacionaron con la evolución de su capacidad para crecer no solo sobre madera, sino también sobre hojarasca de bosques y madera en descomposición, siendo los descomponedores de la hojarasca de praderas el grupo ecofisiológico más reciente. En este contexto, las anteriores familias de enzimas se analizaron en relación con la diversidad de estilos de vida. Las peroxidasas aparecen como un componente central del set enzimático de los Agaricomycetes saprotrófos, consistente con su papel esencial en la degradación de la lignina y sus altas tasas evolutivas. Esto incluye no solo expansiones/pérdidas de genes de peroxidasas, sino también la presencia generalizada en Agaricales de nuevos tipos de peroxidasas que no se encuentran en Polyporales degradadores de madera, y en otros órdenes de Agaricomycetes.

Financing: Proyectos/contratos BIO2017-86559-R, BIO2015-7369-JIN, AGL2014-55971-R, NSF-grant-1457721, CEFOX-031B0831B, PIE-201620E081, ANR-11-LABX-0002-01, US-DOE-DE-AC02-05CH11231



### Regulación de la autofagia en respuesta al déficit de glucosa en *Schizosaccharomyces pombe*.

**Armando Pérez-Díaz**<sup>1</sup>, Beatriz Vázquez-Marín<sup>1</sup>, Francisco Prieto Ruiz<sup>1</sup>, Elisa Gómez Gil<sup>1</sup>, Teresa Soto<sup>1</sup>, Alejandro Franco<sup>1</sup>, Jerónima Vicente-Soler<sup>1</sup>, José Cansado Vizoso<sup>1</sup>, María Isabel Madrid Mateo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Murcia, Departamento de Genética y Microbiología, Facultad de Biología, Campus de Espinardo nº20, Murcia, España.

Las células se encuentran sometidas habitualmente a fluctuaciones fisiológicas en su ambiente extracelular, por lo que han de ser capaces de adaptarse y sobrevivir a dichos cambios. Entre los distintos mecanismos adaptativos que se activan en estas condiciones destaca la autofagia. Uno de los estímulos pro-autofágicos más importantes es la privación de nutrientes esenciales, que promueve la degradación de moléculas y orgánulos propios para obtener precursores que serán usados para mantener la viabilidad celular. En *Saccharomyces cerevisiae* el principal estímulo pro-autofágico es un déficit en la disponibilidad de nutrientes esenciales como la glucosa y la fuente de nitrógeno, siendo las rutas TOR («Target of Rapamycin») y la mediada por la proteína quinasa A (PKA) dependiente de cAMP, las principales vías reguladoras implicadas en el control de la autofagia. Sin embargo, hasta el momento, el único estrés nutricional descrito capaz de inducir la autofagia en *Schizosaccharomyces pombe* es la privación de la fuente de nitrógeno. Curiosamente, los datos disponibles hasta la fecha sugieren que la privación de glucosa no es un estímulo pro-autofágico en *S. pombe*, contrariamente a lo que ocurre en *S. cerevisiae*. En este trabajo hemos explorado los mecanismos que regulan la autofagia en *S. pombe* en condiciones de déficit de glucosa. Los resultados mostraron que la autofagia se activa cuando las células se exponen a concentraciones limitantes de glucosa, permitiendo la transición de un metabolismo fermentativo a uno respiratorio.

Financing: ( BFU2017-82423-P ) REGULACIÓN POR MAPK QUINASAS DEL CITOESQUELETO DE ACTINA Y LA POLARIDAD CELULAR. CANSADO VIZOSO, JOSE Financiado por: MINECO

## Potencial probiótico de cepas de *Geotrichum candidum* aisladas de quesos

**Alan Omar Granados-Casas<sup>1</sup>**, Ana Fernández-Bravo<sup>1</sup>, Alberto Miguel Stchigel<sup>1</sup>

(1) Unidad de Microbiología, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, IISPV, Universidad Rovira i Virgili, Reus, Spain

*Geotrichum candidum*, un hongo utilizado en la elaboración de ciertos quesos, podría ser un interesante probiótico. Existen ciertos estudios sobre su actividad contra las infecciones bacterianas en peces, pero no en humanos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad probiótica de *G. candidum* aislado de diferentes tipos de queso. Doce cepas fueron aisladas de quesos e identificadas mediante secuenciación de la región ITS-LSU. Cuatro de dichas cepas fueron seleccionadas para evaluar su potencial antimicrobiano frente a siete bacterias patógenas mediante la técnica de "líneas cruzadas". También se estudió el efecto protector sobre un modelo in vitro de infección bacteriana utilizando una línea celular de macrófagos, evaluando la supervivencia intracelular de la bacteria y el daño celular mediante la liberación de la lactato deshidrogenasa. Los resultados demuestran que *G. candidum* tiene actividad antibacteriana y protectora sobre los macrófagos infectados, mostrando una reducción del número de bacterias, así como una disminución de la mortalidad de los macrófagos. Conclusión: *Geotrichum candidum* posee actividad antibacteriana y es capaz de reducir el daño ocasionado por las bacterias a los macrófagos.

### Funcionalidad de las proteínas quinasas humanas MEK5 y ERK5 en la Ruta de Integridad Celular (CWI) de *Saccharomyces cerevisiae*

**Beatriz G Lavilla**<sup>1</sup>, Teresa Fernandez-Acero<sup>1</sup>, Humberto Martín Brieva<sup>1</sup>, María Molina Martín<sup>1</sup>  
(1) Universidad Complutense de Madrid, Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Plaza Ramón y Cajal S/N, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040, Madrid, España

Las vías de señalización eucarióticas mediadas por MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases) juegan un papel fundamental en la regulación de diversos procesos celulares esenciales. En mamíferos destacan cuatro familias de MAPK, entre ellas la de Erk5 (Extracellular signal - Regulated protein Kinase 5), activada por Mek5 (o MAP2K5, Mitogen Activated Protein Kinase 5). Debido a su importancia en la señalización apoptótica, supervivencia y proliferación celular, así como en el mantenimiento del sistema cardiovascular, está implicada en varios tipos de cáncer y desarrollo de resistencia a quimioterapia, siendo objeto de estudio para el desarrollo de nuevas terapias antitumorales. El alto grado de conservación evolutiva de estas vías entre las especies eucariotas permite el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo modelo para el estudio de las proteínas humanas implicadas en la señalización MAPK mediante expresión heteróloga. Además, algunos estudios han sugerido que Erk5 es homóloga a Slr2 (1), la MAPK de la vía de la integridad de la pared celular (Cell Wall Integrity) en la levadura *S. cerevisiae*; y existe una gran similitud estructural entre ambas. En función de esto, mediante western blotting observamos que Erk5 es reconocida y fosforilada por una versión hiperactiva de una de las MAPKKs de Slr2 redundantes de la vía CWI de la levadura, Mkk1. Expresamos heterológamente Erk5 y su activador Mek5 en la levadura y estudiamos la fosforilación, localización y funcionalidad de ambas. (1) Truman AW et al., 2006.

Financing: Este trabajo ha sido posible gracias al contrato predoctoral UCM y la financiación del Ministerio de Ciencia e Innovación PID2019-105342GB-I00.

## Búsqueda de la fuente de contaminación de tricotecenos tipo A en avena. Una aproximación metagenómica

Jessica Gil Serna<sup>1</sup>, Belén Patiño Álvarez<sup>1</sup>, Covadonga Vázquez Estévez<sup>1</sup>, Ángel Medina<sup>2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, CC Biológicas, Jose Antonio Novais 12, Madrid, España

(2) Cranfield University, Environment and AgriFood, Applied Mycology Group, MK43 0AL, Cranfield, United Kingdom

Las toxinas T-2 y HT-2 son tricotecenos tipo A frecuentemente detectados en cereales de grano pequeño en Reino Unido donde son producidas fundamentalmente por *Fusarium langsethiae*. En los últimos años, los niveles de estas micotoxinas en España han aumentado de manera importante aunque no se ha podido reconocer cuál es la especie responsable de su producción. Para intentar esclarecer esta cuestión, en este trabajo se ha realizado una secuenciación NGS en 12 muestras de avena recogidas en España y 8 en Reino Unido para conocer la diversidad fúngica presente. Los resultados obtenidos demuestran la presencia de especies de *Fusarium* potencialmente productoras de toxinas T-2 y HT-2 en ambas localizaciones. Las especies del complejo *Fusarium tricinctum* fueron detectadas en la mayor parte de las muestras de avena recogidas en España. Distintos trabajos han descrito la capacidad de sintetizar tricotecenos tipo A en cepas de estas especies por lo que podrían ser su fuente en los cereales españoles. Además, se ha demostrado por primera vez la presencia de *F. langsethiae* en el sur de Europa en tres muestras de avena, sugiriendo el desplazamiento de esta especie desde el norte de Europa probablemente debido a las variaciones ambientales producidas en el marco del cambio climático. Por otro lado, las muestras de avena de Reino Unido, también presentaban especies del complejo *F. tricinctum* así como *F. langsethiae* aunque a niveles mucho mayores que en España por lo que el riesgo de que estén contaminadas por tricotecenos tipo A es muy elevado.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el convenio CAM-UCM, proyecto PR65/19-22428.

### Participación de un lncRNA en la regulación de la carotenogénesis en *Fusarium fujikuroi*

Javier Pardo-Medina<sup>1</sup>, Gabriel Gutiérrez<sup>1</sup>, M. Carmen Limón<sup>1</sup>, F. Javier Ávalos<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Genética, Biología, Av. Reina Mercedes, Sevilla, España

La síntesis de neurosporaxantina en *Fusarium* es un modelo bien estudiado para la regulación de la carotenogénesis en hongos filamentosos. Esta ruta se estimula por la luz mediante la activación transcripcional de sus genes, especialmente los organizados en un agrupamiento génico que están coregulados, y se reprime por la proteína CarS, cuya mutación da lugar a un fenotipo superproductor de carotenoides. En la región aguas arriba al gen *carS* se detectó mediante RNA-seq un transcrito potencialmente no codificante, que denominamos *carP*. La delección de este gen, no anotado previamente, provoca un fenotipo albino, causado por una fuerte caída en los niveles de ARNm de los genes estructurales de la carotenogénesis. Una combinación de análisis de dicha secuencia junto con los fenotipos de los mutantes de *carP* en *F. fujikuroi* y *F. oxysporum* descartaron su capacidad codificante. La reintroducción de la secuencia *carP* silvestre en el mutante de *F. fujikuroi* mostró que sólo la reintegración en su locus nativo permite recuperar la capacidad de producir carotenoides. Los estudios transcriptómicos en *F. fujikuroi* mostraron que la pérdida de *carP* afecta especialmente a genes fotoinducibles. Muchos de estos cambios parecen deberse al efecto cascada que provocan las modificaciones del nivel de transcripción de *carS*, pero los datos apuntan a que *carP* podría tener otras funciones como un elemento regulador independiente. En conclusión, nuestros datos muestran que *carP* participa como un lncRNA regulador en la producción de carotenoides en *Fusarium*, posiblemente a través del control de CarS por un mecanismo todavía por determinar.

Financing: Ministerio de Economía y Competitividad (BIO2015-69613-R), Ministerio de Ciencia e Innovación y Fondo Europeo de Desarrollo Regional-FEDER (RTI2018-101902-B-I00).

## Saccharomyces cerevisiae (uclm-3): potencial probiótico para la elaboración de alimentos funcionales

**Pilar Fernández-Pacheco**<sup>1</sup>, Beatriz García-Béjar<sup>1</sup>, Ana Briones Pérez<sup>1</sup>, María Arévalo Villena<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla-La Mancha, Dpto Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas, Avda. Camilo José Cela s/n, Ciudad Real, España

En los últimos años los consumidores han mostrado un claro interés por alimentos saludables y con propiedades funcionales. Con el fin de cubrir dicha demanda, el objetivo del presente trabajo fue proponer un producto enriquecido o suplementado con un microorganismo con carácter probiótico. Para ello, se escogieron dos cepas de levaduras probióticas (seleccionadas en estudios previos), *Saccharomyces cerevisiae* uclm-3 y *Hanseniaspora osmophila* uclm-1056, y en función de su viabilidad y vitalidad tras un proceso de liofilización, se seleccionó la mejor para incorporarla a una matriz alimentaria. El producto elaborado fue sometido a una evaluación sensorial por parte de consumidores. Los ensayos con distintas variables en el proceso de liofilización demostraron que las condiciones más apropiadas eran 400 mL de biomasa con 8% de trehalosa como agente crioprotector. La cepa con los mejores resultados fue *S. cerevisiae* uclm-3. Su incorporación a la matriz se realizó en una concentración de 10<sup>8</sup> células por porción alimenticia. El producto fue conservado a 15°C, en un lugar seco, comprobando su estabilidad durante 12 meses, periodo tras el cual se realizaron pruebas con consumidores (102 participantes). La prueba triangular mostró que la mayoría diferenciaba el producto al que se le adicionó la levadura de su homólogo sin ella. Sin embargo, gracias a las pruebas de preferencia se observó que el favorito era aquel que contenía el probiótico. Por lo tanto, se demuestra que el uso de la levadura uclm-3 con carácter probiótico para la elaboración de un alimento funcional es adecuado.

Financing: Junta de Comunidades de Castilla La-Mancha (Proyecto SBPLY/17/180501/000528).



### Estudio del efector VgrG4 de *Klebsiella pneumoniae* en la levadura modelo *Saccharomyces cerevisiae*

Sara López Montesino<sup>1</sup>, María Isabel Rodríguez Escudero<sup>1</sup>, Jose Bengoechea<sup>2</sup>, María Molina Martín<sup>1</sup>, Víctor Jiménez Cid<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Plaza de Ramón y Cajal, s/n, 28040, Madrid, España

(2) Queen's University Belfast, Wellcome-Wolfson Institute for Experimental Medicine, 97 Lisburn Road, Belfast, Northern Ireland

*Klebsiella pneumoniae* es un patógeno oportunista que causa principalmente infecciones respiratorias y del tracto urinario. La aparición de cepas hipervirulentas y multirresistentes a antibióticos demanda de forma urgente el desarrollo de alternativas terapéuticas. Esta bacteria expresa un sistema de secreción de tipo VI (T6SS) encargado de introducir efectores bacterianos en el interior de la célula diana, que constituye uno de sus principales factores de virulencia. Recientemente hemos identificado un nuevo efector de dicho sistema, una proteína con repeticiones valina-glicina (VgrG4) (Storey et al, 2020). Basándonos en los diferentes dominios descritos en la estructura primaria de VgrG4, en el presente trabajo caracterizamos los efectos de su expresión en el modelo eucariótico *Saccharomyces cerevisiae*. Mediante ensayos de crecimiento en medio sólido expresando los diferentes fragmentos de VgrG4 fusionados a GST en un vector de expresión para levaduras bajo el promotor inducible GAL1. Posteriormente, se eligieron las versiones tóxicas para estudios de localización subcelular mediante la fusión de estos a GFP y co-expresándolos con marcadores orgánulos fusionados a proteínas fluorescentes rojas. Los resultados mostraron que tanto la proteína completa como la versión truncada, que contiene únicamente el dominio C-terminal DUF2345, inhibían el crecimiento celular, mientras que aquellas que contenían el dominio N-terminal o una pequeña extensión C-terminal exclusiva de esta proteína VgrG, no afectaban al crecimiento. Los estudios de localización mostraron que las versiones tóxicas de VgrG4 se localizaban en membranas del retículo endoplasmático asociadas a mitocondrias.

Financing: Contrato cofinanciado por el FSE y programa de empleo joven de la CM y por el MICINN, proyecto PID2019-105342GB-I00.

## Integración de datos proteómicos de *Botrytis cinerea* bajo distintos estados de patogenicidad

Almudena Escobar Niño<sup>1</sup>, Inés María Morano Bermejo<sup>1</sup>, Rafael Carrasco Reinado<sup>1</sup>, **Francisco Javier Fernandez Acero<sup>1</sup>**

(1) Universidad de Cádiz, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigación Agroalimentaria (IVAGRO), Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Campus de Puerto Real, Puerto Real, España

*Botrytis cinerea* es uno de los hongos fitopatógenos más importantes. La estrategia de infección utilizada por el hongo comprende un gran conjunto de herramientas para superar las defensas de la planta, donde los receptores de membrana y las cascadas de señalización juegan un papel crucial. Nuestro grupo ha venido describiendo los proteomas y subproteomas del hongo en dos estados de patogenicidad. Estos estados son inducidos mediante la adición de glucosa como estado constitutivo; y pared celular de tomate desproteinizada (TCW) como inductor de patogenicidad. Todos estos datos aportaban una foto fija de los mecanismos usados por *B. cinerea* durante su ciclo infectivo. En este trabajo, todos estos datos han sido tratados de manera integrada para determinar las relaciones entre todos ellos. Con este análisis se identificaron 1.721 y 663 proteínas exclusivas o sobreexpresadas en presencia de glucosa o TCW, respectivamente. En el análisis GO, se observó un metabolismo más diverso y activo en glucosa. El análisis de interacciones proteína-proteína reveló 41 clusters en presencia de glucosa y 14 en presencia de TCW. De los clusters identificados en presencia de glucosa, identificamos agrupaciones relacionadas con la transducción de señales y la producción de toxinas, lo que coincide con la caracterización fenotípica de este hongo. Sólo se obtuvo un cluster relacionado con la transducción de señales bajo TCW, revelando una presunta DNMBP como potencial factor de patogenicidad/virulencia. El análisis del resto de clusters proporcionará información sobre el proceso de infección de *B. cinerea* y posibles candidatos a factores de patogenicidad/virulencia.

Financing: Programa de Fomento e Impulso de la actividad Investigadora de la Universidad de Cádiz (PR2020-002).

## Differential distribution and proteomic response of *Saccharomyces cerevisiae* and non-model yeast species to zinc

**Beatriz García-Béjar**<sup>1</sup>, Pilar Fernández-Pacheco<sup>1</sup>, Rebecca A. Owens<sup>2</sup>, Ana Briones Pérez<sup>1</sup>, María Arévalo Villena<sup>1</sup>

(1) Universidad de Castilla - La Mancha, Departamento Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Facultad Ciencias y Tecnologías Químicas, Avenidad Camilo José Cela, s/n, Ciudad Real, España

(2) Maynooth University, Departamento de Biología, Callan Building, Collegeland, Maynooth, Irlanda

Zinc surplus in yeast cells has been previously investigated thanks to transcriptomic studies by using traditionally *Saccharomyces cerevisiae* as a model. However, proteome response under zinc presence (zinc replete conditions) needs to be further studied not only in *Saccharomyces* species but also in non- *Saccharomyces*. For that reason, eight yeast strains from seven different species were inoculated in zinc depleted and zinc replete media. The quantitative and qualitative comparative label free proteomic analysis enabled the identification of between 2000 and 3000 proteins from each strain, and changes to the proteome ranged from 2.5% to 43.7% of identified proteins. Functional analysis (Blast2Go) has allowed the characterization of differentially abundant proteins. Common zinc responsive proteins have been detected for all strains such as oxidoreductases and transferases (increased in abundance) although most of the changes detected were not shared by all the strains tested. On the other hand, zinc distribution under replete conditions has been analysed in cell wall fractions (cytoplasm and intracellular organelles). Additionally, the energy dispersive spectroscopy coupled to the scanning electron microscopy technique has permitted the visualization of zinc in the whole cell. Proteomic analysis revealed that while there were some shared responses, the non model yeast species also showed distinct proteomic profiles in zinc replete conditions, compared to *S. cerevisiae*, revealing new zinc responsive proteins in yeasts.

Financing: Junta de Comunidades de Castilla - La Mancha y Fondo Social Europeo (EXP. SBPLY/16/180501/000098). Science Foundation Ireland [12/RI/2346 (3)]

## Aislamiento de microorganismos como potenciales agentes de biocontrol de hongos productores de micotoxinas en viñedo.

Paula de la Huerta Bengoechea<sup>1</sup>, Jessica Gil Serna<sup>1</sup>, Covadonga Vázquez Estévez<sup>1</sup>, Belén Patiño Álvarez<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Biología, Calle de José Antonio Novais, 28040, Madrid, Madrid, España

La presencia en cultivos de uva de micotoxinas, como la ocratoxina A, producidas por hongos del género *Aspergillus*, supone un problema para la seguridad alimentaria y la economía. El aumento de las temperaturas debido al cambio climático está provocando la aparición de problemas por otros tipos de micotoxinas como las aflatoxinas. El uso de microorganismos como agentes de biocontrol (ACB) es una de las estrategias más prometedoras para el control del crecimiento fúngico y la producción de toxinas en viñedos. En este trabajo, se aislaron 542 microorganismos entre hongos filamentosos, bacterias (incluyendo actinomicetos) y levaduras procedentes de suelos de viñedos ecológicos de diferentes regiones de España. Se identificaron 11 hongos entre los que había importantes productores de micotoxinas y un posible ACB (*Trichoderma* sp.). Con las 480 bacterias y 33 levaduras aisladas se realizó un cribado secuencial para seleccionar aquellas con las características más adecuadas para ser utilizados como ACB. En este cribado se evaluó su supervivencia en distintas condiciones del suelo, descartándose aquellas cepas que crecieron a 37°C para evitar la selección de potenciales patógenos humanos. Las 16 cepas que cumplieron todos los requisitos se identificaron mediante secuenciación. Se descartaron todas las levaduras por pertenecer al género *Cryptococcus* y se seleccionaron 9 cepas de 4 especies bacterianas para ensayar su potencial para controlar a los tres principales hongos productores de micotoxinas en uvas: *A. carbonarius*, *A. welwitschiae* y *A. flavus*. *Arthrobacter* sp., *Rhodococcus* sp. y *Mycetocola* sp. destacaron por su capacidad de reducir el crecimiento de los hongos indicados.

Financing: Trabajo financiado por el MICINN (RTI 2018-097593-B-C21).

### Una función para la MAPK Slt2 independiente de su presencia en el núcleo y su activación por Bck1

**Teresa Fernandez-Acero**<sup>1,2</sup>, María Molina Martín<sup>1,2</sup>, Humberto Martín Brieva<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Plaza de Ramón y Cajal s/n, Madrid, España

(2) Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria - IRYCIS, Madrid, España

Las cascadas de MAP quinasas (MAPK) articulan la interacción entre la célula y su medio ambiente. Su estructura, ampliamente conservada en eucariotas, consta de tres quinasas organizadas en niveles consecutivos, la MAPKKK, la MAPKK y la MAPK, que se fosforilan y activan secuencialmente. La MAPK en último término fosforila y activa distintos sustratos para ejecutar una respuesta celular adecuada al estímulo. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* posee cinco rutas de MAPK, una de las cuáles, la ruta CWI, le permite hacer frente a agresiones en la pared celular y situaciones de estrés, gracias a la activación de la MAPK Slt2. Una vez activada, Slt2 regula en el núcleo el perfil transcripcional necesario para la adaptación de la célula a dichas condiciones. También se localiza en sitios de crecimiento polarizado donde podría regular procesos morfogenéticos durante el ciclo celular. En este trabajo analizamos los efectos que se producen cuando se restringe la localización de Slt2 a la membrana plasmática mediante una señal de prenilación -CAAX. Slt2-CAAX tiende a concentrarse en sitios de crecimiento polarizado y se encuentra hiperfosforilada de forma basal. Aunque esta versión no logra complementar la falta de Slt2 en respuesta a la mayor parte de los estreses que inciden sobre la pared celular, sí lo hace frente a la zimoliasa, incluso en ausencia de la MAPKKK de la ruta CWI, Bck1. Estos resultados sugieren una función importante de Slt2 en la respuesta a diversos estreses de forma directa desde la membrana plasmática.

Financing: Trabajo financiado por el proyecto PID2019-105342GB-I00 (M. de ciencia, innovación y universidades).

## Una nueva clase de proteínas de la pared celular de *Candida glabrata* media la adhesión en aislados clínicos

María Teresa Blázquez Muñoz<sup>1</sup>, Jordan Fernández Pereira<sup>1</sup>, Viktoria Reithofer<sup>2</sup>, María Alvarado<sup>1</sup>, Lars-Oliver Essen<sup>2</sup>, Piet W J de Groot<sup>1</sup>

(1) Centro Regional de Investigaciones Biomédicas, Parque Científico y Tecnológico de Castilla-La Mancha, Micología Molecular, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España

(2) Philipps-Universität, Bioquímica, 35043, Marburgo, Alemania

La levadura *Candida glabrata* es el segundo agente etiológico de candidiasis. Su pared celular posee un gran y heterogéneo conjunto de manoproteínas de tipo adhesina, cruciales en su éxito como patógeno por su papel en la adhesión a superficies y la formación de biopelículas. Sin embargo, la mayoría de ellas, salvo las proteínas Epa, se encuentran aún sin caracterizar. En este estudio, analizamos la función biológica de adhesinas de los clústeres V y VI mediante un enfoque integral que incluye la caracterización fenotípica de mutantes de delección, expresión heteróloga en *Saccharomyces cerevisiae*, la generación de redes de similitud de secuencia (SSN) y la descripción de las estructuras tridimensionales de sus dominios funcionales. Mostramos que las adhesinas del clúster V, una de las familias más abundantes en la pared celular de *C. glabrata* junto con las proteínas Epa (clúster I), están estructuralmente relacionadas con las adhesinas del clúster VI. Los dominios A de Awp1 y Awp3b (clúster VI) presentan una estructura cristalina de hélice  $\beta$  paralela dextrógira unida a un sándwich  $\beta$  en el extremo C-terminal, que se asemeja al de las pectato liasas, aunque ni ensayos fenotípicos ni de unión a carbohidratos confirman la función de Awp1 y 3 como adhesinas. En contraste, el análisis fenotípico de Awp2 (clúster V) demuestra la clara importancia de esta proteína en la adhesividad a poliestireno, la agregación celular y otros fenotipos relacionados con la superficie celular.

Financing: SAF2013-47570-P y SAF2017-86188-P; SBPLY/19/180501/000114 y SBPLY/19/180501/000356, co-financiado por FEDER; Deutsche Forschungsgemeinschaft, SFB987.



## Relación entre la autofagia y la integridad del citoesqueleto de actina y microtúbulos en *Schizosaccharomyces pombe*

**Francisco Prieto-Ruiz<sup>1</sup>**, Armando Pérez-Díaz<sup>1</sup>, Beatriz Vázquez-Marín<sup>1</sup>, Elisa Gómez-Gil<sup>1</sup>, Jero Vicente-Soler<sup>1</sup>, Alejandro Franco<sup>1</sup>, Teresa Soto<sup>1</sup>, José Cansado<sup>1</sup>, Marisa Madrid<sup>1</sup>

(1) Universidad de Murcia, Departamento de Genética y Microbiología, Facultad de Biología, Facultad de Biología, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, Murcia, España

Los citoesqueletos de actina y microtúbulos juegan un papel esencial en el transporte de orgánulos y otras estructuras hacia localizaciones subcelulares precisas como los autofagosomas, donde se produce la degradación de moléculas y orgánulos propios para obtener precursores que serán usados para mantener la viabilidad celular. En células eucariotas superiores se ha descrito la existencia de una relación funcional entre los mecanismos que regulan la autofagia y los citoesqueletos de actina y microtúbulos. Sin embargo, existen escasas evidencias de esta relación en levaduras. Más concretamente, en *Saccharomyces cerevisiae* han observado que el citoesqueleto de actina es necesario para el correcto reclutamiento de PAS («Pre-autophagosomal Structure») en respuesta a la privación de fuente de nitrógeno. Por el contrario, no se ha encontrado una interacción similar entre la autofagia y la dinámica de microtúbulos. Resultados recientes de nuestro grupo han puesto de manifiesto que uno de los estímulos pro-autofágicos en *Schizosaccharomyces pombe* es el déficit de glucosa, cuyo control es mediado por la ruta de la Proteína Kinasa A, de la misma manera que ocurre en *S. cerevisiae*. Además, en *S. pombe* se ha observado que durante el ayuno de glucosa dicha ruta regula la estabilidad de microtúbulos. Con estos antecedentes, en este trabajo hemos intentado explorar una posible relación entre el citoesqueleto y la autofagia. Los resultados obtenidos muestran que alteraciones en la integridad del citoesqueleto de actina o de microtúbulos no intervienen en el correcto funcionamiento de los mecanismos de inducción de la autofagia.

**Microbiología Plantas**  
**Presentación Oral**

**Los sistemas de secreción tipo VI de *Pseudomonas fluorescens* F113 median la actividad bactericida y la adaptación al microbioma rizosférico.**

**David Vázquez-Arias**<sup>1</sup>, David Durán<sup>1</sup>, Patricia Bernal<sup>1,2</sup>, Esther Blanco-Romero<sup>1</sup>, Daniel Garrido-Sanz<sup>1</sup>, Miguel Redondo-Nieto<sup>1</sup>, Rafael Rivilla<sup>1</sup>, Marta Martín<sup>1</sup>

(1) Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Darwin, 2, Madrid, España

(2) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Avenida de la Reina Mercedes, 6, Sevilla, España

El genoma de *Pseudomonas fluorescens* F113, una rizobacteria modelo y agente promotor del crecimiento de las plantas, codifica tres sistemas de secreción tipo VI (T6SSs); F1-, F2- y F3-T6SS. El análisis bioinformático de los T6SSs de F113 revela que pertenecen al grupo 3, grupo 1.1 y grupo 4a, respectivamente y son similares a los descritos previamente en *Pseudomonas aeruginosa*. Además, los análisis *in silico* permitieron identificar genes codificantes de un total de cinco proteínas VgrG huérfanas y ocho posibles efectores (Tfe), algunos de ellos con sus pares de proteínas de inmunidad (Tfi). Los análisis de RNA-Seq en cultivo líquido y rizosfera revelan que los sistemas F1- y F3-T6SS se expresan en todas las condiciones, lo que indica que son sistemas activos, mientras que F2-T6SS no mostró ninguna expresión relevante en las condiciones probadas. El análisis de mutantes afectados en genes estructurales en los tres T6SSs muestra que los F1- y F3-T6SSs están implicados en la actividad bactericida mientras que el F2 no es activo en estas condiciones y su papel es aún desconocido. Un análisis de la colonización de la rizosfera del doble mutante afectado en los sistemas F1- y F3-T6SS mostró que el doble mutante estaba severamente perjudicado en su persistencia en el microbioma de la rizosfera, revelando la importancia de estos dos sistemas para la adaptación de la rizosfera.

Financing: Este trabajo se ha financiado mediante el proyecto RTI2018-093991-B-I00.

### Identificación a nivel genómico del perfil de quimiorreceptores asociado a la interacción con plantas

**Claudia Sanchis López**<sup>1</sup>, Jean Paul Cerna Vargas<sup>1</sup>, Saray Santamaría Hernando<sup>1</sup>, Cayo Ramos<sup>4</sup>, Tino Krell<sup>3</sup>, Pablo Rodríguez Palenzuela<sup>1,2</sup>, Emilia López Solanilla<sup>1,2</sup>, Jaime Huerta Cepas<sup>1</sup>, José J. Rodríguez Herva<sup>1,2</sup>

(1) Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), Universidad Politécnica de Madrid (UPM) - Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Parque Científico y Tecnológico de la UPM, 28223, Pozuelo de Alarcón, Madrid., España

(2) Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Biotecnología-Biología VEgetal, E.T.S de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Avda. Complutense s/n, 28040vda. Complutense s/n, 28040, Madrid, España

(3) Estación Experimental del Zaidín, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Department of Environmental Protection, Granada, España

(4) Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea 'La Mayora', Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Málaga, España

La detección de señales basada en proteínas quimiorreceptoras es uno de los principales mecanismos de transducción de señal en bacterias. Los quimiorreceptores bacterianos son proteínas que detectan estímulos del medio, mediante los dominios sensores (LBDs, ligand-binding domains), y desencadenan la generación de una respuesta celular, como la activación del flagelo. Estas proteínas juegan un papel fundamental en la adaptación de las bacterias a medios complejos, como en la interacción entre planta-bacteria durante los procesos de colonización e infección. A pesar de su importancia, los quimiorreceptores están escasamente estudiados desde un punto de vista filogenético y ecológico, además de desconocerse la mayoría de señales que detectan. En este trabajo, analizamos 82,277 quimiorreceptores extraídos de 11,806 genomas microbianos representativos de toda la filogenia procariota, proporcionando una clasificación de novo más detallada en base a la similitud de sus LBDs. Para ello, hemos desarrollado un protocolo bioinformático que extrae y agrupa en familias las regiones sensoras de cada quimiorreceptor según su topología y homología de secuencia. Mediante la construcción de una base de datos de 895 especies bacterianas asociadas a plantas identificamos familias de LBDs predominantemente existentes en estas bacterias. Aunque la mayoría de dichas familias están restringidas a géneros bacterianos únicos, nuestros análisis revelan ejemplos de LBDs claramente asociados a la interacción bacteria-planta y presentes en especies bacterianas de rangos taxonómicos distantes, pudiendo representar biomarcadores de esta asociación. Finalmente, demostramos cómo el perfil de quimiorreceptores de genomas completos puede informar sobre el estilo de vida de bacterias asociadas a plantas.

Financing: Claudia Sanchis-Lopez FPU-19/06635, Jean Paul Cerna-Vargas BES-2016-076452, Tino Krell BIO2016-76779-P; P18-FR-1621, Cayo Ramos AGL2017-82492-C2-1-R, Emilia López Solanilla RTI2018-095222-B-I00, Jaime Huerta-Cepas PGC2018-098073-A-I00

## Metabolomic and enzymatic profiling of tomato plants colonized by three halotolerant plant growth-promoting strains

**Miguel Rodríguez**<sup>1</sup>, Inmaculada Sampedro<sup>1</sup>, Victoria Béjar<sup>1,2</sup>, Cédric Cassan<sup>3,4</sup>, Guillaume Decros<sup>3</sup>, Amelie Flandin<sup>3,4</sup>, Pierre Pétriacq<sup>3,4</sup>, Yves Gibon<sup>3,4</sup>, Inmaculada Llamas<sup>1,2</sup>

(1) University of Granada, Microbiology Department, Pharmacy Faculty, Campus de Cartuja S/N, Granada 18071, Granada, España

(2) Biotechnology Institute, Biomedic Research Centre, Av. del Conocimiento S/N, 18100, Armilla, España

(3) University of Bordeaux, UMR BFP, INRAE, Bordeaux-Aquitaine Bât. IBVM 71, av. Edouard Bourlaux, Villenave d'Ornon, France

(4) Bordeaux Metabolome, MetaboHUB, PHENOME-EMPHASIS, Bordeaux-Aquitaine Bât. IBVM 71, av. Edouard Bourlaux, Villenave d'Ornon, Francia

Increasing world food demand together with soil erosion and the indiscriminate use of chemical fertilizers highlight the need for alternative tools to adopt sustainable crop production. Currently, one of the most promising strategy of the agricultural industry is the use of formulations containing plant growth-promoting bacteria (PGPB), beneficial microorganisms which colonize plants and promote plant growth through different mechanisms. In this study, we investigated the ability of the three halotolerant strains *Peribacillus* sp. N3, *Pseudomonas segetis* P6 and *Staphylococcus equorum* EN21 to colonize tomato roots, to promote their growth and their impact on the plant physiology through metabolomic and enzymatic approaches. Colonization analysis was determined by plate-count and by microscopy techniques after in vitro inoculation of tomato seedlings with each PGP strain. For growth-promoting assay, tomato seedlings were irrigated with each strain to let bacteria settle down. After treatments, biomass was determined and fresh material was analysed at Bordeaux Metabolome facility (INRAE, University of Bordeaux) using spectrophotometric and LC-MS techniques for enzymatic and metabolic profiling, in the frame of EU H2020 EPPN2020 project. Plate-counts and micrographs exhibited a dense colonization of tomato roots for all the treatments assayed and a significant increase in fresh biomass was observed in tomato plants. Regarding metabolomic and enzymatic analyses, plants treated with PGP strains exhibited a substantial increase in levels of enzyme capacities and metabolites involved in nitrogen metabolism. Overall, these results taken together with phytohormone profile, showed the ability of these strains to promote tomato plant growth.

Financing: Authors acknowledge financial support to Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2019-106704RB-100/AEI/10.13039/501100011033) and EU Horizon2020 Programme (Grant Agreement 731013).

### Papel de la matriz extracelular en la ecología de dos especies de *Pseudomonas* asociadas a plantas

Zaira M<sup>a</sup> Heredia Ponce<sup>1</sup>, José Antonio Gutierrez Barranquero<sup>1</sup>, Gabriela Purtschert<sup>2</sup>, Leo Eberl<sup>2</sup>, Antonio de Vicente Moreno<sup>1</sup>, Francisco Cazorla<sup>1</sup>

(1) Universidad de Málaga, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Bulevar Louis Pasteur, 31 (Campus Universitario de Teatinos), 29071, Málaga, España, Málaga, España

(2) Universidad de Zúrich, Department of Plant and Microbial Biology, Zollikerstrasse 107, CH-8008, Zúrich, Suiza, Zúrich, Suiza

Las formación de biopelículas es una característica universal en el mundo de vida bacteriano que desempeña un papel importante en la interacción bacteria-huésped y, por lo tanto, puede tener consecuencias ecológicas relevantes. En este trabajo se ha explorado el papel de diferentes componentes de la matriz extracelular en la formación de biopelículas y estilo de vida de dos especies de *Pseudomonas* asociadas a plantas. Por un lado, en la bacteria fitopatógena *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* UMAF0158 (PssUMAF0158), agente causal de la necrosis apical del mango, y por otro en el agente de biocontrol *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606 (PcPCL1606). De los resultados obtenidos cabe destacar que un polisacárido de tipo Psl, anteriormente sólo estudiado en *P. aeruginosa*, posee un papel importante en la arquitectura de la biopelícula de las dos cepas de estudio y la alteración de su producción afecta significativamente a sus estilos de vida. En la cepa PssUMAF0158, la formación de biopelículas parece ser más relevante durante su etapa epífita, ya que la alteración de su producción incrementa la virulencia de esta cepa. En PcPCL1606, la reducción en la adhesión temprana a superficie y la formación de biopelículas están relacionadas con una reducción de su actividad de biocontrol frente a la podredumbre blanca radicular del aguacate causada por el hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix*. Estos resultados destacan la importancia de la matriz extracelular de la biopelícula en la ecología bacteriana durante la interacción con planta.

Financing: P12-AGR-1473 (Junta de Andalucía), AGL2014-52518-C2-IR y AGL2017-83368-C2-I-R (Ministerio de Economía y Competitividad), todos parcialmente financiados por la Unión Europea (FEDER).

## Bacterias asociadas a plantas con actividad antagonista frente a *Erwinia amylovora* y otras especies de bacterias fitopatógenas

**Marta Orero-Bayo**<sup>1,2</sup>, Àngela Figàs-Segura<sup>1</sup>, Inmaculada Navarro-Herrero<sup>2</sup>, Silvia Barbé<sup>2</sup>, Ester Marco-Noales<sup>2</sup>, Elena G. Biosca<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Dr. Moliner, 50 E-46100-Burjassot, Valencia, España

(2) Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Carretera CV-315 km 10,7 - 46113 Moncada, Valencia, España

La diversidad microbiana, muy amenazada por la actividad humana, es un factor clave para prevenir la emergencia de microorganismos patógenos de plantas. La carencia de métodos eficaces de control de muchas enfermedades de plantas ha motivado la búsqueda de estrategias efectivas y ecosostenibles, como las basadas en la utilización de microorganismos como agentes de biocontrol. En este trabajo se han caracterizado cinco cepas bacterianas aisladas de diversos materiales vegetales, que fueron seleccionadas en estudios previos por su actividad antagonista, tanto in vitro como ex vivo, frente a *Erwinia amylovora*, bacteria causante del fuego bacteriano de las rosáceas. La actividad de los antagonistas se ha evaluado ahora frente a dos cepas de *E. amylovora* de diferentes orígenes en brotes de níspero y de peral. Se ha realizado un seguimiento de la aparición de síntomas, así como de la presencia del patógeno y del antagonista mediante aislamiento y PCR en tiempo real. Los resultados demuestran que los antagonistas son capaces de reducir la severidad de los síntomas del fuego bacteriano y retrasar su aparición, siendo el efecto más pronunciado con las cepas de *Pseudomonas azotoformans* y *Serratia plymuthica*. Se está estudiando el posible efecto sinérgico de los antagonistas más eficaces. Además, se ha evaluado la actividad antagonista in vitro de las cinco cepas frente a cepas bacterianas de distintas especies fitopatógenas, y 3 antagonistas inhibieron el crecimiento de 10 especies, incluyendo otras patógenas del peral. Estas cepas presentan un potencial de biocontrol que ha de ser ahora evaluado en condiciones de invernadero.

Financing: Proyectos RTA2015-00087-C02-01 y RTA2015-00087-C02-02, cofinanciados por el INIA, el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad y los Fondos FEDER.



### Caracterización del sistema de dos componentes GacS/GacA en *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.

**Carla Ariadna Lavado Benito**<sup>1</sup>, Marta Martínez-Gil<sup>1</sup>, Jesús Murillo Martínez<sup>2</sup>, Cayo Juan Ramos Rodríguez<sup>1</sup>, Luis Rodríguez Moreno<sup>1</sup>

(1) Universidad de Málaga, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Área de genética, Facultad de ciencias, Avenida Luis Pasteur N°49 20910, Campus de Teatinos, Málaga, España

(2) Universidad Pública de Navarra, IMAB, Mutilva Baja, E31192, Pamplona, España

El sistema de dos componentes GacS/GacA es considerado uno de los principales mecanismos de regulación global en bacterias. Mayoritariamente, los trabajos de caracterización del sistema GacS/GacA se han centrado en bacterias patógenas de plantas herbáceas, donde su papel en virulencia es variable entre distintas especies y cepas. En este trabajo, nos hemos centrado en la identificación de los factores de virulencia regulados por el sistema GacS/GacA en la bacteria modelo *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv), agente causal de la tuberculosis del olivo. Para ello, hemos llevado a cabo un análisis de secuenciación masiva del RNA (RNA-seq) utilizando la cepa silvestre Psv NCPPB 3335 y un mutante *gacA*. El análisis bioinformático de los resultados obtenidos muestra que el sistema GacS/GacA de Psv participa en la regulación de un gran número de genes, incluyendo varios factores de virulencia previamente descritos, como el sistema de secreción tipo III, las fitohormonas o una región genómica implicada en el catabolismo de compuesto aromáticos. Además, se han identificado los pequeños RNAs tipo Rsm y las proteínas reguladoras (RsmA) que participan en la cascada de regulación del sistema GacS/GacA. Finalmente, hemos realizado ensayos fenotípicos (ensayos de virulencia en planta, inducción de respuesta hipersensible, síntesis de auxinas, adhesión a hojas y translocación de efectores) para determinar la implicación de algunos de los factores de virulencia identificados por RNA-seq en la virulencia de Psv NCPP 3335.

Financing: Financiado por el proyecto AGL2017-82492-C2-1-R (MINECO, FEDER). Carla posee un contrato predoctoral FPI (PRE2018-084276.)

## Análisis funcional de la proteína de respuesta a estrés sHsp<sub>252</sub> en la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa

Lucía Domingo Serrano<sup>1</sup>, Marta Albareda<sup>1,2</sup>, José Manuel Palacios<sup>1,2</sup>

(1) Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP UPM-INIA)

(2) Universidad Politécnica de Madrid, Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, ETSIAAB

*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (Rlv) es una  $\alpha$ -proteobacteria capaz de establecer simbiosis fijadoras de N<sub>2</sub> con diversas leguminosas del grupo IRLC (Inverted Repeat-Lacking Clade). Estas leguminosas producen en los nódulos unos péptidos antimicrobianos (NCR) específicos de huésped que inducen la diferenciación de las células vegetativas a bacteroides, la forma endosimbiótica de la bacteria. Los péptidos NCR, junto con otras condiciones ambientales en el nódulo (ultramicroaerobiosis, "burst" oxidativo, etc) originan niveles acusados de estrés en los bacteroides. Estudios previos de proteómica comparativa en bacteroides inducidos por la cepa Rlv UPM791 en plantas de guisante (*Pisum sativum*) y lenteja (*Lens culinaris*) han demostrado que alrededor de 100 proteínas se expresan diferencialmente en función de la leguminosa hospedadora. Entre ellas se encuentran proteínas del tipo sHsp (small Heat Shock Protein), chaperonas que estabilizan otras proteínas parcialmente desnaturalizadas en respuesta a distintos tipos de estreses. El objetivo del trabajo es estudiar el papel de sHs<sub>252</sub>, que se expresa en bacteroides de guisante. Los resultados señalan que esta proteína se requiere para alcanzar niveles máximos de fijación de nitrógeno en plantas de guisante. Por otro lado, el análisis de la regulación de la expresión del gen sHsp<sub>252</sub>, ha mostrado que éste se induce en microaerobiosis y es dependiente del regulador microaeróbico FnrN. Asimismo, mediante experimentos de inducción controlada, se ha observado que sHsp<sub>252</sub> ejerce un efecto protector sobre la viabilidad de las células sometidas a un estrés oxidativo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Se están realizando estudios de copurificación mediante cromatografía de afinidad para identificar las dianas de sHsp<sub>252</sub>.

Financing: Proyecto MINECO (RTI2018-094985-B-I00). L.D.S es beneficiaria de una ayuda para contratos predoctorales para la formación de doctores (PRE2019-091327).

### Selección, aislamiento y evaluación de microorganismos PGPR del microbioma core de plantas de mora y arándano para desarrollo de bioinoculantes

**Rocío Vicentefranqueira**<sup>1,2</sup>, Zaki Saati-Santamaría<sup>1,2</sup>, Raúl Rivas<sup>1,2,3</sup>, Paula García Fraile<sup>1,2,3</sup>

(1) Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca, Salamanca, España.

(2) Instituto Hispano-Luso de investigaciones Agrarias (CIALE). Salamanca, España.

(3) Unidad asociada Universidad de Salamanca-IRNASA (CSIC), Salamanca, España.

Los biofertilizantes microbianos basados en microorganismos endófitos de plantas constituyen una alternativa al uso de fertilizantes químicos, perjudiciales para el medio ambiente y la salud. El consumo y cultivo de arándano y mora está en aumento por sus propiedades antioxidantes. Este trabajo busca mejorar su producción y contenido nutricional mediante el desarrollo de probióticos basados en cepas de su microbioma core (MC). Los microorganismos del MC, asociados al mismo tipo de planta, independientemente de su procedencia, podrían cumplir funciones relevantes para el hospedador. Así, se analizó el microbioma bacteriano del arándano y la mora, mediante secuenciación masiva de amplicones del gen 16S ARNr, a partir de muestras de rizosfera, raíz y hojas de cuatro localizaciones de la Península. Los resultados muestran gran biodiversidad y un MC representado por taxones como Chitinophagaceae, Bradyrhizobiaceae, Sinobacteraceae, Rhodoplanes, etc. Posteriormente, a partir de muestras de raíz, se aislaron e identificaron (MALDI-TOF y/o secuenciación del gen 16S) microorganismos endófitos, algunos pertenecientes a los géneros identificados en el MC (Tardiphaga, Sphingomonas, Caulobacter, etc). Tras eliminar cepas patógenas, se analizaron diversos mecanismos de promoción del crecimiento vegetal in vitro, siendo algunas de estas cepas capaces de solubilizar fosfatos, potasio, producir sideróforos e IAA. Las cepas más prometedoras serán utilizadas en ensayos in planta, para comprobar sus efectos sobre cantidad y calidad de producción de estos cultivos con el objetivo de seleccionar potenciales bioinoculantes, priorizando cepas del MC.

Financing: MICINN (PID2019-109960RB-100) y Programa de Investigación Estratégica de Unidades de Excelencia de la Junta de Castilla y León (CLU-2018-04).

## Un Transposón tipo-Tn7 confiere hiperresistencia a cobre en *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

José Antonio Gutiérrez-Barranquero<sup>1</sup>, Zaira Heredia-Ponce<sup>1</sup>, Francisco M. Cazorla<sup>1</sup>, Antonio de Vicente<sup>1</sup>

(1) Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora" (IHSM-UMA-CSIC), Universidad de Málaga, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Málaga, España

Los determinantes genéticos de la resistencia a cobre en cepas de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) aisladas del mango, se han descrito estrechamente asociados con plásmidos de 62 kb de la familia pPT23A. Se ha demostrado que el uso indiscriminado de compuestos derivados del cobre promueve la selección de cepas resistentes. En este trabajo se ha llevado a cabo el estudio de la evolución de los niveles de resistencia a cobre y la distribución de los determinantes genéticos específicos asociados a esta resistencia en dos poblaciones diferentes de Pss aisladas de mango, que han sido aisladas con una media de 20 años de diferencia. Curiosamente, se observó que el contenido total de plásmidos, en particular los plásmidos de 62 kb y que el número de cepas Pss resistentes a cobre se mantuvieron a niveles similares a lo largo del tiempo. Además, un análisis filogenético indicó la presencia de un subgrupo filogenético (PSG) dentro del filotipo diferenciado de Pss de mango compuesto principalmente por cepas aisladas recientemente y donde todas ellas presentaban un fenotipo hiperresistente a cobre. La secuenciación del genoma de dos cepas Pss seleccionadas de este PSG reveló la presencia de un transposón tipo-Tn7 de localización cromosómica, que contenía genes putativos relacionados con la resistencia a cobre y arsénico (este transposón se denominó COARS-Tn7). Experimentos de transformación con algunos genes putativos de resistencia a cobre presentes en el COARS-Tn7 y experimentos de RT-qPCR demostraron el papel fundamental de este transposón tipo Tn7 en la hiperresistencia a cobre de Pss.

Financing: Financiado por Junta de Andalucía (P12-AGR-1473), Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (AGL2017-83368-C2-1-R) y Programa Operativo FEDER Andalucía 2014-2020 (UMA18-FEDERJA-046).

**Microbiología Plantas**  
E-poster

**La gestión de microbiomas asociados a cultivos en rotación es esencial para aumentar productividad en rotaciones de leguminosa-cereal.**

Daniel Espinosa Sáiz<sup>1</sup>, Zaki Saati Santamaria<sup>1</sup>, Pedro F Mateos<sup>1,2</sup>, Encarna Velázquez<sup>1,2</sup>, **Esther Menéndez**<sup>1,3</sup>

(1) Departamento de Microbiología y Genética e Instituto Hispanoluso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Universidad de Salamanca, Salamanca, España

(2) Unidad Asociada Grupo de Interacción Planta-Microorganismo, Universidad de Salamanca-IRNASA-CSIC, Salamanca, España

(3) Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento (MED), Instituto de Investigação e Formação Avançada (IIFA), Universidade de Évora, Évora, Portugal.

La gestión de microbiomas en suelos agrícolas, impulsando la presencia de taxones bacterianos funcionalmente relevantes, mejorará el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos. El empleo de cepas nativas como biofertilizantes contribuye a la sostenibilidad de los sistemas agrícolas, lo que es de máxima importancia para su mantenimiento sin recurrir a fertilizantes químicos, los cuales tienen diversas implicaciones medioambientales negativas. En este estudio nos centramos en rotaciones de cultivos leguminosa-trigo en suelos agrícolas de Castilla y León (España). Se han analizado las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de cultivos de trigo en rotación, precedidos por distintas leguminosas. Para ello se ha combinado la secuenciación de metagenomas shotgun y de amplicones (16S ARNr) con el aislamiento de microorganismos. Las bacterias aisladas se han identificado y caracterizado in vitro e in planta en base a sus propiedades de promoción de crecimiento vegetal y a su potencial de proteger a la planta frente a estreses bióticos y abióticos. Los taxones más abundantes pertenecen a los filos Actinobacteria, Firmicutes, y Proteobacteria (clase Alpha- y Gamma-Proteobacteria). Los géneros *Microbacterium*, *Peribacillus*, *Pseudomonas* y *Rhizobium* son los más abundantes, encontrándose cepas pertenecientes a especies de estos géneros con un gran potencial de promoción vegetal y biocontrol. Algunos de estos aislados se formularán como biofertilizantes para su aplicación en suelos agrícolas con rotaciones leguminosa-cereal con el fin de mejorar la productividad y de mantener la salud y sostenibilidad de dichos suelos y cultivos.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el programa EUROPEAN UNION'S HORIZON 2020 Marie Skłodowska-Curie Actions (Grant Agreement nº 897795).

## Caracterización in silico de componentes de la matriz extracelular en *Pseudomonas fluorescens* F113 y distribución filogenética en el género *Pseudomonas*

**Esther Blanco-Romero**<sup>1</sup>, Daniel Garrido-Sanz<sup>1</sup>, Rafael Rivilla<sup>1</sup>, Miguel Redondo-Nieto<sup>1</sup>, Marta Martín<sup>1</sup>  
(1) Universidad Autónoma de Madrid, Biología, Ciencias, Calle Darwin 2, Madrid, España

Las biopelículas son estructuras complejas de gran importancia en los procesos de interacción y colonización bacteria-huésped. Las bacterias dentro de estas biopelículas se encuentran embebidas en una matriz extracelular (ECM) típicamente compuesta de proteínas, polisacáridos, lípidos y ADN. En el género *Pseudomonas* se han descrito diversos componentes de la ECM. Sin embargo, la composición de la ECM en *Pseudomonas* asociadas a plantas no es tan conocida. En este trabajo hemos empleado métodos in silico para llevar a cabo la descripción de componentes de la ECM en la rizobacteria promotora del crecimiento vegetal *Pseudomonas fluorescens* F113. Este estudio ha permitido observar que el genoma de esta bacteria contiene múltiples genes que codifican proteínas necesarias en la síntesis de polisacáridos, proteínas extracelulares o estructuras proteicas, entre los que se incluyen los polisacáridos alginato, poli-N-acetilglucosamina y levano, las adhesinas LapA y MapA, la epimerasa extracelular PsmE y las proteínas amiloides funcionales de *Pseudomonas*. Además, hemos identificado dos nuevos componentes, el Polisacárido ácido de *Pseudomonas* (Pap) y un nuevo tipo de pili Flp/Tad, cuya presencia está limitada al complejo de especies de *Pseudomonas fluorescens*. Por otro lado, en este trabajo se ha estudiado la distribución filogenética de los componentes de la matriz extracelular más relevantes en casi 600 genomas de *Pseudomonas*. Este análisis muestra que las bacterias pertenecientes a este género contienen una gran diversidad de genes potencialmente implicados en la formación de sus ECMs, con una cierta especialización atendiendo a si presentan un estilo de vida comensal o patógeno.

Financing: - Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades FEDER/EU (RTI2018-093991-B-I00). - FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (FPU16/05513).



## Biocontrol de fitopatógenos utilizando bacterias halotolerantes del género *Bacillus* con actividades quorum quenching y promotoras del crecimiento vegetal

**Carlos Enguidanos**<sup>1</sup>, Amalia Roca Hernandez<sup>1</sup>, Jordi Calafat Soriano<sup>1</sup>, Inmaculada Sampedro Quesada<sup>1</sup>, Inmaculada Llamas Company<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus Universitario de Cartuja s/n, 18071, Granada, España

(2) Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones Biomedicas (CIBM), Universidad de Granada, Avenida del Conocimiento s/n, 18016, Granada, España

La expresión de los genes de virulencia en numerosas bacterias gram negativas está regulada por sistemas de comunicación tipo quorum sensing (QS) dependientes de moléculas señal del tipo N-acilhomoserina lactonas (AHLs). En base a este hecho, la interferencia de los sistemas QS en los microorganismos patógenos, se propone como una alternativa innovadora y sostenible al uso de antibióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Entre las distintas formas de inhibir la comunicación bacteriana, la degradación de las AHLs mediante enzimas quorum quenching (QQ), está proporcionando resultados muy prometedores en la atenuación de la virulencia de patógenos tanto en ensayos in vitro como in vivo. En este trabajo se ha evaluado la actividad QQ de cuatro bacterias halotolerantes pertenecientes al género *Bacillus*, aisladas de la parte aérea y la raíz de diferentes plantas halófilas del ambiente hipersalino del Saladar de El Margen (Granada), frente a varios patógenos bacterianos que causan enfermedades de importancia en plantas de relevancia agronómica. Para ello, se determinó el rango de AHLs que degradaban las bacterias objeto de estudio, incluyendo las AHLs producidas por los patógenos, y el tipo de enzima responsable de la actividad QQ. Por otra parte, mediante pruebas metabólicas se comprobó que todas las bacterias mostraron numerosas actividades beneficiosas para la promoción del crecimiento de las plantas. Finalmente, las bacterias se utilizaron en cocultivo con fitopatógenos en ensayos de virulencia in vitro e in vivo y se evaluó el efecto de la deficiencia de la producción de AHLs en la virulencia.

Financing: Financiación: PID2019-106704RB-100/AEI/10.13039/501100011033

## Plantas halófitas como fuentes de nuevas PGPB

**Salvadora Navarro-Torre<sup>1</sup>**, Miguel Ángel Caviedes<sup>1</sup>, Eloísa Pajuelo<sup>1</sup>, Ignacio D. Rodríguez-Llorente<sup>1</sup>  
(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, C/Profesor García González, 2, Sevilla, España

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) presentan ciertas propiedades que mejoran el crecimiento de las plantas, por lo que son una herramienta natural para ser utilizadas como biofertilizantes, mejorando el crecimiento de los cultivos o incluso permitiendo el desarrollo de cultivos agrícolas en suelos degradados, y también como herramientas de fitorremediación, ayudando a que las plantas fitorremediadoras mejoren su capacidad para remediar suelos degradados. Durante el aislamiento de bacterias rizosféricas y endofíticas de *Arthrocnemum macrostachyum*, una halófito que crece en las marismas del río Odiel (Huelva), algunos de los aislados presentaron un porcentaje de identidad, en su secuencia del gen ARNr 16S, menor del 99% con bacterias previamente descritas, por lo que se procedió a identificarlas como nuevas especies. Después de la realización de estudios fenotípicos, bioquímicos, taxonómicos, quimiotaxonómicos y genómicos, se han determinado 6 especies nuevas pertenecientes al microbioma de *A. macrostachyum*: *Kushneria phyllosphaerae*, *Kushneria endophytica*, *Vibrio palustris*, *Halomonas radialis*, *Bacillus arthrocnemi* y *Pseudoalteromonas rhizosphaerae*. Todas presentaban propiedades PGP y 4 de ellas pertenecieron a los consorcios que mejoraron la germinación y el crecimiento de *A. macrostachyum* en presencia de metales pesados, además de mejorar su capacidad fitoestabilizadora. Además de estas bacterias, otros autores han descrito especies nuevas aisladas del microbioma de halófitas con propiedades PGP. Con todo esto se concluye que el microbioma de las plantas halófitas parece ser una fuente interesante para la búsqueda de nuevas PGPB que puedan ser utilizadas como herramientas de fitorremediación o como biofertilizantes.

## El Saladar de El Margen, ambiente hipersalino fuente de bacterias con actividad promotora del crecimiento vegetal y capacidad de biocontrol

**Inés Castillo Rodríguez**<sup>1</sup>, Miguel Rodríguez<sup>1</sup>, Ana Durán-Viseras<sup>1</sup>, Inmaculada Llamas<sup>1,2</sup>, Inmaculada Sampedro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus Universitario de Cartuja s/n, 18071, Granada, España

(2) Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM), Universidad de Granada, Avenida del Conocimiento s/n, 18016, Granada, España

Los hábitats hipersalinos son ambientes extremos distribuidos por todo el planeta y muy abundantes en España. Muchos de estos ambientes son espacios protegidos de gran valor ecológico que alojan una diversidad biológica de máximo interés, destacando las bacterias halotolerantes por su posible uso en agricultura. En numerosos fitopatógenos bacterianos, muchos de los factores de virulencia están regulados por los sistemas quorum sensing (QS), un sistema de comunicación intercelular mediado por la producción de moléculas señal del tipo N-acilhomoserina lactonas (AHLs). La degradación enzimática de estas moléculas, denominada quorum quenching (QQ), constituye una interesante estrategia para el control de estos patógenos. Estos sistemas se han descrito en muchas bacterias, pero no se conocen en profundidad en bacterias halotolerantes. El objetivo principal de este estudio fue evaluar la actividad promotora del crecimiento vegetal (PGP) de bacterias halotolerantes aisladas del Saladar de El Margen (Granada) y su actividad de degradación de AHLs. Para ello, se realizó un cribado con 42 bacterias basado en la realización de diferentes pruebas metabólicas y se seleccionaron 5 cepas con un gran potencial PGP, pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Psychrobacter*. Dicha actividad se confirmó con estudios *in vitro* e *in vivo* realizados con la planta modelo *Arabidopsis thaliana* y plantas de tomate, respectivamente. Por otra parte, se evaluó la actividad QQ de las cepas seleccionadas, frente a distintas AHLs sintéticas, así como AHLs producidas por fitopatógenos. Los ensayos de inhibición de la virulencia realizados con estas cepas en cocultivo con los fitopatógenos confirmaron su capacidad de biocontrol.

Financing: PID2019-106704RB-100/AEI/10.13039/501100011033

## Fitoprotección y fitoestimulación de plántulas de lechuga mediante la producción de Compuestos Orgánicos Volátiles a partir de cepas *Microbacterium* spp.

**Ana J. Toribio Gallardo**<sup>1</sup>, Francisca Suárez-Estrella<sup>1</sup>, Macarena M. Jurado<sup>1</sup>, Juan Antonio López-González<sup>1</sup>, Laura Arbeloa<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> José López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Almería. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, CIAIMBITAL, Dpto. Biología y Geología. Área de Microbiología, Facultad de Ciencias Experimentales, La Cañada de San Urbano s/n, 04120, Almería, España

El cultivo de lechuga se ha convertido en la tercera hortaliza española más exportada en el año 2020. *Botrytis cinerea* provoca una de las enfermedades más devastadoras y económicamente importantes en este cultivo (moho gris), afectando gravemente desde la fase de plántula. Gracias al control biológico surgen nuevas alternativas, ambientalmente sostenibles, como medida sustitutiva del uso de fitosanitarios químicos. En este sentido, la producción de Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) por parte de algunos grupos microbianos, los convierte en firmes candidatos para ser utilizados como agentes de control frente al moho gris de la lechuga. En este estudio se trabajó con una colección de 29 cepas identificadas como *Microbacterium* spp., del grupo de investigación BIO-175 de la Universidad de Almería. El objetivo fue determinar si, mediante la producción de COVs, éstas podrían inhibir el crecimiento *in vitro* de *Botrytis cinerea*, así como promover el crecimiento en semillas y plántulas de lechuga mediante la técnica de priming. En los ensayos *in vitro*, 5 cepas de *Microbacterium* spp. destacaron por inhibir en más de un 30% el crecimiento del micelio de *Botrytis cinerea*, aunque sólo 3 de ellas mostraron promoción de la germinación, obteniendo un incremento del peso radicular en torno al 45%, con respecto a los controles no tratados mediante priming. Por último, estas tres cepas fueron ensayadas *in vivo*, provocando efectos beneficiosos en el desarrollo aéreo y radicular de plántulas de lechuga, así como paliando los daños provocados por *Botrytis cinerea*.

### Actividad antagónica de hongos endófitos aislados de *Zingiber officinale* contra *Botrytis cinerea*

**Rogelio Borrego López**<sup>1</sup>, Alejandro Bódalo Ponce<sup>1</sup>, Victoria Eugenia González Rodríguez<sup>1</sup>, Carlos Garrido Crespo<sup>1</sup>, María Carbú Espinosa de los Monteros<sup>1</sup>, María Dolores Vela Delgado<sup>2</sup>, Hernando José Bolívar Anillo<sup>3</sup>, Ana Fernández Morales<sup>1</sup>, Jesús Manuel Cantoral Fernández<sup>1</sup>

(1) Universidad de Cádiz, Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Avenida República Árabe Saharaui, s/n. 11510, Puerto Real, España

(2) IFAPA Rancho de la Merced, Sede CHIPIONA., Camino Esparragosa s/n. 11550, Chipiona, España

(3) Universidad Simón Bolívar, Programa de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas, Barranquilla, Colombia

La podredumbre gris es una enfermedad causada por el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, que infecta una amplia variedad de plantas, causando importantes daños agrícolas. Algunos hongos (como el género *Trichoderma*) pueden inhibir el crecimiento de otros hongos, haciendo posible su uso como agentes de biocontrol. Los hongos endófitos son aquellos que viven dentro de una planta hospedadora sin dañarla, sino estableciendo una relación simbiótica con esta, obteniendo ambos beneficio mutuo. Estos hongos han sido ampliamente estudiados debido a su elevado potencial en biotecnología como, por ejemplo, agentes de biocontrol. El jengibre (*Zingiber officinale*), es una planta medicinal muy utilizada tradicionalmente en Asia, y alberga una amplia variedad de hongos endofíticos de elevado valor en biotecnología. Así, el objetivo de este estudio es encontrar hongos endofíticos del jengibre con capacidad para detener el crecimiento de *B. cinerea* e intentar encontrar posibles soluciones al problema de la enfermedad de la podredumbre gris. Aislamos siete especies diferentes de hongos de tubérculos de jengibre que fueron identificados mediante PCR. Los hongos se enfrentaron individualmente en placas de Petri contra *B. cinerea* con el fin de evaluar su actividad fungicida. Además, realizaremos algunas fermentaciones de los hongos de jengibre en diferentes tiempos y los extractos obtenidos serán enfrentados también contra *B. cinerea* para detectar si tienen propiedades antifúngicas. Analizamos algunos de los hongos y / o sus extractos para detener el crecimiento de *B. cinerea* con el propósito de descubrir nuevos métodos para controlar la podredumbre gris, evitando el uso de fungicidas químicos.

Financing: Este trabajo ha sido financiado con los Proyectos RETOS RTI2018-097356-B-C22 y FEDER-UCA 107713

## Mejora de la nodulación de *Medicago sativa* en suelos contaminados con metales pesados mediante la inoculación con PGPE.

**N. J. Flores-Duarte**<sup>1</sup>, S. Caballero-Delgado<sup>2</sup>, E. Pajuelo<sup>3</sup>, E. Mateos-Naranjo<sup>4</sup>, I. D. Rodríguez-Llorente<sup>5</sup>, S. Navarro-Torre<sup>6</sup>

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

(2) Universidad de Sevilla, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Calle Profesor García González 2, 41012, Sevilla, España

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

(4) Universidad de Sevilla, Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, 1095, 41012, Sevilla, España

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

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

La presencia de metales pesados en las marismas del Río Odiel (Huelva) es un grave problema ambiental y de salud. Con el fin de estabilizar los metales y mejorar la calidad del suelo, se han buscado herramientas sostenibles, donde la interacción planta-microorganismo juega un papel importante. Con este objetivo, se aislaron 33 bacterias del interior de nódulos de leguminosas crecidas en el estuario del Río Odiel. En base a la presencia de propiedades PGP, actividades enzimáticas y la tolerancia a metales pesados, se seleccionaron los mejores rizobios y no rizobios, identificados como *Pseudomonas gessardii* N4, *Pseudomonas* sp. N8, *Ensifer meliloti* N10 y *Ensifer mayense* N12. Se realizaron estudios *in vitro* con *Medicago sativa* en ausencia y presencia de metales, así como en macetas con suelos contaminados, con los siguientes tratamientos: control sin inocular, control inoculado con cada rizobio, co-inoculación con cada *Pseudomonas* y co-inoculación con un consorcio. Además, se estudió el efecto de las bacterias en la germinación. Los resultados obtenidos determinaron que la co-inoculación mostró mejores resultados tanto en porcentaje de germinación como en biomasa y nodulación de las plantas, siendo el mejor resultado el obtenido en presencia del consorcio, que en el caso de la nodulación mostró un 72% y un 100% más nódulos que los controles con N10 y con N12 sin metal, respectivamente. Estos resultados sugieren que la co-inoculación de leguminosas con PGPE son una herramienta útil para promover su crecimiento en suelos contaminados por metales pesados.

Financing: Proyecto FEDER18-1262036.



### Respuesta defensiva de la judía a la presencia de *Trichoderma* sp.

**Sara Mayo Prieto**<sup>1</sup>, Álvaro Rodríguez-González<sup>1</sup>, Guzmán Carro-Huerga<sup>1</sup>, Samuel Álvarez-García<sup>1</sup>, Alejandra J. Porteous-Álvarez<sup>1</sup>, Santiago Gutiérrez<sup>2</sup>, Pedro A. Casquero<sup>1</sup>

(1) Universidad de León, Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería Agraria y Forestal, Avenida Portugal, 41; CP 24009, León, España

(2) Universidad de León, Biología Molecular, Escuela de Ingeniería Agraria y Forestal, Avenida Astorga, s/n; CP 24401, Ponferrada, España

El control biológico representa un método alternativo eficaz frente al uso de fitosanitarios químicos sintéticos para la protección de cultivos. *Trichoderma* se ha utilizado con éxito en la agricultura tanto para controlar enfermedades fúngicas como para promover el crecimiento de las plantas. La respuesta de la planta a la invasión de hongos activa respuestas de resistencia defensiva como la inducción la expresión de genes y producción de metabolitos secundarios. El propósito de este trabajo ha sido analizar los cambios en el metaboloma y expresión génica de la judía (*Phaseolus vulgaris* L.) que ocurren durante su interacción con *Trichoderma*. En este trabajo, 216 compuestos se caracterizaron mediante análisis de espectrometría de masas por cromatografía líquida (LC-MS), pero solo 26 se observaron como significativamente diferentes en la interacción con el agente de biocontrol en comparación con las plantas de control y se caracterizaron tentativamente. En cuanto a los genes, se estudió la expresión de 14 genes relacionado con la respuesta defensiva de la planta, empleado la técnica de reacción de cadena de polimerasa cuantitativa (qPCR), de los cuales 12 tuvieron respuesta significancia respecto a las plantas control.

## Empleo de tecnologías ómicas para el análisis de la promoción del crecimiento de *Pisum* por rizobacterias en presencia de metales

**Lorena Carro<sup>1</sup>**, Carlos Garbisu<sup>1</sup>

(1) NEIKER – Instituto Vasco de I+D Agrario, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Departamento de Conservación de Recursos Naturales, Soil Microbial Ecology Group, Parque Científico y Tecnológico de Bizkaia, P812, Calle Berreaga 1, Derio, España

Uno de los problemas actuales de la agricultura es la limitación en el uso de algunos suelos debido, entre otras razones, a niveles de contaminación por encima de los valores umbral de seguridad alimentaria. Algunas prácticas agrícolas aumentan el contenido de metales pesados (MP) del suelo, representando una amenaza para el desarrollo agrícola. El uso de microorganismos como promotores del crecimiento de las plantas (PGP) se está incentivando desde hace tiempo, pero solo recientemente se ha propuesto para mejorar la tolerancia de las plantas a los MP. El requerido aumento de la producción y productividad agrícola hace necesario el estudio de estos mecanismos PGP en condiciones limitantes para así poder lograr una agricultura más eficiente y sostenible. En este estudio, se analizó el genoma de una actinobacteria para determinar su potencial de resistencia a MP y su capacidad PGP, tanto *in silico* como *in vitro*. Ambas capacidades se evaluaron en invernadero en plantas de guisante y se realizó, asimismo, un análisis transcriptómico para determinar los genes implicados más relevantes. De este modo, se constató la capacidad PGP de la cepa de estudio, así como su habilidad para colonizar los tejidos internos de *Pisum*, convirtiéndose así en endófito. Además, se ha confirmado la presencia de genes PGP y su correspondiente función fisiológica a nivel fenotípico. Finalmente, se observó una alta tolerancia a los MP y su acumulación en los tejidos internos de las plantas, y se identificaron varios genes implicados en estos procesos en el genoma y el transcriptoma de CR30.

Financing: Financiado por el Programa de Investigación e Innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea Marie-Sklodowska-Curie N° 832552.

## Identificación de una proteína clave en el control de la vida en superficie de *Sinorhizobium meliloti*

Lydia M. Bernabéu-Roda<sup>1</sup>, Nieves Calatrava-Morales<sup>1</sup>, Virginia Cuéllar<sup>1</sup>, Elizaveta Krol<sup>2,3</sup>, Anke Becker<sup>2,3</sup>, **María José Soto Misffut**<sup>1</sup>

(1) CSIC, Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos, Estación Experimental del Zaidín, c/ Profesor Albareda, 1; 18008, GRANADA, España

(2) Philipps-Universität Marburg, Center for Synthetic Microbiology (SYNMIKRO), Marburg, Alemania

(3) Philipps-Universität Marburg,, Department of Biology, Marburg, Alemania

La bacteria del suelo *Sinorhizobium* (Ensifer) *meliloti* establece simbiosis mutualista con plantas de alfalfa. Recientemente se ha descrito que, al igual que otros microorganismos, *S. meliloti* emite compuestos volátiles con propiedades biológicas relevantes. Uno de ellos, la 2-tridecanona (2-TDC), actúa como infoquímico afectando comportamientos bacterianos en superficie como la movilidad y la formación de biofilm a través de un mecanismo aún poco conocido. En *S. meliloti*, la presencia de 2-TDC volátil estimula una motilidad en superficie que es mayoritariamente independiente de acción flagelar. Para identificar genes bacterianos importantes en el mecanismo de acción de la 2-TDC se han aislado transposantes de *S. meliloti* insensibles a este compuesto. Uno de los mutantes identificados se encuentra afectado en un gen, *mkiG*, que codifica una proteína con dominios típicos de proteínas implicadas en el metabolismo del diguanilato cíclico (di-GMPc). El mutante muestra una movilidad swimming similar a la cepa silvestre pero se encuentra severamente afectado en el desplazamiento en superficie en ausencia o presencia de 2-TDC, además de mostrar gran capacidad de formar biofilm. La caracterización de mutantes con distintas versiones delecionadas de *mkiG*, experimentos de complementación, y aislamiento de mutaciones supresoras de los fenotipos causados por la inactivación del gen, demuestran que la homeostasis de di-GMPc es fundamental en el mecanismo de acción de 2-TDC y que *MkiG* es clave en el control de fenotipos asociados a la vida en superficie de *S. meliloti*.

Financing: Trabajo financiado por los proyectos BIO2013-42801-Py PGC2018-096477-B-I00 (MCIU/AEI/FEDER, UE), y BE 2121/8-1 (SPP 1879) (German Research Foundation).

## Estudio de las vías de señalización asociadas a la quimiopercepción en *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000

**Martí Munar Palmer**<sup>1</sup>, Saray Santamaría Hernando<sup>1</sup>, Jean Paul Cerna Vargas<sup>1</sup>, José Juan Rodríguez Herva<sup>1,2</sup>, Emilia López Solanilla<sup>1,2</sup>

(1) Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), UPM-INIA, Parque Científico y Tecnológico de la UPM, Pozuelo de Alarcón, Madrid, España

(2) Universidad Politécnica de Madrid, Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas (ETSIAAB), Avenida Puerta de Hierro, nº2-4, Madrid, España

La quimiotaxis y la motilidad bacteriana son características importantes para la patogénesis en plantas, especialmente en las etapas iniciales de la infección. *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000 (PsPto) es el agente causal de la peca bacteriana del tomate, y habita la superficie foliar desde donde ingresa al tejido vegetal por estomas, heridas u otras aperturas naturales. La adaptación al ambiente de la planta en la etapa inicial de la infección y la capacidad para alcanzar los puntos de entrada son esenciales para que se produzca una infección exitosa. El fenómeno de la quimiotaxis juega un papel fundamental en estos procesos. La ruta de señalización canónica de quimiopercepción es la que está asociada al fenómeno de quimiotaxis, siendo la quinasa CheA el elemento central de la misma. PsPto presenta 4 agrupaciones mayores y 5 menores de genes asociados a las vías de señalización relacionadas con la quimiopercepción. Nuestro grupo se centra en el estudio de los tres genes *cheA* presentes en PsPto: *cheA1*, *cheA2* y *cheA3*, que pertenecen a las agrupaciones génicas II, I y III respectivamente. Aunque las proteínas CheA se han caracterizado extensamente en el contexto de la motilidad bacteriana, se conoce poco acerca de su implicación en procesos alternativos, como la modulación de niveles de segundos mensajeros o la producción de biopelículas. Nuestro objetivo es entender qué otros procesos se regulan a través de las diferentes vías de quimiopercepción, así como analizar si existe conexión entre diferentes vías en la regulación de aspectos clave durante la infección de plantas.

Financing: RTI2018-095222-B-I00 del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. M.M.P está financiado con un contrato FPI con referencia PRE-2019-087521.

### Selección y caracterización de cepas de *Trichoderma* endófitas de trigo para aliviar el estrés hídrico de las plantas

**Alberto Pedrero-Méndez**<sup>1</sup>, Victor Hernández-Ruiz<sup>1</sup>, María Illescas<sup>1</sup>, Hernán Camilo Insuasti-Astudillo<sup>1</sup>, Rosa Hermosa<sup>1</sup>, Enrique Monte<sup>1</sup>

(1) Universidad de Salamanca, Departamento de Microbiología y Genética, Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Salamanca, España

*Trichoderma* es un hongo del suelo que coloniza la rizosfera de las plantas y algunas especies se establecen como endófitos. Este género, con más de 400 especies, contiene cepas de interés biotecnológico con interés comercial como agentes de biocontrol y bioestimulantes. En este trabajo se han obtenido 54 aislados fúngicos, mostrando diferentes fenotipos y secuencias ITS1, a partir de endosfera de raíz de plantas de trigo cultivadas bajo condiciones de no riego en campo (Illescas et al., 2020). Un ensayo de estrés hídrico simulado usando medio de cultivo adicionado con distintas concentraciones de PEG (0-40%) sirvió para seleccionar 19 cepas capaces de crecer en caldo PDB con PEG al 40%: 6 *Fusarium*, 4 *Trichoderma*, 3 *Actinomucor*, 2 *Alternaria*, 2 *Sordaria*, 1 *Rhizopus* y 1 *Monosporascus*. Las cepas de *Trichoderma* se identificaron molecularmente, en base a sus secuencias de la región ITS1-ITS4, el gen *tef1a* y el gen *acl1*, como: *T. harzianum* T136, *T. simmonsii* T137, *T. afroharzianum* T138 y *T. harzianum* T139. Estas cepas, aplicadas separadamente o como una mezcla al sustrato de crecimiento de la planta, se ensayaron en invernadero para determinar su capacidad para incrementar la tolerancia del trigo al estrés hídrico. Adicionalmente, en estas cuatro cepas se determinaron diferentes características bioquímicas relacionadas con los efectos positivos que *Trichoderma* ejerce sobre las plantas.- Illescas et al (2020). *Front. Plant Sci.* 11:575861

Financing: J. Castilla y León (contrato de AP-M, proyecto Escalera de Excelencia CLU-2018-04 AGROENVIRONMENT) y Ministerio de Ciencia e Innovación (RTI2018-099986-B-I00)

## Diseño de una comunidad microbiana sintética para estudiar las interacciones multitróficas de *Pseudomonas chlororaphis* en la rizosfera de aguacate

Rafael Villar-Moreno<sup>1</sup>, Francisco M. Cazorla<sup>1</sup>, Antonio de Vicente<sup>1</sup>, Eva Arrebola<sup>1</sup>

(1) IHSM-UMA-CSIC, Microbiología, Facultad de Ciencias, Boulevard Louis Pasteur nº31 cp.:29010, Málaga, España

Desde la rizosfera de aguacates sanos localizados en áreas afectadas por el hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix*, se han aislado de forma consistente bacterias de la especie *Pseudomonas chlororaphis* que muestran actividades de biocontrol y PGPR. Con la intención de profundizar en las interacciones multitróficas que pueden tener lugar entre este grupo de microorganismos en la rizosfera, se ha procedido al diseño y caracterización de una comunidad microbiana sintética formado por tres aislados procedentes de rizosfera de aguacate: *P. chlororaphis* PCL1606, *P. chlororaphis* PCL1601 y *P. chlororaphis* subsp. *piscium* PCL1607. Los estudios de compatibilidad y competitividad han determinado que estas tres cepas son compatibles. La caracterización incluye, además, los estudios de crecimiento en medios con sobrenadantes de otras bacterias, así como con exudados de raíz de aguacate o procedentes de cultivos de *R. necatrix*. Además, se evaluará la capacidad de formación de biofilm, la capacidad de movimiento swarming y swimming, tanto individual como en conjunto. Por último, se determinará la capacidad de colonización y persistencia en raíces de plántulas de aguacate, observándose el comportamiento individual frente al mostrado en la comunidad sintética.

Financing: AGL2017-83368-C2-1-R (MICINN) y UMA18-FEDERJA-046 (Junta de Andalucía), ambos fondos FEDER. FPU18/05672 (Ministerio de Ciencias, Innovación y Universidades).



## Implicación de dos sistemas de Quorum sensing en el biocontrol de *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606.

**Eva Arrebola**<sup>1</sup>, Sandra Tienda<sup>1</sup>, Rebeca Gadea-Fernández<sup>1</sup>, José Antonio Gutiérrez-Barranquero<sup>1</sup>, Francisco M. Cazorla<sup>1</sup>

(1) Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea IHSM-UMA-CSIC, Microbiología, Ciencias, Bulevar Louis Pasteur 31, cp 29010, Málaga, España

El Quorum sensing (QS) es un proceso de comunicación utilizado por las bacterias a través de la producción de pequeñas moléculas de señalización, siendo la acil-homoserina lactona (AHL) la principal molécula implicada en el QS. Una vez que la concentración de esta molécula alcanza un umbral, las AHL regresan al interior de la bacteria actuando como regulador genético, alterando la expresión de los genes diana. *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606 (PcPCL1606) es una rizobacteria del suelo aislada de la raíz del aguacate, localizado en cultivo afectado por el hongo del suelo *Rosellinia necatrix*. Esta bacteria antagonista tiene actividad antifúngica gracias a la producción del compuesto, 2 hexil, 5-propil resorcinol (HPR) y muestra, además, una eficiente colonización de las raíces de aguacates. En el análisis in silico de su genoma completo, se localizaron dos sistemas QS, estos dos sistemas han sido designados rhIRI y afmRI por su alto nivel de homología. El sistema rhI consta de un activador transcripcional putativo, RhIR, y RhII, que dirige la síntesis de N-butil homoserina lactona (AHL-C4). Por otro lado, el sistema afm está directamente implicado en la síntesis de N- (3-Oxohexanoil) -L-homoserina lactona (AHL-oxoC6). En estudios anteriores se realizaron mutantes por delección de sistemas QS completos, combinación rhI / afm y genes individuales. Estos mutantes se han utilizado para dilucidar la implicación de rhI y afm en la actividad de biocontrol de PcPCL1606 y su jerarquía en la regulación de genes.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por las ayudas AGL2017-83368-C2-1-R (MICINN) y UMA18-FEDERJA-046 (Junta de Andalucía), ambos con fondos FEDER.

## Valoración de dos tratamientos biológicos en el control de enfermedades postcosecha de mango y aguacate.

Sandra Tienda<sup>1</sup>, Antonio de Vicente<sup>1</sup>, **Francisco M. Cazorla**<sup>1</sup>, Emilio Guirado<sup>1</sup>, Eva Arrebola<sup>1</sup>  
(1) Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea IHSM-UMA-CSIC, Microbiología, Ciencias, Bulevar Louis Pasteur 31 cp 29010, Málaga, España

El mango es una fruta que tiene su origen en el sudeste asiático, que se ha extendido como cultivo con mucho éxito en la comarca de la Axarquía desde que se introdujo en la década de los ochenta. Poco después, el cultivo del aguacate se extendió por la región, siendo hoy por hoy, el 97% de la producción de aguacate de España, junto a Granada, Huelva y Cádiz. La producción de mango en 2019 fue de 34.000 toneladas, con un valor económico de 60 millones de euros. Por otro lado, la producción de aguacate en Andalucía, en la campaña 2019/20, ha superado las 81.000 toneladas, dando un valor de la producción de 190 millones de euros. La mayoría de los beneficios derivados de estos dos cultivos proceden de la exportación a los países europeos, como Bélgica o Luxemburgo, siendo la gran calidad de estas frutas, su principal carta de presentación. Las enfermedades postcosecha podrían hacer peligrar estas excelentes perspectivas, ya que patógenos potenciales que pueden viajar con las frutas, pueden desarrollar podredumbre durante el transporte y almacenamiento en los países de destino, cuando estas comienzan a madurar. En relación con esto, mango maduros y almacenados, han desarrollado podredumbre cuyo agente causal ha sido identificado en este estudio, así como la presencia de este agente en frutos de aguacate. La aplicación de tratamientos biológicos ha sido valorada como control de esta podredumbre postcosecha desde su aplicación en campo.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AT17\_5544\_UMA de la Junta de Andalucía

### Uso de marcadores genómicos para la búsqueda de cepas de *Micromonospora* asociadas a planta

**Raúl Riesco**<sup>1</sup>, Maite Ortúzar<sup>1</sup>, Martha E. Trujillo<sup>1</sup>

(1) Universidad de Salamanca, Departamento de Microbiología y Genética, Edificio Departamental de Biología, Lab 214, Campus Unamuno, Universidad de Salamanca, Salamanca, España

La denominación "Bacteria promotora de crecimiento vegetal" engloba a un amplio rango de bacterias que han evolucionado de maneras muy distintas para establecer una relación mutualista con la planta. *Micromonospora* es un género de bacterias comúnmente asociadas a suelos, pero que pueden establecer una relación endosimbiótica no específica con plantas, en especial leguminosas. A nivel genómico esta relación es compleja, con muchos de los factores PGP más comunes conservados. En los últimos años, hemos conseguido identificar marcadores genómicos en *Micromonospora*, permitiendo predecir a partir del genoma de una cepa su potencial de asociación con la planta. En este trabajo se ha procedido a la validación del modelo bioinformático propuesto mediante ensayos in-planta en *Medicago* y *Arabidopsis*. Para la validación, un total de setenta y ocho cepas de *Micromonospora* fueron inoculadas en alfalfa (*Medicago sativa*), en presencia y en ausencia de *Sinorhizobium meliloti* Sm1021. Adicionalmente, para probar los efectos de *Micromonospora* fuera de leguminosas, las cepas de estudio fueron inoculadas en *Arabidopsis thaliana*. Tras cuatro semanas, se midieron distintos parámetros de crecimiento vegetal (longitud de raíz y parte aérea, número de hojas, nódulos, etc.). Todos los resultados fueron comparados con las plantas control sin inocular y correlacionados con las predicciones in-silico. Los resultados de los ensayos in-planta han permitido respaldar las predicciones de nuestro modelo bioinformático, validando su capacidad para predecir cepas asociadas al modo de vida vegetal en base a su contenido genómico.

Financing: Proyecto: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (PGC2018-096185-B-I00). Contrato Postdoctoral (RR): Contrato POP USAL/Banco Santander.

## Evaluación de la actividad antifúngica de endófitos aislados de zarzamora frente a hongos fitopatógenos de los géneros *Botrytis* y *Fusarium*.

Rocio Roca Couso<sup>1</sup>, José David Flores Félix<sup>1,3</sup>, Paula García Fraile<sup>1</sup>, Raúl Rivas González<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Salamanca, Microbiología y Genética, Edificio Departamental de Biología, Plaza Doctores de la Reina SN, Salamanca, España

(2) Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias, Microbiología y Genética, Salamanca, España

(3) University of Beira Interior, Faculty of Health Sciences, Av. Infante D. Henrique, Covilhã, Portugal

Los hongos fitopatógenos, como *Botrytis cinerea* y *Fusarium* sp. son una de las principales amenazas hacia la agricultura, causando enormes pérdidas económicas a nivel mundial. Para atenuar su efecto, se ha recurrido a pesticidas químicos, que provocan un fuerte impacto medioambiental. Como alternativa sostenible han surgido los biopesticidas, que disminuyen los efectos negativos y aumentan la respuesta positiva de las plantas. El objetivo de este trabajo es la búsqueda de bacterias endofíticas con actividad antifúngica frente a *B. cinerea* y *Fusarium* sp. Así, evaluamos la producción de compuestos tanto difusibles como volátiles con actividad antifúngica en las 70 cepas aisladas del interior de plantas de zarzamora. Los resultados mostraron que el 54% de los aislados producían moléculas difusibles contra *B. cinerea* y el 51% contra *Fusarium* sp. Con respecto a los volátiles, el 19% y el 16%, respectivamente. A continuación, llevamos a cabo estudios *in silico* con las cepas seleccionadas para inferir los mecanismos responsables de las actividades encontradas *in vitro*. De esta manera, fueron anotados genes relacionados con la síntesis de enzimas líticas con capacidad de degradar la pared fúngica, como las endo- $\beta$ -1,3-glucanasas. También estudiamos la producción de metabolitos secundarios con capacidad antifúngica y encontramos que las cepas seleccionadas producían moléculas difusibles (bacillaene) y volátiles (diferentes terpenos). En conclusión, el interior de las plantas de zarzamora podría representar un nicho microbiológico a explorar en el que encontrar nuevas bacterias con capacidad de biocontrol, colaborando así con la lucha frente a dos de los fitopatógenos más importantes para la agricultura.

Financing: Proyecto PID2019-109960RB-100 (Ministerio de Ciencia e Innovación) Programas de Investigación Estratégica - Unidad de Excelencia de Junta de CyL (CLU-2018-04).

## Actividad antifúngica y promotora de crecimiento vegetal de bacterias aisladas del suelo y de la rizosfera de hábitats salinos

**Borja José Nadales Martín**<sup>1</sup>, Inmaculada Sampedro<sup>1</sup>, Laura Toral<sup>1</sup>, Marta Torres<sup>1</sup>, Inmaculada Llamas<sup>1,2</sup>, Victoria Béjar<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus de la Cartuja s.n. 18071, Granada, España

(2) Centro de Investigaciones Biomédicas, Instituto de Biotecnología, Avenida del Conocimiento s.n. 18016, Granada, España

En este trabajo se analizan las características metabólicas, la actividad antifúngica y la actividad promotora de crecimiento en planta modelo *Arabidopsis thaliana* y en tomate de 37 cepas aisladas de la rizosfera y suelo de diferentes hábitats. Igualmente, dichas cepas se identifican taxonómicamente mediante la secuenciación del gen 16S rRNA. El objetivo ha sido seleccionar bacterias con potencial aplicación en agricultura como biofungicidas y/o bioestimulantes. Las cepas estudiadas pertenecen mayoritariamente al género *Bacillus* siendo las especies *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. halotolerans* y *B. zhangzhounensis* las predominantes. La actividad antifúngica se ensayó frente a 10 de los fitopatógenos más relevantes en agricultura. La mayoría de las cepas inhiben en más de un 60% el micelio de los hongos *Monilia frutícola* y *Monilia laxa*. El hongo *Fusarium solani* y el oomiceto *Pythium ultimum* fueron inhibidos únicamente por el 13 y 32 % de las cepas. Las cepas *B. paralicheniformis* 470, *B. cabrialensis* 395 y *B. amyloliquefaciens* 542 presentaron una elevada actividad antifúngica frente a 5 de los hongos analizados. En general las cepas estudiadas presentan alta actividad enzimática (lipasas, glucanasas y proteasas), fijan nitrógeno y producen sideróforos. La actividad quitinasa es poco frecuente y ninguna de las cepas fue capaz de hidrolizar la celulosa. La cepa 539 perteneciente a la especie *B. amyloliquefaciens* presentó además actividad ACC desaminasa y fosfatasa (ácida y alcalina) e incrementó la biomasa aérea y radicular en tomate y *A. thaliana*. Por otra parte, mencionar que la cepa 482 probablemente constituya una nueva especie del género *Metabacillus*.

Financing: Ayuda a grupos de la Junta de Andalucía (grupo BIO 188 [www.ugr.es/~eps/es/](http://www.ugr.es/~eps/es/) ) convocatoria 2020

## Evaluación del potencial de *Rhizobium laguerreae* para mejorar la productividad y el contenido nutricional de *Lactuca sativa* L. en salinidad

**Miguel Ayuso Calles**<sup>1</sup>, Ignacio García Estévez<sup>2</sup>, Alejandro Jiménez Gómez<sup>1</sup>, José David Flores Félix<sup>1</sup>, María Teresa Escribano Bailón<sup>2</sup>, Raúl Rivas González<sup>1</sup>

(1) Universidad de Salamanca, Microbiología y Genética, Biología, Plaza Doctores de la Reina, SN, 37007, Salamanca, España

(2) Universidad de Salamanca, Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Farmacia, Campus Miguel de Unamuno, 37007, Salamanca, España

Actualmente, existe un consenso científico que indica que el actual modelo de producción y de consumo energético está implicado en el aumento del cambio climático. El impacto que provoca esta alteración climática global se traduce en diversas condiciones ambientales adversas, que afectan a la producción y rendimiento de los cultivos, como la salinidad del suelo. En este sentido, una de las alternativas para asegurar la productividad y sostenibilidad dentro de la agricultura es el uso de biofertilizantes, basados en rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR). La aplicación de microorganismos como fertilizantes se ha mostrado como una práctica interesante para mejorar el desarrollo y el contenido nutricional de los cultivos, incluso en situaciones de estrés. El objetivo de este trabajo fue la búsqueda de nuevas cepas bacterianas con potencial para mejorar el desarrollo de las plantas en condiciones de estrés salino. En primer lugar, se aisló una cepa de *Rhizobium laguerreae* a partir de nódulos de trébol blanco. Se demostró su capacidad para solubilizar fosfatos, producir sideróforos y ácido indolacético *in vitro*. A continuación, los ensayos de microscopía de fluorescencia mostraron que este aislado era capaz de colonizar el sistema radicular de la lechuga. Asimismo, mediante experimentos con plántulas, se pudo comprobar su capacidad para mejorar el crecimiento de estas. Por último, el ensayo en invernadero desarrollado bajo salinidad (100 mM NaCl), demostró que esta cepa ayuda a mitigar este estrés abiótico en la lechuga, e incluso a mejorar su contenido en compuestos bioactivos, como los ácidos fenólicos y los flavonoides.

Financing: AGL2015-70510-R (MINECO), VA2I/463AC06 (Diputación de Salamanca) y CLU-2018-04 (Programas Estratégicos de Investigación para Unidades de Excelencia de Junta de CyL).



### Efecto del fertirriego con estruvita y nitrato-amónico recuperados sobre la diversidad microbiana en suelo y sustrato en cultivo de tomate

**Mar Carreras-Sempere**<sup>1</sup>, Miriam Guivernau<sup>2</sup>, Rafaela Cáceres<sup>2</sup>, Carmen Biel<sup>1</sup>, Marc Viñas<sup>2</sup>

(1) Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (IRTA), Protección vegetal sostenible, Ctra. de Cabrils, km 2, E-08348, Cabrils, España

(2) Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (IRTA), Gestión Integral de Residuos Orgánicos (GIRO), Torre Marimon, Caldes de Montbui, España

La estruvita (EST) y el nitrato amónico (NA) son fuentes renovables de fósforo (P) y nitrógeno (N) obtenidos en procesos de recuperación de nutrientes en plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Su utilización en fertirrigación e impacto en la diversidad y funcionalidad de las poblaciones microbianas del suelo, o sustrato, de cultivo es poco conocido. En el presente estudio se han evaluado diferentes ratios de  $N-NH_4^+/N-NO_3^-$  de la solución nutritiva (SN) (0.02, 0.18 y 0.54) para tratamiento Control (CON), estruvita (EST) y estruvita con nitrato amonio (ESTNA), respectivamente, en dos sustratos, suelo y perlita, durante dos campañas agrícolas de cultivo de tomate en invernadero, en el marco del proyecto LIFE ENRICH. Se ha realizado un estudio de la diversidad microbiana de la rizosfera (Bacterias y Arqueas mediante 16SrDNA-MiSeq) y cuantificación de genes funcionales ligados a la amonioxidación de bacterias (AOB) y arqueas (AOA), juntamente con el seguimiento de la producción vegetal y emisiones de  $N_2O$ . Los resultados revelaron un incremento de las poblaciones amonioxidantes totales, principalmente de AOB, en los cultivos con una mayor fertilización amoniacal, tanto en suelo como en perlita, con claras diferencias en la ratio AOB/AOA según el tratamiento. El estudio de la diversidad microbiana reveló un efecto de la composición en N de la SN, con un enriquecimiento claro de Nitrospira en perlita, especialmente en los tratamientos con amonio disponible, que podría estar vinculado también al sustrato, la presencia de planta y las emisiones de  $N_2O$  observadas.

Financing: LIFE ENRICH (Enhanced nitrogen and phosphorous recovery from wastewater and integration in the value chain) [LIFE16 ENV/ES/000375]

## Comparación de los protocolos de PCR en tiempo real para la detección de *Xylella fastidiosa* en diferentes hospedadores vegetales

**Manuel Ros Sirvent<sup>1</sup>**, Ángela Figàs-Segura<sup>1</sup>, Mireia Bernabeu-Gimeno<sup>2</sup>, Elena González Biosca<sup>1</sup>, Ester Marco Noales<sup>2</sup>, Silvia Barbé Martínez<sup>2</sup>

(1) Universitat de València, Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Carrer del Dr. Moliner, 50, 46100 Burjassot, Valencia, Valencia, España

(2) Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, CV-315, Km 10,700, Valencia, Valencia, España

Las técnicas de detección son herramientas clave para prevenir la introducción de enfermedades emergentes, especialmente cuando no se dispone de tratamientos eficaces contra el organismo patógeno que las causa. En el caso de *Xylella fastidiosa*, especie bacteriana capaz de afectar a más de 595 especies vegetales diferentes, el protocolo actual de la European Plant Protection Organization (EPPO) para su diagnóstico describe diferentes protocolos de PCR en tiempo real, técnica considerada como gold standard en detección. En este trabajo se ha evaluado la sensibilidad y el límite de detección de cuatro protocolos de PCR en tiempo real descritos en EPPO (2019) en diferentes materiales vegetales seleccionados por su importancia agronómica, forestal y ornamental en la cuenca mediterránea. Para ello se inocularon extractos de material vegetal de diferentes especies botánicas y variedades (almendro, olivo, naranjo, limonero, mandarino, níspero, higuera, caqui, adelfa, encina y alcornoque), con especial atención a la detección y cuantificación en cuatro variedades de vid. Los resultados globales confirman que el protocolo descrito por Harper et al. (2010, erratum 2013) es el más sensible y el que menos afectado se ve por problemas de inhibición del material, mientras que el protocolo de Francis et al. (2006) es el de menor sensibilidad. En definitiva, se han observado algunas diferencias, atribuibles probablemente a la diana genética de cada uno de los protocolos y a la diferente composición de los extractos, que están analizándose actualmente mediante HPLC.

Financing: Proyectos XF-ACTORS, grant 727987, European Union's Horizon 2020 Framework Research Programme, E-RTA 2017-00004-C06-01 e Interprofesional del Aceite de Oliva Español

### Nueva herramienta de diagnóstico para la detección rápida de las tres especies de *Liberibacter* asociadas al HLB: RPA-universal-HLB

Félix Morán<sup>1</sup>, Silvia Barbé<sup>1</sup>, Mario Herrero-Cervera<sup>1</sup>, Bryant Davenport<sup>2</sup>, Ester Marco-Noales<sup>1</sup>

(1) Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Carretera CV-315 km 10,7, Valencia, España

(2) Agdia Inc, Research Scientist, County Road 1, Elkhart, Estados Unidos

El Huanglongbing (HLB) es la enfermedad más devastadora de los cítricos que se conoce, y compromete seriamente la supervivencia de la citricultura mundial. Se asocia a tres especies de bacterias fitopatógenas no cultivables: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus*, que son transmitidas por insectos vectores de la familia Psyllidae. El HLB se encuentra ampliamente distribuido en Asia, América y África, pero hasta el momento no se ha detectado en Europa, aunque sí uno de los vectores. Dado que el HLB no tiene cura, prevenir su diseminación es imprescindible para proteger nuestra citricultura. El uso de técnicas de detección precisas, sensibles y específicas es fundamental para evitar la introducción y el avance de la enfermedad. Actualmente, la qPCR es la técnica estrella para la detección del HLB, pero tiene limitaciones en cuanto a tiempo de análisis y equipamiento especializado. El objetivo de este estudio ha sido desarrollar una nueva herramienta diagnóstica molecular, basada en la amplificación isotérmica mediante el uso de recombinasas (RPA), que permita la detección in situ de las tres especies bacterianas asociadas al HLB. Los resultados demuestran que se obtiene amplificación de estas especies en menos de 30 minutos, sin necesidad de extracción de ADN ni de equipamiento costoso, con una muy buena especificidad, equiparable a los métodos basados en qPCR, y una sensibilidad de hasta 5 bacterias/ $\mu$ L de extracto. Por tanto, RPA-universal-HLB constituye una herramienta muy útil para el diagnóstico in situ de esta grave enfermedad de los cítricos.

## La rizobacteria *Pseudomonas alcaligenes* AVO110 induce genes relacionados con formación de biofilms en respuesta a exudados de *Rosellinia necatrix*

**Adrián Pintado**<sup>1,2</sup>, Isabel Pérez-Martínez<sup>1,2</sup>, Isabel Aragón<sup>1,2</sup>, Jose Antonio Gutierrez-Barranquero<sup>2,3</sup>, Antonio De Vicente<sup>2,3</sup>, Francisco Cazorla<sup>2,3</sup>, Cayo Ramos<sup>1,2</sup>

(1) Área de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Campus Teatinos, E-29010 Málaga, Spain

(2) Departamento de Microbiología y Protección de Cultivos, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC); Extensión Campus de Teatinos, 29010 Málaga, Spain

(3) Departamento de Microbiología, Universidad de Málaga, Campus Teatinos, E-29010 Málaga, Spain;

La rizobacteria *Pseudomonas alcaligenes* AVO110 muestra antagonismo frente al hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix*. Esta cepa coloniza eficazmente las hifas de *R. necatrix* y es capaz de alimentarse de sus exudados. Recientemente, hemos publicado la secuencia completa del genoma de *P. alcaligenes* AVO110. La filogenia de todos los genomas de *P. alcaligenes* disponibles separa los aislados ambientales, procedentes de agua, junto a la cepa AVO110, de los obtenidos de infecciones de sangre humana y de tejidos de ostras, que agrupan con *Pseudomonas otitidis*. Análisis del core y del pangenoma de *P. alcaligenes* han revelado que las cepas de esta especie codifican conjuntos de genes altamente heterogéneos, y que el genoma de AVO110 codifica la región variable más grande y exclusiva de todos ellos (aproximadamente 1,6 Mb y 1795 genes). Los genes exclusivos de AVO110 incluyen un amplio repertorio de genes relacionados con la formación de biopelículas (biofilms), de entre los cuales destacan aquellos modulados transcripcionalmente por exudados de *R. necatrix*. Uno de estos genes (*cmpA*) codifica una proteína con dominios GGDEF/EAL específica de cepas de *Pseudomonas* spp. aisladas de la rizosfera de diversas plantas, de suelo y de agua. También hemos demostrado que *CmpA* tiene un papel en la formación de biopelículas y que la integridad de su dominio EAL está involucrada en esta función. Este trabajo contribuye a una mejor comprensión del estilo de vida y de la adaptación a nichos específicos de *P. alcaligenes*, incluido el comportamiento micofágico de la cepa AVO110.

Financing: Financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (AGL2017-83368-C2-1-R) y el Programa Operativo FEDER Andalucía 2014-2020 (UMA18-FEDERJA).

### Esclarecimiento de los determinantes moleculares que promueven la actividad nematocida del agente de biocontrol *Bacillus amyloliquefaciens* UMAF6639.

David Vela Corcía<sup>1</sup>, Antonio de Vicente<sup>1</sup>, Alejandro Pérez García<sup>1</sup>, Diego Romero<sup>1</sup>

(1) IHSM-UMA.CSIC, Biología y Control de enfermedades, Av. Louis Pasteur 49. 29071, Málaga, España

Los nematodos fitoparásitos son uno de los grupos de patógenos de cultivos más destructivos, capaces de causar graves pérdidas anuales a nivel mundial. La mayoría de los nematodos fitoparásitos se localizan en el suelo atacando la raíz, lo que implica una gran dificultad en cuanto a su control y erradicación. Hoy en día, la aplicación de agentes químicos sigue siendo el método más común para la gestión y control de estos patógenos. Sin embargo, debido a la creciente preocupación sobre los problemas de salud pública y medioambientales, muchos nematocidas químicos con alto grado de toxicidad han sido retirados o han visto restringido su uso. Por tanto, urge el desarrollo de alternativas ecológicas para el control de estos patógenos. El empleo de bacterias beneficiosas para combatir plagas o enfermedades de plantas ha cobrado gran importancia en las últimas décadas. En un estudio previo, se demostró que la cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* UMAF6639, es una excelente candidata como agente de biocontrol contra enfermedades fúngicas y bacterianas de las cucurbitáceas. Resultados preliminares indicaron que también podría ser efectiva contra nematodos parásitos de plantas. En este trabajo se persigue esclarecer cuáles son los factores que median dicha actividad nematocida y el modo de acción de estos factores. La integración de técnicas de química analítica y aproximaciones genómicas que permitan identificar los compuestos responsables de dicha actividad.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el contrato 8.06/60.4086 financiado por la empresa biotecnológica KOPPERT B. V. (Países Bajos).

## Viabilidad, estabilidad y control biológico en planta de bacteriófagos específicos de *Ralstonia solanacearum* tras su conservación por liofilización

**Belén Álvarez**<sup>1,2</sup>, Laura Gadea-Pallás<sup>1</sup>, Begonya Vicedo<sup>3</sup>, Àngela Figàs-Segura<sup>1</sup>, Elena G. Biosca<sup>1</sup>

(1) Universitat de València (UV), Departamento de Microbiología y Ecología, Valencia, España, correspondencia: Elena.Biosca@uv.es

(2) Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), Departamento de Investigación Aplicada y Extensión Agraria, Madrid, España

(3) Universitat Jaume I (UJI), Departament de Ciències Agràries i del Medi Natural, Castelló de la Plana, España

*Ralstonia solanacearum* es una bacteria fitopatógena que causa marchitez produciendo daños importantes en cultivos básicos para la alimentación humana. El control tradicional en campo tiene baja eficacia y/o impacto ambiental. Recientemente se establecieron las bases de un nuevo método biotecnológico mediante el uso de tres bacteriófagos (fagos) líticos denominados vRsoP-WF2, vRsoP-WM2 y vRsoP-WR2 con actividad específica frente a *R. solanacearum*. Sin embargo, con vistas a su comercialización, había algunos aspectos desconocidos, como la capacidad de supervivencia y el mantenimiento de la actividad lítica de estos fagos tras someterlos a un método de conservación como es la liofilización. Para ello, se determinó la viabilidad y estabilidad de los fagos conservados por este método con varios crioprotectores y durante diferentes tiempos frente a varias cepas de *R. solanacearum*. Además, se evaluó la eficiencia de los fagos liofilizados en el control biológico de la cepa IVIA 1602.1 de este patógeno en plantas de tomate susceptibles, en diferentes condiciones. Los ensayos realizados mostraron resultados satisfactorios con respecto a la viabilidad y estabilidad de los fagos tras el proceso de liofilización, manteniendo títulos altos durante todo el período de experimentación. Los fagos liofilizados también mantuvieron la capacidad para el control biológico de la marchitez bacteriana, controlando esta enfermedad en más del 50% de las plantas ensayadas. Los resultados ofrecen buenas perspectivas para el uso de la liofilización como método de conservación de los bacteriófagos líticos de *R. solanacearum* durante el proceso de comercialización y hasta su uso como agentes de control biológico en campo.

Financing: Proyecto RTA2015-00087-C02-02, cofinanciado por el INIA, el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad y los Fondos FEDER.



### Efecto de diferentes estrategias de fertilización sobre la microbiota metabólicamente activa y la emisión de GEI en suelo de viñedo

**Miriam Guivernau Ribalta**<sup>1</sup>, Felicidad Herralde Traveria<sup>2</sup>, Xavier Aranda Frattarola<sup>2</sup>, Carme Biel Loscos<sup>3</sup>, Maria Rosa Teira Esmatges<sup>4</sup>, Robert Savé Montserrat<sup>2</sup>, Marc Viñas Canals<sup>1</sup>

(1) Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Sostenibilitat en Biosistemes, Torre Marimon s/n, 08130, Caldes de Montbui, Espanya

(2) Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Fructicultura, Torre Marimon s/n, 08130, Caldes de Montbui, Espanya

(3) Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Protecció Vegetal Sostenible, Ctra. de Cabrils Km 2, 08348, Cabrils, Espanya

(4) Universitat de Lleida, Medi Ambient i Ciències del Sòl, Rovira Roure 191, 25198, Lleida, Espanya

Las poblaciones microbianas de la rizosfera y suelos agrícolas interactúan afectando la fisiología de la planta y los ciclos biogeoquímicos de elementos fundamentales como el nitrógeno, fósforo y carbono. Los distintos usos y manejos del suelo en viñedos (pobres en MORG) pueden alterar su función y calidad a lo largo del tiempo, pudiendo perturbar la diversidad microbiana del ecosistema promoviendo las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). El presente trabajo evaluó a escala de campo el efecto de diferentes estrategias de fertilización (sin enmienda (NF); enmienda orgánica (AO) y enmienda mineral (AM)) sobre la diversidad microbiana total y metabólicamente activa (Bacterias y Hongos) de un suelo vitivinícola, durante un periodo corto de 4 meses (Junio-Octubre 2019). Los resultados meta-taxonómicos mediante secuenciación masiva (Miseq) y cuantificación por (RT)qPCR, revelaron una disminución significativa de la alfa diversidad (H inicial: 3,5 vs H final 2,2-2,3) durante la fertilización (AO y AM, con 264-269 kg N/ha). Respecto a la beta diversidad (PCoA, Bray Curtis), nuevamente la fertilización (AM y AO) modificó la diversidad total pero no la población metabólicamente activa de los 3 tratamientos. Fue destacable la presencia de *Nitrospira* la cual representó un 0,95-1,5% de la población activa en todos los tratamientos, siendo superior en un factor de 245-600 respecto a la población amonio-oxidante (AOB) y nitrito-oxidante (NOB), lo que confirmaría un comportamiento Comammox, coincidente con las bajas emisiones de N<sub>2</sub>O (sin diferencias entre tratamientos) representando un 0,01-0,02% del N añadido.

Financing: Proyecto VITIMPAC (INIA RTA2015-00091-00-00).

## **Análisis de metagenomas y metatranscriptomas de suelos de baja fertilidad corregidos con enmiendas orgánicas/inorgánicas para incrementar la productividad de cultivos.**

**Esther Menéndez**<sup>1,2</sup>, Zaki Saati Santamaria<sup>2</sup>, Belén Colavolpe<sup>3</sup>, Isabel Videira<sup>3</sup>, Luis Alho<sup>1</sup>, Mário Carvalho<sup>1</sup>

(1) Instituto Mediterrânico para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento (MED), Instituto de Investigação e Formação Avançada (IIFA), Universidade de Évora, Évora (Portugal)

(2) Departamento de Microbiología y Genética/CIALE, Universidad de Salamanca, Salamanca (España).

(3) Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.(INIAV), Oeiras (Portugal)

La gestión sostenible de microbiomas de suelos es de gran interés para aumentar la productividad agrícola. La dehesa es un sistema agrosilvopastoral de clima mediterráneo conformado por suelos ácidos con baja fertilidad que se debe al bajo pH y toxicidad de metales presente. Para eliminar estos problemas, se recurre a la corrección de suelos con enmiendas como la caliza dolomítica (inorgánica), la cual mejora la productividad y las relaciones mutualistas microbianas, o como los lodos de celulosa (orgánica). En este trabajo, se han determinado las dinámicas y funciones de las comunidades microbianas rizosféricas de un ensayo de campo en el que se han aplicado dos enmiendas, inorgánica y orgánica por separado o en combinación. Se analizaron metagenomas de amplicones y metatranscriptomas de cada muestra. Los resultados muestran como los órdenes Acidobacteriales, Ktedonobacteriales, Planctomycetales y Rhizobiales son los más abundantes, siendo Actinomycetales, Ktedonobacteriales y Rhizobiales los más activos. Las funciones más expresadas están relacionadas con el metabolismo de carbohidratos y otros procesos celulares metabólicos. Este trabajo descifra, además, las dinámicas poblacionales y funcionales de estos microbiomas en respuesta a las enmiendas. La producción de los cultivos de pradera en los suelos tratados con residuos de celulosa, en presencia o no de caliza dolomítica, fue superior a la de los suelos tratados solo con dolomita o no tratados. Estos hallazgos serán útiles para seleccionar las prácticas agrícolas adecuadas para cada suelo y comunidad bacteriana asociada, lo que se traducirá en un aumento de la productividad de los pastos y posteriores cultivos.

Financing: Este trabajo se financió con FEDER Portugal2020/Alentejo2020 ALT20-03-0145-FEDER-000039 y UID/AGR/00115/2019 de la "Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT)".

**Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación**  
Presentación oral

**El bacterioma del depósito de combustible: microorganismos con potencial en biorremediación de hidrocarburos**

Àngela Vidal-Verdú<sup>1</sup>, Daniela Gómez-Martínez<sup>1</sup>, Adriel Latorre-Pérez<sup>2</sup>, Juli Peretó<sup>1,2,3</sup>, Manuel Porcar<sup>1,2</sup>

(1) Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (UV-CSIC), Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch, nº 9, Paterna (46980), España

(2) Darwin Bioprospecting Excellence S.L., Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch, nº 9, Paterna (46980), España

(3) Universitat de València, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Calle del Dr. Moliner, nº 50, Bujassot (46100), España

La bioprospección de ambientes contaminados por combustibles es una estrategia prometedora en la búsqueda de cepas y comunidades microbianas que sean de interés para implementar estrategias de biorremediación. En este estudio, hemos analizado la composición microbiana de la biomasa acumulada en las tapas del depósito de combustible de diez coches diesel y diez coches de gasolina. Por un lado, la microbiota se analizó mediante técnicas de secuenciación masiva (Next Generation Sequencing, NGS) para dilucidar los principales géneros bacterianos que los poblan. Al mismo tiempo, se realizaron experimentos de enriquecimiento en degradadores de combustible, inoculando las muestras en medios mínimos suplementados con diesel o gasolina y realizándose diversos pases durante cuatro semanas. Las comunidades microbianas de todas las muestras mostraron bastante diversidad bacteriana, siendo Proteobacteria el filo dominante. En los cultivos evolucionados (con hidrocarburo como única fuente de carbono), la diversidad microbiana se vio claramente reducida, siendo el género *Pseudomonas* el predominante en las muestras suplementadas con diesel. Por otro lado, se estableció una colección de microorganismos cultivables de los cuales se analizó su capacidad para sintetizar biosurfactantes y para degradar diesel mediante GC-MS. Cinco aislados, correspondientes a los géneros *Isoptericola*, *Achromobacter*, *Pseudomonas* (2) y *Bacillus* fueron capaces de degradar diversos compuestos del diesel tras una semana de incubación. Nuestros resultados muestran el potencial en biorremediación que presentan ambientes artificiales como las tapas de combustible de los coches.

Financing: ÀVV es receptora de una beca FPU (FPU18/02578) y ALP es receptor de una Beca de Doctorado industrial (DI-17-09613)

## Biorremediación de aguas contaminadas: estudio multidisciplinar de la reducción microbiana de uranio (U) en aguas de mina.

**Antonio M. Newman-Portela**<sup>1,2</sup>, Evelyn Krawczyk-Bärsch<sup>2</sup>, Margarita Lopez-Fernandez<sup>1</sup>, Frank Bok<sup>2</sup>, Andrea Kassahun<sup>3</sup>, Johannes Raff<sup>2</sup>, Mohamed L. Merroun<sup>1</sup>

(1) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Granada, España

(2) Department of Biogeochemistry, Institute of Resource Ecology, Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Dresden, Alemania

(3) WISMUT GmbH, Chemnitz, Alemania

Tras el cese de la minería en Alemania oriental, restos de U y otros metales pesados siguen contaminando el territorio. Actualmente, estas minas están en proceso de remediación mediante estrategias convencionales. En este estudio, hemos caracterizado la geoquímica y la diversidad microbiana del agua de dos antiguas minas de U (Schlema-Alberoda y Pöhla) con el objetivo de diseñar una estrategia de biorremediación. Los análisis de ICP-MS y cromatografía iónica (CI) mostraron en el agua una alta concentración de U, sulfato, hierro y manganeso en Schlema-Alberoda respecto a Pöhla (U: 1,01 y 0,11 mg/L; Sulfato: 335 y 0,26 mg/L; Hierro: 0,99 y 0,13 mg/L; Manganeso: 1,44 y 0,16 mg/L, respectivamente). El estudio de los genes 16S del ARNr e ITS1 de ambas minas reveló una gran diversidad microbiana implicada en la biorremediación de U(VI), destacando una abundancia relativa de bacterias sulfatorreductoras (p.ej., *Sulfuricurvum*, *Sulfurimonas* y *Sulfurovum*) y bacterias hierro-oxidadoras (p.ej., *Gallionella* y *Sideroxydans*). Además, se diseñaron microcosmos-anóxicos-bioestimulados (glicerol [10 mM]) tomando agua original de Schlema-Alberoda. Los análisis de ICP-MS y CI de los microcosmos revelaron aproximadamente una disminución del 90% de U, sulfato, hierro y manganeso, junto a un descenso del Eh y pH del sistema. Se calculó un diagrama termodinámico de predominio Eh-pH que indica la formación de precipitados de U(IV) insolubles. Estos resultados muestran que la reducción enzimática del U(VI), es favorecida por la adición de un donador de electrones en aguas mineras contaminadas. Por ende, podría ser un enfoque eficiente de biorremediación para las aguas contaminadas con U, bioestimulando su comunidad microbiana nativa.

### Estudio de la biodegradación de poli(l-ácido láctico) y sus nanocompuestos con 2D-WS2

Ana M. García<sup>1</sup>, M. Izabela Weglarczyk<sup>1</sup>, Diego A. Moreno<sup>1,2</sup>, Mohammed Naffakh<sup>1</sup>

(1) Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales (ETSII-UPM), José Gutiérrez Abascal 2, Madrid, Spain

(2) Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Farmacia (FF-UCLM), Albacete, Spain

El poli(L-Ácido Láctico) (PLLA) es uno de los bioplásticos de mayor interés industrial. Es un polímero biodegradable con potencial en el reemplazo de plásticos a base de petróleo para ser utilizado en áreas como la alimentaria, textil o médica. A pesar de sus muchas propiedades favorables, presenta algunas deficiencias relativas a su procesabilidad y propiedades mecánicas que limita sus aplicaciones y que tratan de solventarse mediante la introducción de nanorellenos a la matriz polimérica del PLLA. El uso de nanoestructuras de dicalcogenuros de metales de transición (TMDCs) en capas, como el disulfuro de wolframio (WS<sub>2</sub>), ofrece ventajas de diseño, procesamiento y costos en comparación con otras nanopartículas inorgánicas utilizadas en la fabricación de nanocompuestos biopoliméricos. Por otro lado, la adición de nanopartículas al biopolímero juega un papel importante en su biodegradación pudiendo acelerarla, facilitando la penetración del agua a la matriz polimérica, o retrasarla, mejorando las propiedades barrera del nanocompuesto. En este trabajo se prepararon nanocompuestos basados en PLLA con nanoláminas inorgánicas de disulfuro de wolframio (PLLA/2D-WS<sub>2</sub>) mediante una ruta de fusión versátil, económica y escalable. Se llevaron a cabo ensayos de biodegradación de estos nanocompuestos en presencia de dos actinomicetos conocidos por su capacidad de degradar PLLA (*Lentzea waywayandensis* y *Amycolatopsis orientalis*) y se estudiaron las propiedades de los materiales tras los ensayos de biodegradación mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microscopía electrónica de barrido (FE-SEM). Los resultados indican que la adición de las nanoláminas reduce la velocidad de cristalización de PLLA y facilita su degradación enzimática.

Financing: Financiado por: FEDER/Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades—Agencia Estatal de Investigación/MAT2017-84691-P.

## Aislamiento de microorganismos degradadores de plástico a partir de un vertedero.

**Theo Obrador-Viel<sup>1</sup>**, Maria del Mar Aguiló-Ferretjans<sup>1</sup>, Rafael Bosch Zaragoza<sup>1,2</sup>, Joseph A. Christie-Oleza<sup>1</sup>

(1) Universidad de las Islas Baleares, Biología, Facultad de Ciencias, Crta. Valldemossa Km 7.5, 07122, Palma, España

(2) IMEDEA (CSIC-UIB), Carrer de Miquel Marquès, 21, 07190, Esporlas, España

Los plásticos son un material de uso cotidiano y su acumulación en el ambiente es una preocupación global. En la última década ha crecido el interés por los microorganismos capaces de degradar plástico para dar respuesta a esta problemática. Ya se conocen bacterias y hongos que degradan distintos polímeros como el polietileno (PE), el poliestireno (PS), el polietileno tereftalato (PET) o el polipropileno (PP). Asimismo, no se conocen los mecanismos involucrados en la degradación. En este trabajo se ha desarrollado un método para aislar nuevos microorganismos potencialmente degradadores de plástico. Una estrategia eficaz para aislar estos microorganismos es la búsqueda en ambientes contaminados. En el año 2020 se denunció en Mallorca la presencia de un vertedero ilegal con una antigüedad de al menos 30 años. Este contenía un gran depósito de plásticos en diferentes formas (botellas, bolsas, tapones) que fueron identificados por espectrometría infrarroja (FT-IT). Partiendo de muestras tomadas en este vertedero se ha realizado un aislamiento sistemático de cepas de interés. Se ha generado una biblioteca de aislados capaces de proliferar con PE, PS, PET o PP como única fuente de carbono. Los resultados preliminares evidencian la diversidad de los organismos aislados. El análisis multi-ómico de la capacidad degradadora de los aislados relevarán los mecanismos moleculares involucrados en la degradación.

Financing: Financiado por el proyecto nacional PID2019-109509RB-I00/AEI/10.13039/501100011033 y la FPU19/05364.



### Degradación de alcanos por *Salipiger aestuarii* 357, un miembro del linaje *Roseobacter*.

Esteban Bustos Caparrós<sup>1,2</sup>, Antonio Busquets Bisbal<sup>1</sup>, Guillem Coll García<sup>1</sup>, Maria del Mar Aguiló-Ferretjans<sup>1,3</sup>, Joseph Alexander Christie-Oleza<sup>1,3</sup>, Balbina Nogales Fernández<sup>1</sup>, **Rafael Bosch Zaragoza**<sup>1,2</sup>

(1) Universitat de les Illes Balears (UIB), Microbiologia, Departament de Biologia, Palma de Mallorca, España

(2) IMEDEA (CSIC-UIB), Microbiología del Medio Ambiente, Esporles, España

(3) University of Warwick, School of Life Sciences, UK

Durante los últimos años, en el grupo Microbiología de la UIB hemos aislado diversos miembros del linaje *Roseobacter* capaces de crecer a expensas de naftaleno como fuente única de carbono y energía. El análisis genómico de los mismos, junto al análisis de más de 1000 genomas de miembros del linaje disponibles en las bases de datos públicas, ha revelado, además de la presencia de los genes necesarios para degradar naftaleno (NAH), la presencia de hasta tres posibles alcano 1-monooxigenasas (AlkB) distintas. Un ejemplo de ello es *Salipiger aestuarii* 357, en la que además de los tres homólogos a *alkB*, se han identificado junto a uno de ellos todos los determinantes necesarios para transformar alcanos en acil-CoA (ALK), estando organizados en dos posibles operones colindantes: *alkST* y *alkBGHJK*. Tras demostrar la capacidad de crecimiento de *S. aestuarii* 357 a expensas de alcanos y de diésel, así como la capacidad degradadora de alcanos de cadena corta y media, especialmente de número impar de carbonos, el análisis proteómico ha revelado la expresión del homólogo a *AlkB* situado junto al resto de genes ALK, no observándose ninguno de los dos *AlkB* adicionales. Además de los determinantes ALK, el análisis proteómico ha revelado la expresión de diferentes enzimas relacionados con la beta-oxidación de los ácidos grasos, tanto en presencia de alcanos como de diésel como fuente única de carbono y energía, así como la expresión de los genes relacionados con la degradación de naftaleno en ésta última condición de crecimiento.

Financing: PID2019-109509RB-I00 AEI; CTM2015-70180-R FEDER/MICIU-AEI

## Respuestas fisiológicas y transcripcionales de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC7120 a lindano ( $\gamma$ -HCH)

Jorge Guío<sup>1,2</sup>, María Francisca Fillat<sup>1,2</sup>, María Luisa Peleato<sup>1,2</sup>, Emma Sevilla<sup>1,2</sup>

(1) Universidad de Zaragoza, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias, Calle Pedro Cerbuna 12, Zaragoza, España

(2) Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos, Calle de Mariano Esquillor Gómez, Edificio I+D, Zaragoza, España

El lindano es un isómero del hexaclorociclohexano (HCH) que se utilizó masivamente como pesticida entre los años 40 y 90. No obstante, se observó que era altamente recalcitrante lo cual, unido a su fuerte impacto en los organismos (especialmente a nivel neurológico), llevó a su prohibición y a un aumento considerable de las investigaciones centradas en su biorremediación. Sin embargo, hasta la fecha se han identificado pocos organismos capaces de degradar este pesticida. El más estudiado es *Sphingomonas paucimobilis*, que contiene en su genoma varias enzimas implicadas en la degradación del HCH codificadas en los genes *lin*. En este trabajo se ha estudiado la tolerancia de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC7120 a la presencia de lindano y sus respuestas fisiológicas a este pesticida. Con ese objetivo, se ha analizado su morfología celular en presencia de este compuesto, la influencia del lindano en la fotosíntesis y el estrés oxidativo y la formación de intermediarios de degradación del lindano. Además, se han realizado estudios de genómica comparativa con *S. paucimobilis* que han permitido identificar potenciales genes *lin* en el genoma de *Anabaena* sp. PCC7120, cuya expresión se ha analizado en presencia de lindano ( $\gamma$ -HCH) y 2,5-diclorohidroquinona (2,5-DCHQ), un intermedio de degradación que actúa como inductor de la expresión de genes *lin* en otros organismos.

Financing: Estudio financiado por BFU2016-77671-P/FEDER (MINECO), PID2019-104889GB-I00 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades) y E35\_17R Biología Estructural (Gobierno de Aragón).

### Desarrollo de consorcios microbianos degradadores de plásticos mediante inducción en microcosmos.

**Jesús Salinas Nieto**<sup>1</sup>, Martín Segado<sup>1</sup>, María Rosa Martínez-Gallardo<sup>1</sup>, Juan Antonio López González<sup>1</sup>, Macarena del Mar Jurado Rodríguez<sup>1</sup>, Ana Toribio<sup>1</sup>, Francisca Suarez Estrella<sup>1</sup>, María Josefa López López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Almería, Biología y Geología, Ciencias Experimentales, Calle Universidad de Almería, s/n, 04120 La Cañada, Almería, Almería, España

El creciente aumento de la producción de plástico y su acumulación en el medio ambiente, hace necesaria la búsqueda de estrategias sostenibles para reducir la contaminación. La aplicación de consorcios microbianos para el tratamiento o la eliminación de residuos plásticos constituye una alternativa para solucionar dicho problema. El objetivo de este trabajo fue la búsqueda de comunidades microbianas degradadoras de polímeros plásticos mediante enriquecimiento a partir de microcosmos de suelo contaminado con plásticos. Para ello, se colocaron films de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) en 80 g de suelo humectado al 60% que se incubaron durante 60 días a 30 °C. A continuación, se realizaron enriquecimientos secuenciales en medio mínimo adicionado con microplásticos de LLDPE al 1% como única fuente de carbono. El experimento duró 120 días y se llevó a cabo una transferencia mensual a medio fresco. En cada transferencia se analizó la carga y tipos de bacterias y hongos, así como las cepas ligninolíticas. La comunidad microbiana se redujo progresivamente en cada transferencia, obteniéndose finalmente un consorcio estable constituido por cinco microorganismos que presentan unas actividades enzimáticas idóneas para su potencial empleo para la biodegradación de plásticos.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto H2020 BBI-JU RECOVER (GA No. 887648).

## Optimización de sistemas de compostaje de lodos de depuradora con microorganismos nativos para eliminar contaminantes emergentes

**Gabriela Angeles de Paz**<sup>1</sup>, Rafael León-Morcillo<sup>1</sup>, Sofía Guzmán<sup>1</sup>, Clementina Pozo Llorente<sup>1</sup>, Maximino Manzanera<sup>1</sup>, Concepción Calvo Sainz<sup>1</sup>, Elisabet Aranda<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Microbiología Ambiental, Instituto Universitario del Agua, nº4 Edificio Fray Luis C/ Ramón y Cajal 18003, Granada, España

Se producen alrededor de 1.200.000 toneladas de lodos de depuradora en España, según datos del Registro Nacional de Lodos. Estos residuos son generalmente estabilizados mediante compostaje, sin embargo, esta técnica no consigue la eliminación total de los contaminantes contenidos en los lodos. Por lo que en este estudio se propuso una optimización de este sistema mediante técnicas de bioaumentación. Para alcanzar este objetivo, se montaron tres pilas de compostaje en las instalaciones de la Ecoindustria de Reciclado en Guadix. Cada pila consistió en una mezcla de lodos de depuradora y agente estructurante 1:1 v/v. Estas fueron sometidas a un proceso de bioaumentación microbiana durante 60 días con un inóculo bacteriano y esporas de un hongo filamentoso *Penicillium* sp. Posteriormente, se llevó a cabo un proceso de compostaje durante 120 días. Se monitorearon los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, así como el control de patógenos y presencia de metales pesados. Además, se midió la actividad biológica de los microorganismos mediante el estudio de la actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa, proteasa, deshidrogenasa, fosfatasa alcalina y ácida. Finalmente, se determinó la toxicidad del compost mediante el uso de semillas de berro (*Lepidium sativum*). Los resultados mostraron, una alta actividad enzimática microbiana, el aumento en la calidad del producto y una disminución significativa de la fitotoxicidad, del compost maduro en la pila inoculada con *Penicillium* sp., lo cual sugiere que ésta técnica de enriquecimiento *in vivo* podría representar una mejora en el tratamiento de los lodos de depuradora a escala industrial.

Financing: Proyecto CTM2017-84332 (MINECO/AEI/FEDER/UE) Junta de Andalucía-FEDER (P18-RT-976). CONACyT (G.A. PhD número de beca: 739637).

**Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación**  
**E-poster**

**Disipación acelerada de contaminantes emergentes en diferentes medios utilizando extractos microbianos**

Inés Aguilar-Romero<sup>1</sup>, **Pieter van Dillewijn**<sup>1</sup>, Laura Delgado-Moreno<sup>1</sup>, Joseph Nesme<sup>2</sup>, Søren J. Sørensen<sup>2</sup>, Rogelio Nogales<sup>1</sup>, Esperanza Romero<sup>1</sup>

(1) Estación Experimental del Zaidín, CSIC (EEZ-CSIC), Departamento de Protección Ambiental, Calle Profesor Albareda 1, Granada, España

(2) University of Copenhagen, Section of Microbiology, Department of Biology, 2100, Copenhagen, Denmark

Los sistemas de biopurificación (BPS) basados en biomezclas activas compuestas por suelo y residuos orgánicos son un método eficiente para eliminar pesticidas y contaminantes emergentes como los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs) de aguas contaminadas. Recientemente, una nueva estrategia de bioaumentación basada en extractos acuosos procedentes de biomezclas de BPS aclimatadas ha demostrado ser exitosa para mejorar la eliminación de pesticidas. El estudio actual describe cómo los extractos acuosos aireados de una biomezcla tratada repetidamente con ibuprofeno, diclofenaco y triclosan, acelera la eliminación de estos PPCPs tanto en BPS como en soluciones acuosas contaminadas. Los resultados revelan que la aplicación de los extractos al BPS llevó a la disipación del 90% de diclofenaco y triclosan, 69 y 108 días más rápido que en los controles. Además, se determinó que el metabolito metil-triclosán en el BPS bioaumentado con extracto era 12 veces menor. En las soluciones acuosas bioaumentadas, el 99.2% del ibuprofeno se eliminó en 21 días y se detectaron niveles más bajos de sus metabolitos hidroxilados que en los controles. El estudio de las comunidades bacterianas en las biomezclas y extractos reveló que varios OTUs dominantes en el extracto relacionados con *Flavobacterium*, *Thermomicrobia*, *Nonomuraea* y *Fluviicola* podrían ser responsables de la mayor disipación de estos contaminantes emergentes. Por último, se estudiaron los plasmidomas en los diferentes BPS y extractos para determinar en qué medida los genes relacionados con la degradación podrían ser transferidos por elementos móviles.

Financing: Financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, la AEI y fondos FEDER (CTM2013-44271-R y CTM2017-86504-R AEI/FEDER, UE).

## Aislamiento y selección de dos cepas de *Moraxella* spp. con actividad degradadora sobre polímeros plásticos

**Samuel Rodríguez Martín<sup>1</sup>**, Ana María Rodríguez Pérez<sup>1</sup>, Pedro Martín Zarza<sup>2</sup>, Fernando Perestelo Rodríguez<sup>1</sup>

(1) Universidad de La Laguna, Departamento de Bioquímica, Microbiología, Biología Celular y Genética, Área de Microbiología, San Cristóbal de La Laguna, Tenerife

(2) Universidad de La Laguna, Departamento de Química, Área de Química Inorgánica, San Cristóbal de La Laguna, Tenerife

El extenso y abusivo uso de materiales plásticos ha conducido a la acumulación de cantidades ingentes de estos residuos, tanto en ambientes marinos como terrestres. A pesar de su compleja estructura química y resistencia a la degradación, los microorganismos ofrecen una alternativa atractiva para su tratamiento y eliminación frente a los métodos convencionales. En el presente trabajo se ha llevado a cabo un programa de screening de microorganismos degradadores de plásticos a partir de muestras procedentes de 50 puntos diferentes, contaminados o no por este tipo de residuos, en la isla de Tenerife (España). Las muestras recolectadas fueron sometidas a un enriquecimiento selectivo en medio líquido, suplementado con polietileno tereftalato (PET) o polietileno (PE), y posterior siembra en medio sólido suplementado con PE (test de zonas claras). Los resultados de este screening permitieron seleccionar dos cepas de *Moraxella* spp., que mostraron también resultados positivos en los test en placa cuando se usó policaprolactona (PCL) como sustrato polimérico. Para confirmar el potencial de ambas cepas para atacar plásticos hidrolizables (PET) y no hidrolizables (PE), se llevó a cabo un estudio en medio líquido utilizando como sustratos láminas de ambos tipos de plásticos, sometidas o no a procesos de intemperismo. Los análisis espectroscópicos (ATR-FTIR) de las láminas tras 2 y 4 meses de incubación, mostraron alteraciones con respecto a los controles no inoculados, especialmente, en las láminas de PET que habían sido sometidas previamente a tratamiento de intemperismo.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto ProID2017010143 (Gobierno de Canarias).



### Inhibición de procesos de quorum sensing por acción de enzimas acilasas: respuesta transcripcional de *Pseudomonas Aeruginosa*

**Miguel de Celis Rodríguez**<sup>1</sup>, Rebeca Liébana García<sup>1</sup>, Lara Serrano Aguirre<sup>2</sup>, Ignacio Belda<sup>1</sup>, Domingo Marquina Díaz<sup>1</sup>, Lucía Arregui García-Roves<sup>1</sup>, Susana Serrano Barrero<sup>1</sup>, Miguel Arroyo Sánchez<sup>2</sup>, Isabel De la Mata Riesco<sup>2</sup>, Antonio Santos de la Sen<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Genética Fisiología y Microbiología, Facultad de Biología, Madrid, España.

(2) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Biología, Madrid, España.

Uno de los principales factores asociados al bioensuciamiento de las membranas de ultrafiltración en estaciones depuradoras de agua residual (EDAR) es la formación de biopelículas. Este proceso está regulado por quorum sensing (QS), un sistema de comunicación regulado por moléculas autoinductoras, siendo las del tipo acil-homoserina lactonas (AHLs) las más estudiadas. Uno de los mecanismos propuestos para la inhibición del QS es la degradación de sus autoinductores. En este estudio utilizamos dos enzimas acilasas purificadas a partir de cultivos de *Actinoplanes utahensis* (AuAAC y AuAHLA), como mecanismo para inhibir el desarrollo de biopelículas en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* aislada de una EDAR con MBR, y analizamos su respuesta transcripcional. *P. aeruginosa* tiene cuatro sistemas QS, interconectados de manera jerárquica, aunque solo dos están regulados por AHLs. Las enzimas estudiadas solo degradan AHL de cadena larga, a pesar de ello, tras el tratamiento con AuAAC, se inhibieron los cuatro sistemas de QS. Sin embargo, tras el tratamiento con AuAHLA solo se inhibieron dos de los sistemas de QS, junto con otros procesos relacionados como factores de virulencia o maduración de biopelículas, aunque ciertos genes relacionados con etapas tempranas de formación de biopelículas se sobreexpresaron. Esta diferencia pudiera deberse a la mayor eficiencia catalítica de AuAAC sobre AHLs. Esta degradación de AHLs implica una inhibición de los reguladores transcripcionales y una menor expresión de genes implicados en la formación de biopelículas, apoyando el potencial uso de estas enzimas como método para impedir el bioensuciamiento en membranas de EDAR con sistemas MBR.

Financing: Esta investigación ha sido financiada con el proyecto del MINECO ref. CTM2016-76491-P

## Efecto de la actividad microbiana en microcosmos de bentonita saturada: corrosión de cobre y producción de nanopartículas de selenio

**Marcos F. Martínez Moreno**<sup>1</sup>, Cristina Povedano Priego<sup>1</sup>, Guillermo Lazúen López<sup>1</sup>, Eduardo González Morales<sup>1</sup>, Fadwa Jroundi<sup>1</sup>, Mohamed L. Merroun<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Avenida Fuentenueva s/n, Granada, España

El Almacenamiento Geológico Profundo (AGP) consiste en la encapsulación de residuos radiactivos de alta actividad en contenedores metálicos rodeados por bentonita compactada y depositados en una roca geológicamente estable a una profundidad de 500-1000 metros (sistema multibarrera). La capacidad de contención del sistema ha de ser mínimo de 100.000 años. Todas estas barreras son susceptibles a procesos de deterioro debido a la actividad de los microorganismos. Éstos pueden alterar la estabilidad del AGP a través de la transformación de las bentonitas que funcionan como material amortiguador, corrosión de los contenedores metálicos (ej. cobre) y movilización de los radionúclidos (selenio, uranio, entre otros). Este estudio se centra en el efecto de los microorganismos en un sistema cuaternario compuesto por microcosmos anaerobios que contienen bentonita saturada, tratadas con selenito sódico, inoculadas con un consorcio bacteriano (cepas conocidas presentes en la bentonita) y contenedores de cobre a pequeña escala. Se añadieron donadores de electrones (acetato y lactato) más sulfato para estimular el crecimiento bacteriano. Los resultados obtenidos mediante técnicas espectroscópicas (DRX, FRX, FTIR), microscópicas (ESEM, HRTEM) y geoquímicas muestran: i) el efecto de la actividad de bacterias (sulfato-reductoras, principalmente) sobre el material de cobre, observándose compuestos de corrosión sulfurados, ii) la estabilidad mineral de la bentonita y iii) la capacidad de las bacterias de inmovilizar el selenito [Se(IV)] soluble a selenio elemental [Se(0)] mediante formación de nanopartículas amorfas y cristalinas de este elemento. Por lo tanto, es importante conocer los efectos de los microorganismos para prevenir futuras alteraciones en el sistema AGP.

Financing: Financiado a través del proyecto del Programa Estatal de I+D+i del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades con Referencia RTI2018-101548-B-I00

### Estudio del metagenoma fúngico, parámetros básicos de control y calidad del proceso del compostaje de restos vegetales a escala industrial.

**María José Estrella González<sup>1</sup>**, Francisca Suárez Estrella<sup>1</sup>, Macarena del Mar Jurado<sup>1</sup>, Juan Antonio López González<sup>1</sup>, María José López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, CIAIMBITAL, Departamento de Biología y Geología, Área de Microbiología, CITE II-B, Facultad de Ciencias Experimentales, Carretera de la Universidad, La Cañada de San Urbano, s/n 04120, Almería, España

Desde una perspectiva microbiológica, el compostaje es un proceso complejo y ecológicamente dinámico. Estudios previos han demostrado que diversos factores ambientales o intrínsecos a los materiales de partida (temperatura, pH, relación C/N...) pueden dar lugar a perfiles microbianos muy variables durante el proceso. A pesar de ser superados en número por los procariontes, los hongos juegan un papel importante en el compostaje de restos orgánicos, dada su capacidad para utilizar sustratos de naturaleza compleja, como es el caso de la fracción lignocelulósica de los residuos vegetales. En este trabajo, se tomaron muestras procedentes de una instalación dedicada al compostaje a escala industrial de residuos vegetales. Se analizaron como parámetros básicos la temperatura, humedad, materia orgánica y relación C/N, así como diversas actividades enzimáticas íntimamente relacionadas con el ciclo del carbono ( $\beta$ -glucosidasa y amilasa), nitrógeno (ureasa y proteasa), fósforo (fosfomonoesterasa alcalina), y otros parámetros relacionados con la estabilidad del producto final (índice de germinación, ratio CHA/CFA y ratio de humificación). Los resultados mostraron que, a pesar de que el proceso de compostaje a escala industrial evolucionó de forma poco ortodoxa, el producto obtenido cumplió con los estándares de calidad estipulados por legislación y, adicionalmente, los análisis enzimáticos correlacionaron con los parámetros de estabilidad del proceso. Respecto al metagenoma fúngico, se observaron perfiles muy variables a lo largo del proceso, siendo mayoritarios los phyla Ascomycota y Basidiomycota. En lo referente a los índices de biodiversidad, los valores más elevados se obtuvieron durante la fase mesófila, de enfriamiento y de maduración del proceso.

## Evaluación y control de bacterias resistentes a antibióticos en lodos de depuradora compostados a escala industrial

**María del Rosario Lerma Moliz<sup>1</sup>**, Juan Antonio López González<sup>1</sup>, Francisca Suárez Estrella<sup>1</sup>, Macarena del Mar Jurado<sup>1</sup>, María José López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, CIAIMBITAL, Dpto. Biología y Geología, Facultad de Ciencias Experimentales, 04120, Almería, España

Las trazas de antibióticos contenidas en diversos tipos de residuos de origen antropogénico, como es el caso de los lodos de depuradora, podrían ejercer una importante presión selectiva a nivel microbiano, y derivar en la aparición de bacterias portadoras de Genes de Resistencia a Antibióticos (ARGs). Una de las alternativas que se plantean para evitar la propagación de estos ARGs es el compostaje. Para comprobar la efectividad del compostaje de lodos de depuradora en la eliminación de estas bacterias, se analizaron muestras correspondientes a las principales fases de un proceso a escala industrial. Se analizaron distintos parámetros físico-químicos de control, indicadores de contaminación fecal y patógenos humanos, en concreto *Salmonella* y *Listeria*. En todos los casos se abordaron protocolos para la determinación de microbiota cultivable, aunque el género *Listeria* se rastreó también mediante qPCR. A partir de las muestras analizadas, se seleccionó un grupo de cepas que fueron caracterizadas mediante antibiograma respecto a la resistencia frente a antibióticos a  $\beta$ -lactámicos, macrólidos, aminoglucósidos y quinolonas. El análisis físico-químico de las muestras se correspondió con la evolución típica de un proceso de compostaje de lodos de depuradora. Los recuentos correspondientes a *E. coli* fueron  $<1000$  UFC/g, cumpliendo lo estipulado en la normativa vigente. En cuanto a la presencia de patógenos, *Salmonella* fue detectada en la etapa bio-oxidativa, mientras que *Listeria* estuvo ausente en todas las muestras. Se detectaron puntualmente casos de resistencia antibiótica en algunas de las cepas seleccionadas aunque en ningún caso estas fueron aisladas de la fase final del proceso.

### Calidad del compost en instalaciones de compostaje industrial en relacion a las condiciones del proceso de compostaje

**Ana B. Siles-Castellano**<sup>1</sup>, Juan A. López-González López-González<sup>1</sup>, Macarena M. Jurado<sup>1</sup>, María J. Estrella-González<sup>1</sup>, Francisca Suárez-Estrella<sup>1</sup>, María J. López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Almería, Área de Microbiología, Dpto. Biología y Geología, CITE II-B,, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, Carretera Sacramento s/n 04120, La Cañada de San Urbano, Almería, España

El compostaje es una alternativa económica y respetuosa con el medio ambiente para tratar los desechos orgánicos y convertirlos en un producto final, compost, que sea apto para la aplicación como abono en cultivos. Las condiciones operacionales aplicadas durante el compostaje deben ajustarse correctamente, para la obtención de un producto estable, maduro y adecuado para la agricultura. El objetivo de este trabajo fue evaluar cómo influyen las condiciones del proceso de compostaje en la calidad del compost obtenido en diferentes plantas de compostaje industrial, especialmente en lo relativo a la carga microbiana de origen fecal. Para ello se realizó un análisis comparativo del compost de 15 instalaciones de compostaje que procesan, residuos vegetales (RV), lodos de depuradora (L), residuos sólidos urbanos (RSU), residuos agroalimentarios (RA) y alpeorajo (ALP). Los muestreos se realizaron al inicio y final del proceso. Se analizaron parámetros indicadores de la madurez del compost y la presencia de bioindicadores de contaminación fecal, incluyendo índice de germinación (IG) y recuento de los grupos de coliformes, enterococos fecales, clostridios sulfito reductores y presencia de Salmonella. Los resultados mostraron que las plantas donde se obtuvo un compost menos fitotóxico, fueron RA, L y ALP con valores de IG >70%. Las plantas de RV y RSU presentaron un alto grado de fitotoxicidad obteniéndose valores de IG <30%. Los compost analizados presentaron cantidades significativas de microbiota fecal, pero aceptables por la legislación vigente, a excepción del compost RSU, debido a no mantener condiciones mínimas de higienización del proceso de compostaje.

Financing: Agradecimientos.: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad mediante el proyecto AGL2015-64512-R.

## Bioprospección de microorganismos degradadores de poliuretano

**Alba Iglesias Vilches<sup>1</sup>**, Javier Pascual<sup>2</sup>, Cristina Vilanova<sup>2</sup>, Manuel Porcar<sup>1,2</sup>

(1) Institute for Integrative Systems Biology I2SysBio (University of Valencia – CSIC), Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch 9, 46980, Paterna, Spain

(2) Darwin Bioprospecting Excellence S.L., Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch 9, 46980, Paterna, Spain

Los poliuretanos (PU) son polímeros compuestos por isocianatos y grupos hidroxilo. La combinación de estas dos familias de compuestos permite la producción de una amplia gama de productos con diferentes características, que incluyen espumas rígidas, flexibles, adhesivos, recubrimientos y selladores. La producción y el consumo constante de materiales plásticos de todo tipo resulta en la liberación de residuos de macro y micro plásticos en el medio ambiente. Debido a la persistencia del PU en el ambiente, existe la necesidad de encontrar microorganismos y enzimas capaces de degradar de manera eficiente estos compuestos. Este trabajo describe la selección, aislamiento y caracterización de microorganismos provenientes de una amplia variedad de residuos basados en PU mediante el uso de una estrategia que combina las técnicas de cultivo convencionales con secuenciación de última generación.

Financing: MIPLACE project (ref: PCI2019-111845-2, Programación Conjunta Internacional 2019, AEI).



## Aislamiento y caracterización de un exopolímero de *Bacillus licheniformis* y sus aplicaciones biotecnológicas

**Enrique Sánchez León**<sup>1</sup>, Raquel Bello-Morales<sup>1,2</sup>, Jose Antonio López Guerrero<sup>1,2</sup>, Ana Poveda<sup>3</sup>, Jesús Jiménez-Barbero<sup>3,4</sup>, Nuria Gironés<sup>1,2</sup>, Concepción Abrusci<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Autónoma Madrid, Biología Molecular, Ciencia, Cantoblanco, 28049, Madrid, España

(2) Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-UAM, Madrid, España

(3) CIC bioGUNE, Basque Research and Technology Alliance-BRTA, Parque Científico Tecnológico de Bizkaia, 48160, Derio, Bizkaia, España

(4) Ikerbasque, Basque Foundation for Science, 48009, Bilbao, Bizkaia, España

El exopolímero (EPSp) producido por la cepa *B. licheniformis* IDN-EC se aisló y caracterizó mediante diferentes técnicas (HPLC, MALDI-TOF, NMR, ATR-FTIR, TGA, DSC, SEM). Los resultados mostraron un EPS de bajo peso molecular altamente cristalino, siendo un biopolímero notablemente termoestable, con una estructura tridimensional en forma de escamas entrelazadas con finas fibras resultando un scaffold natural. El EPSp estaba constituido por una cadena larga de ácido poliglutámico y por un ácido teicoico extracelular. Este último estaba compuesto de poli (glicerol fosfato) con sustituciones de  $\alpha$ Gal en la posición 2 de los residuos terminales de glicerol y modificaciones adicionales de  $\alpha$ GlcNH<sub>2</sub>, dando una proporción aproximada de  $\alpha$ Gal/  $\alpha$ GlcNH<sub>2</sub> de 3:1 ratioM. Además, se encontró que la posición O-6 de  $\alpha$ Gal estaba sustituida por un grupo fosfato. La capacidad antiviral de este EPSp también se probó tanto en virus con envuelta (herpesvirus HSV, PRV y virus estomatitis vesicular VSV) como en virus sin envuelta (MVM). El EPSp fue eficaz para inhibir la entrada viral de los herpesvirus y el VSV, pero no fue eficaz contra los virus sin envuelta. El ensayo in vivo de el EPSp en ratones no mostró signos de toxicidad.

## Adaptación del ciliado *Tetrahymena thermophila* a sales de Europio: toxicidad, bioacumulación y respuesta antioxidante.

Javier Blas Sánchez<sup>1</sup>, Patricia Alonso Andrés<sup>1</sup>, **Ana Martín González<sup>1</sup>**, Juan Carlos Gutiérrez Fernández<sup>1</sup>

(1) Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Biología, Universidad Complutense, 28040-Madrid, España.

El europio (Eu) es un metal perteneciente a los lantánidos. Los compuestos de Eu tienen un gran interés en biología, medicina y diversas tecnologías relacionadas con la imagen y la óptica. Estudios sobre su toxicidad, bioacumulación y posible biomineralización en microorganismos eucariotas son escasos. Se obtuvieron cepas adaptadas a concentraciones crecientes de cloruro de Eu ( $\text{EuCl}_3$ ) (5,5 mM) (cepa TtEuCl-adap) y de óxido de Eu ( $\text{Eu}_2\text{O}_3$ ) (8,5 mM) (cepa TtEuO-adap). En *T. thermophila*, el  $\text{EuCl}_3$  es más tóxico que el  $\text{Eu}_2\text{O}_3$ , debido a la generación de radicales peróxidos, detectados por citometría de flujo, como principales componentes de un estrés oxidativo. Este estrés se amortigua por la sobreexpresión de genes codificantes de enzimas antioxidantes y metalotioneinas, cuya expresión fue analizada por RT-PCR cuantitativa. En la cepa silvestre, los rankings de inducción relativa para el tratamiento con  $\text{EuCl}_3$  es:  $\text{GSTM3} > \text{TrxR5} > \text{SOD-Fe} \approx \text{GR1} > \text{GCL}$ , y con  $\text{Eu}_2\text{O}_3$  es:  $\text{SOD-Fe} \gg \text{TrxR5} > \text{GSTM3} > \text{GSTZ2} \approx \text{SOD-Cu} \approx \text{GR1} > \text{GCL}$ . Por el contrario, las cepas adaptadas presentan bajos niveles de expresión para estos genes, excepto la cepa TtEuO-adap que sobre-expresa unas 6 veces la enzima catalasa. Respecto a las metalotioneinas, los rankings obtenidos son; ( $\text{Eu}_2\text{O}_3$ ):  $\text{MTT1} \gg \text{MTT5} > \text{MTT3} > \text{MTT2/4}$ , ( $\text{EuCl}_3$ ):  $\text{MTT3} \gg \text{MTT1} > \text{MTT2/4} > \text{MTT5}$ . Un mecanismo de detoxificación celular de los compuestos de Eu(III), consiste en la bioacumulación intracelular del metal en complejos granulares vacuolares y su expulsión al exterior celular. Actualmente, se está analizando por microanálisis la naturaleza química de estos complejos.

Financing: Financiado por el proyecto de investigación GCL2016-75494-R

### Caracterización de la ruta de degradación de ibuprofeno en *Sphingomonas wittichii* MPO218

**Magaly Isabel Aulestia Herrera**<sup>1</sup>, Amando Flores Diaz<sup>1</sup>, Eduardo Santero Santurino<sup>1</sup>, Eva María Camacho Fernández<sup>1</sup>

(1) CABD-Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

*Sphingomonas wittichii* MPO218, es una bacteria capaz de crecer con ibuprofeno como única fuente de carbono y energía, contiene al plásmido natural pIBU218 que hemos demostrado que es conjugativo y cuya adquisición es suficiente para conferir el fenotipo degradador a *Sphingopyxis granuli* TFA. Este plásmido es inestable ya que sufre diferentes deleciones cuando no se selecciona su crecimiento con ibuprofeno. Utilizando un enfoque genético clásico, hemos estudiado la vía metabólica completa del ibuprofeno en MPO218. Además de los genes necesarios, descritos en estudios anteriores, para la vía superior que termina en los intermediarios propionil-coA y 4-isobutilcatecol, hemos identificado otras dos regiones de ADN necesarias para metabolizar ibuprofeno. Una de ellas localizada en el cromosoma de MPO218 en una zona conservada en otras cepas de *Sphingomonas*, relacionada con la metabolización del propionil-coA a través de la vía del metilmalonil-CoA. La otra región mapea en pIBU218 y parece contener los genes necesarios para la vía central de metabolización del ibuprofeno que da lugar a intermediarios del ciclo de Krebs. Esta región incluye dos agrupaciones de genes implicados en la degradación de compuestos aromáticos, parte de los cuales parecen haber sido reclutados para la degradación del ibuprofeno. Ambas agrupaciones se activan a nivel de transcripción en presencia de un intermediario metabólico desconocido de la vía superior del ibuprofeno. Basándonos en nuestros resultados, hemos propuesto la vía completa para la metabolización del ibuprofeno en MPO218.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España con la subvención BIO2014-57545-R

## Aislamiento y caracterización de consorcios microbianos degradadores de contaminantes emergentes

**Inés Canosa**<sup>1</sup>, José Manuel Garrido<sup>1</sup>, Amando Flores Díaz<sup>1</sup>

(1) Universidad Pablo de Olavide/CABD/CSIC/JA, Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Ciencias Experimentales, Ctra. Utrera km 1, Sevilla, España

La biodegradación de compuestos recalcitrantes con estructuras químicas complejas ha sido un enfoque muy potente y popular desde los años 80 y los estudios en condiciones de laboratorio se han centrado tradicionalmente en el uso de cultivos bacterianos puros. Sin embargo, el uso de consorcios bacterianos en forma de comunidad microbiana estable, puede ayudar a eliminar los efectos de metabolitos tóxicos acumulados, ya que pueden ser utilizados como sustrato para el crecimiento de otros componentes del consorcio. Además, se aprovecha el potencial de aquellas especies no cultivables en la naturaleza, que contribuyen a diversos procesos metabólicos, así como la transferencia horizontal de información genética durante el proceso. En el laboratorio hemos aislado un conjunto de consorcios bacterianos que crecen a expensas de contaminantes emergentes como fármacos de amplio uso hospitalario (analgésicos y los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), como el ibuprofeno, el naproxeno y el diclofenaco). Tras una caracterización fenotípica y genética preliminar, se procederá al estudio metagenómico y metatranscriptómico para determinar tanto la composición del consorcio, como el patrón de expresión génica que permita identificar qué rutas metabólicas se están expresando durante el proceso de biodegradación, con la finalidad de realizar una reconstrucción metabólica de los procesos que están teniendo lugar.

Financing: Ayuda Plan Propio 2020 UPO para la concurrencia al Plan Estatal I+D

### Aislamiento y caracterización de un exopolímero de *Bacillus* sp y sus aplicaciones biotecnológicas

**Elisa Huang**<sup>1</sup>, Enrique Sánchez León<sup>1</sup>, Concepción Abrusci<sup>1,2</sup>

(1) Universidad Autónoma de Madrid, Biología molecular, Facultad de Ciencias, Cantoblanco, 28049, Madrid, España

(2) Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-UAM, Madrid, España

Los microorganismos extremófilos, capaces de vivir bajo condiciones extremas de temperatura, pH, presión, salinidad y radiación, han proporcionado herramientas invaluable para su aplicación en una amplia gama de procesos biotecnológicos, destacando entre ellos, el estudio en la producción de exopolisacáridos, siendo estos de gran interés para diversas aplicaciones industriales. En el presente estudio, se aisló y caracterizó una cepa bacteriana procedente de los sedimentos del Río Tinto mediante pruebas morfológicas, bioquímicas y de biología molecular amplificando la región 16S ARNr por PCR. Se determinó que era un *Bacillus* gram + esporulado con capacidad de movimiento. A partir de ensayos bioquímicos, presentó una reacción positiva frente a ONPG, CIT, TDA, VP y GEL, sensibilidad frente a Cloranfenicol, Cefalotina, Tetraciclina, Ácido Nalidíxico, Entromicina, Estreptomina y Trimetoprim, además de actividad catalasa positiva. El estudio de la optimización en la producción de EPS en diferentes medios de cultivo determinó que el mejor medio fue el medio mínimo suplementados como única fuente de carbono la glucosa. Seguidamente, se determinó su composición química basado en el análisis por cromatografía de gases tratándose de un heteropolisacárido compuesto principalmente de glucosa y galactosa en una proporción 1:1 ratioM. La capacidad emulgente se probó con diferentes concentraciones de EPS en aceites (oliva, girasol, coco y sésamo) y en hidrocarburos (diésel, tolueno y hexano). Además, se comparó frente a emulsificantes comerciales (Tween 20, SDS y Tritón X – 100) a las mismas concentraciones. El EPS fue capaz de emulsionar los diferentes aceites naturales, presentado mayor capacidad en la concentración más baja.

## El proceso de compostaje como fuente de proteobacterias productoras de antibióticos

Juan Antonio López González<sup>1</sup>, María del Rosario Lerma Moliz<sup>1</sup>, Francisca Suárez-Estrella<sup>1</sup>, Macarena del Mar Jurado<sup>1</sup>, Álvaro Rubio González<sup>1</sup>, María José López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Almería, Biología y Geología, Experimentales, CITE II-B, Campus Agroalimentario de Excelencia Internacional ceiA3, CIAIMBITAL, 04120, Almería, Spain, Almería, España

La aparición de resistencias a antimicrobianos, hace necesaria la búsqueda de nuevos antibióticos que intenten frenar la amenaza global que supone la propagación de superbacterias. En este estudio, se llevó a cabo la búsqueda de agentes productores de compuestos antibióticos entre aislados del filo Proteobacteria procedentes del proceso de compostaje de residuos vegetales. Para ello, se estudió la inhibición del crecimiento producida en enfrentamientos in vitro entre una colección de 150 proteobacterias y los patógenos humanos tipo *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Las cepas que inhibieron el crecimiento de ambos patógenos se seleccionaron para generar extractos acelulares sobre los que determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de ambos patógenos. Además, se realizó un estudio molecular mediante el rastreo por PCR de los genes asociados a policétido sintasas (PKS) y sintetetas de péptidos no ribosomales (NRPS). Finalmente, se llevó a cabo un análisis por cromatografía de líquidos (LC-QTrap) de las moléculas biosanitarias más interesantes producidas por las cepas con mejores resultados en CMI. Un total de 25 cepas inhibieron el crecimiento de ambos patógenos. Los resultados de CMI mostraron valores que oscilaban entre las diluciones 1:1 y 1:4, salvo dos cepas de las especies *Chelatococcus daeguensis* y *Pseudomonas xanthomarina*, con las cuales se alcanzaron diluciones de hasta 1:8. El estudio molecular no detectó ningún amplicón asociado a PKS o NRPS, aunque por cromatografía se detectaron hasta siete compuestos de interés biosanitario. Por lo tanto, los aislados de Proteobacteria en compostaje suponen un destacado foco de producción de antibióticos.

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del los proyectos AGL2009-08405 y AGL2012-36434



### Efecto de los TPHs en la biodegradación de ETBE en un proceso de bioaugmentación y bioestimulación in-situ

**Yolanda Lucas Márquez<sup>1</sup>**, Miriam Guivernau Ribalta<sup>1</sup>, Isabel Mori Sánchez<sup>2</sup>, Marc Viñas Canals<sup>1</sup>

(1) Institut de Recerca i Tecnologia agroalimentàries (IRTA), Gestió Integral de Residus Orgànics (GIRO), Torre Marimon s/n E-08130, Caldes de Montbui, España

(2) iBIOTEC, Campomanes, 23, 4ºB, 33008, Oviedo, España

La elevada solubilidad en agua y baja biodegradabilidad del etil tert butil éter (ETBE), aditivado en gasolinas, genera plumas contaminantes extensas en el agua subterránea. En zonas próximas al foco los TPHs (GRO y DRO) pueden limitar la biodegradación del ETBE y el TBA. Este efecto está poco estudiado en procesos de biorremediación in-situ. El presente estudio tiene como objetivo estudiar esta interacción en procesos de bioestimulación y bioaugmentación de un emplazamiento industrial afectado por contaminación mixta de ETBE ( $> 3000 \mu\text{g/L}$ ) y TPH (entre  $500\text{-}3000 \mu\text{g/L}$ ). Para ello se ha utilizado un consorcio sintético degradador de ETBE y TBA, y una estrategia de bioestimulación aerobia con adición de nutrientes, monitorizando los parámetros fisicoquímicos y la población de genes funcionales (y su expresión) ligados a la biodegradación de TPH y ETBE (ethB y alkB respectivamente), durante un periodo de 250 días. Durante la bioestimulación se observó la presencia de microbiota activa degradadora de ETBE-TBA, en bajas concentración de TPH-GRO ( $< 500 \mu\text{g/L}$ ), con concentraciones bajas finales de ETBE ( $400 \mu\text{g/L}$ ) y eliminando el TBA residual ( $< 100 \mu\text{g/L}$ ). La presencia de elevadas concentraciones de TPH-DRO ( $1000\text{-}3000 \mu\text{g/L}$ , del rango DRO) en el pozo bioaugmentado, frenó la biodegradación de ETBE y TBA en los primeros 100 días de remediación, e inhibió la expresión génica del gen ethB, y activando alkB ligado a la degradación de TPH. La combinación de herramientas moleculares y datos F/Q de campo permitieron tomar decisiones in-situ para mejorar el proceso de biorremediación.

Financing: OP6253 M1999 (privado)

## Docencia y Difusión de la Microbiología Presentación oral

### Comunicar, revisar, difundir y emprender en Biotecnología. Un estudio a lo largo de ocho cursos

**Manuel Sánchez Angulo<sup>1</sup>**

(1) Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, Campus de Elche, Universidad Miguel Hernández, Elche 03202 (Alicante), España.

La adquisición de competencias por parte de los estudiantes es una de las metas perseguidas tras la implantación del EEES. Se ha diseñado una actividad docente de trabajo de grupo en el que los estudiantes deben analizar el contenido de un artículo científico y posteriormente realizar las siguientes tareas: Presentar los resultados científicos mediante una exposición pública· Ejercer de revisores-evaluadores (referees) del trabajo de sus compañeros· Realizar un hilo de Twitter como actividad de divulgación científica· Exponer una idea de negocio biotecnológicoLa actividad permite a los alumnos aprender a manejar la literatura científica y fomenta el espíritu emprendedor y el trabajo en equipo. Fue implantada inicialmente en el curso 2011-12 como una especie de trasunto de un congreso científico en el que los alumnos debían presentar unas comunicaciones científicas. Además, la exposición pública estaba diseñada para que fuera lo más parecida posible a su futura exposición de su trabajo de fin de grado (TFG). El contenido y desarrollo de la actividad se ha ido refinando y mejorando mediante la recogida de los comentarios en las encuestas realizadas a los alumnos. Dichas encuestas se llevaban a cabo en dos momentos concretos de la vida del estudiante. La primera encuesta se realiza una vez han finalizado la asignatura. La segunda encuesta se realiza dos años después cuando el alumno cursa 4º curso. De esa forma se valora de manera mucho más precisa si la actividad es considerada por los alumnos como útil para su formación integral como biotecnólogos.

### Microbio-Juegos: Ludificación para aprender Microbiología en la Universidad de Sevilla

**Rafael Ruiz de la Haba**<sup>1</sup>, Cristina Sánchez-Porro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Calle Profesor García González, 2, Sevilla, España

La gamificación o ludificación es una herramienta muy útil y cada vez más demandada en el ámbito educativo a todos los niveles, y por ello la estamos aplicando en diversas asignaturas del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Sevilla, con gran aceptación por parte del alumnado. Esta iniciativa lúdico-docente se remonta al año 2011 en el que comenzamos a emplear mandos interactivos de respuestas (sistema EduClick) y que en los últimos tiempos hemos reemplazado por la aplicación Socrative para dispositivos móviles. También hemos implementado una actividad basada en el concurso televisivo Pasapalabra, en el que elaboramos roscos de preguntas que los alumnos debían contestar en equipos y así poder acumular aciertos. Esta herramienta la hemos utilizado tanto en docencia presencial como online en tiempos de pandemia, adaptada a su realización mediante nuestra Plataforma Virtual educativa. Por último, hemos aplicado la metodología de las Escape Rooms a nuestra docencia. Para ello, hemos ambientado una sala en la que un grupo de alumnos quedan atrapados en un laboratorio y deben de resolver una serie de enigmas para poder salir. Se han incluido preguntas, acertijos, prácticas de laboratorio y retos de muchas de las disciplinas impartidas en nuestra Facultad, incluyendo, como no podía ser de otra forma, la Microbiología. Durante el curso 2018-2019 creamos la sala de escape titulada FarmaEscape: El incidente ([https://www.youtube.com/watch?v=xq0i-\\_LnMss](https://www.youtube.com/watch?v=xq0i-_LnMss)) y el curso 2019-2020 implementamos FarmaEscape2: La última cena (<https://www.youtube.com/watch?v=-DSLt3Vv1jc>). Más información en: <https://www.instagram.com/farmaescape/>

Financing: Este trabajo ha sido financiado por el III Plan Propio de Docencia de la Universidad de Sevilla.

## La microbiología a debate

**Jessica Gil Serna**<sup>1</sup>, Lucía Arregui<sup>1</sup>, Ignacio Belda<sup>1</sup>, Merche Martin Cereceda<sup>1</sup>, Belén Patiño Álvarez<sup>1</sup>, Blanca Perez Uz<sup>1</sup>, Susana Serrano<sup>1</sup>, Covadonga Vázquez Estévez<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, CC Biológicas, Jose Antonio Nováis 12, Madrid, España

En esta comunicación se expondrán los resultados de un proyecto de innovación docente realizado durante el curso 20-21 en la Facultad de Biología de la UCM, en el que han participado profesores, investigadores externos especializados en distintas áreas de la Microbiología y más de 200 alumnos. El principal objetivo del proyecto fue utilizar el debate como una metodología activa e innovadora en el proceso de aprendizaje, fomentando el trabajo en equipo y motivando la capacidad de síntesis argumentativa y crítica del estudiantado. Se establecieron así equipos de alumnos encargados de defender una postura sobre el tema asignado y de crear materiales en plataformas digitales, incorporando así las TICs a la docencia de la asignatura Microbiología. Cada grupo trabajó en: a) Una introducción objetiva al tema general del debate en formato vídeo; b) La selección y curado de contenidos bibliográficos relevantes sobre el tema sometido a debate que se han incorporado en la plataforma list.ly; y c) Una serie de micropíldoras de información en formato libre audiovisual con los argumentos principales a defender en el debate. Las actividades elaboradas a lo largo del año culminaron en una sesión presencial donde los alumnos defendieron sus argumentos en un debate científico. Las encuestas realizadas a los estudiantes al final del curso han revelado el alto grado de aceptación de la propuesta. Se mostrarán los distintos indicadores de impacto conceptual y cuantitativo, comparando las experiencias del alumnado en la realización de las actividades en castellano con aquellos que las llevaron a cabo en inglés.

Financing: Esta actividad está encuadrada en el proyecto INNOVA-UCM 136/2020.

### Proyecto MICROBASE: Elaboración de una base de datos genómicos y proteómicos para la formación de estudiantes de Microbiología.

Antonio Domenech Sánchez<sup>1,2</sup>, Joseph Alexander Christie-Oleza<sup>1</sup>, **Rafael Bosch Zaragoza**<sup>1,3</sup>

(1) Universitat de les Illes Balears (UIB), Departament de Biologia, Palma de Mallorca, España

(2) IUNICS (IDISBA-UIB), Palma de Mallorca, España

(3) IMEDEA (CSIC-UIB), Esporles, España.

Desde el curso 2009-10, los estudiantes de la asignatura "Microbiología" del segundo curso de los grados de Biología y Bioquímica de la Universidad de las Islas Baleares realizan una actividad consistente en la anotación e interpretación biológica de una colección de plásmidos diseñados por nosotros mismos (Domenech-Sanchez & Bosch, 2012. ISBN: 8876477578) utilizando las herramientas ORFfinder y BLASTP del NCBI. A partir del curso 2016-17 se observó una bajada en las calificaciones de dicha actividad justificada por la imprecisión de la anotación y la consecuente interpretación biológica de la información codificada. El motivo de ésta se centraba en el enorme incremento de las bases de datos genómicas, que dificultaba la obtención de anotaciones precisas en los primeros resultados obtenidos por los estudiantes tras analizar las CDSs identificadas con BLASTP. Por este motivo, y en el marco del proyecto de innovación docente MICROBASE, financiado por la Universidad de las Islas Baleares en la convocatoria 2020-21, se planteó la reformulación de la actividad, generándose nuevo material multimedia que agilizase el trabajo de los estudiantes, y se diseñó una base de datos proteómica curada, para aplicar in house tras el análisis preliminar realizado con las herramientas disponibles en el NCBI, que permitiese a los alumnos interpretar de manera precisa los resultados de la anotación. En esta comunicación se presentará el material multimedia diseñado, dirigido tanto para los alumnos como para el profesor, así como la estrategia seguida en aula para realizar la anotación e interpretación de los plásmidos problemas.

Financing: PID202150. Ajuts per a projectes d'innovació i millora de la qualitat docent, convocatoria 2020-21. Universitat de les Illes Balears (UIB).

## La resistencia a los antibióticos a pie de calle.

**Paula de la Huerta Bengoechea**<sup>1</sup>, Darío Lago Espartero<sup>1</sup>, Begoña de Frutos Martínez<sup>1</sup>, Laura Bermúdez Garrido<sup>1</sup>, Sebastián Serrano Durruty<sup>2</sup>, Ricardo Serrano Durruty<sup>2</sup>, Óscar Domínguez Seijo<sup>2</sup>, Alejandra Maritza Rivadeneira Sánchez<sup>2</sup>, Javier Antón Ordóñez<sup>2</sup>, Mainer Alonso Maestre<sup>2</sup>, Irene Santiago Gómez<sup>2</sup>, Gonzalo Gelado Rodríguez<sup>2</sup>, Gonzalo Bravo Blanco<sup>2</sup>, Xiang Le Zhu<sup>2</sup>, Jorge Jiménez Navas<sup>2</sup>, Sofía Martín<sup>2</sup>, Belén Patiño Álvarez<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Biología, Calle de José Antonio Novais, 28040, Madrid, Madrid, España

(2) IES Santa Teresa de Jesús, Calle de Fomento, 9, 28013, Madrid, Madrid, España

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas. La resistencia a antibióticos es un proceso que ha acompañado al desarrollo de fármacos desde sus inicios, convirtiéndose en estos últimos tiempos en un problema de salud global que solo se puede abordar desde el enfoque "One health". Para analizar el grado de conocimiento que tiene la población general sobre este grave problema los estudiantes del IES Santa Teresa de Jesús desarrollaron una encuesta sobre el uso de antibióticos y la percepción del riesgo sobre su mal uso. Para ello entrevistaron a un total de 35 personas dentro de un rango de edades de 14 a 85 años, en diferentes puntos previamente seleccionados como una farmacia, un parque o una panadería, grabando en audio dichas entrevistas, lo que facilita su difusión. El haber escogido estas ubicaciones nos permitió saber los conocimientos sobre el tema de un público muy amplio y diverso, desde la gente que se medica con más frecuencia y de mayor media de edad (farmacia) a la gente más deportista y joven (parque). Sus conclusiones fueron claras: es necesaria una mayor concienciación sobre dicho problema. De hecho, se pone de manifiesto que la mayoría de gente cree que lo que se hace resistente es nuestro cuerpo, no la bacteria, por lo que piensan erróneamente que el problema no les afectará si ellos hacen un buen uso. Finalmente, se facilitó un folleto informativo sobre el buen uso de los antibióticos que habían desarrollado otros compañeros del instituto.

Financing: Trabajo financiado por el UCM-ApS 22/2019



### Enseñando sobre la resistencia a antibióticos a través de TikTok

Clara Melguizo<sup>1</sup>, Covadonga Pérez-García<sup>1</sup>, Ana Pérez-Seco<sup>1</sup>, Patricia De Miguel-Pickers<sup>1</sup>, Alessandra Ruiz-Sánchez<sup>1</sup>, Diego Heras<sup>1</sup>, Elisa Sánchez-Martínez<sup>1</sup>, Ana Zorrilla<sup>2</sup>, Manoli Rodríguez<sup>2</sup>, Covadonga Vázquez<sup>1</sup>, **Julio Sempere**<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Biología, C. de José Antonio Novais, 12, 28040, Madrid, España

(2) IES Margarita Salas, Departamento de biología y geología, Calle María Teresa León, 1, 28220, Majadahonda, España

El desarrollo de resistencias bacterianas frente a los antibióticos es uno de los problemas de salud global más urgentes actualmente. Englobada dentro del Proyecto de Aprendizaje-Servicio "Micromundo", desarrollamos una iniciativa de aprendizaje activo y divulgación sobre la resistencia a antibióticos en la red social TikTok. En esta propuesta, que se encuentra englobada dentro de la estrategia de comunicación del PRAN, eran los alumnos del IES Margarita Salas los encargados de desarrollar videos sobre esta temática y divulgarlos a través de la plataforma TikTok. Las redes sociales han surgido como novedosas herramientas para la divulgación científica, al ser plataformas altamente extendidas en la población. Además, suponen herramientas de fácil acceso para los más jóvenes, habituados a usarlas de manera cotidiana. Es por estas ventajas que elegimos TikTok como la herramienta más sencilla para divulgar el gran problema de resistencia a antibióticos. Para su desarrollo, los estudiantes de la Universidad Complutense de Madrid expusieron, a lo largo de varias sesiones, la problemática de la resistencia a antibióticos y el concepto "One Health" a los alumnos del IES Margarita Salas. Tras estas sesiones, se les planteó la tarea de realizar distintos videos cortos divulgando sobre qué es la resistencia a antibióticos y diversos malos hábitos que contribuyen a su desarrollo. Para su realización los estudiantes tuvieron que manejar distintas bases bibliográficas como: OMS, PRAN o CDC. El conocimiento adquirido, la implicación y el entusiasmo de los estudiantes del Bachillerato queda reflejado en una serie de videos recogidos en la cuenta de TikTok @micromundomajadahonda

**Docencia y Difusión de la Microbiología**  
**E-poster**

**¡...9 y acción! Rodando en el laboratorio de Microbiología**

**Elena Ortega Morente**<sup>1</sup>, Rosario Lucas López<sup>1</sup>, Rubén Pérez Pulido<sup>1</sup>, María José Grande Burgos<sup>1</sup>, Antonio Cobo Molinos<sup>2</sup>, Javier Rodríguez López<sup>1</sup>, Laura Mena Ordóñez<sup>1</sup>, Natalia Andújar Tenorio<sup>1</sup>, María Belén Iglesias Valenzuela<sup>1</sup>

(1) Universidad de Jaén, Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Experimentales, Paraje Las Lagunillas S/N, Jaén, España

(2) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Facultad de Farmacia, Granada, España

La situación sanitaria desencadenada por la pandemia en este último año nos ha dificultado mucho la tarea de divulgar la Microbiología como veníamos haciendo hasta ahora. Por ello, a petición de la Unidad de Cultura Científica y de la Innovación de la Universidad de Jaén y para atraer a alumnos de Educación Primaria hacia el mundo científico, 9 compañeros del área de Microbiología de las Universidades de Jaén y de Granada realizamos dos talleres online en que mostramos la metodología que empleamos habitualmente para el análisis de alimentos en Microbiología. Participaron dos centros de la provincia de Jaén, el CEIP San Isidro Labrador de Puente de Génave, con el taller "Alimentos y publicidad: ¿tenemos que leer la letra pequeña?" y el Colegio San Joaquín de Linares, con el taller "Como analizamos los alimentos en un laboratorio de Microbiología". Para llevarlo a cabo, desde los puestos de trabajo de nuestro laboratorio docente les fuimos mostrando cada paso del análisis de alimentos que ellos mismos habrían realizado si hubieran podido asistir presencialmente al taller. Hicimos un auténtico rodaje y retransmisión en directo a través de plataformas digitales, con tiempo también para contestar todas las preguntas que surgieron. También hemos grabado un taller de Tinción y observación de levaduras, que se difundirá a través de la plataforma UJA Divulga Online y que podrán reproducir en centros educativos de distintos niveles. Confiamos en haber contribuido a hacer un poco más llevadero este curso sin salidas, excursiones, ni talleres presenciales a causa de la situación sanitaria.

### Un, dos, tres... MicroMundo@Sevilla

**Cristina Sánchez-Porro**<sup>1</sup>, Eloisa Pajuelo<sup>1</sup>, Ignacio Rodríguez-Llorente<sup>1</sup>, Montserrat Argandoña<sup>1</sup>, Isabel Comino<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> de Lourdes Moreno<sup>1</sup>, Francisco Javier López-Baena<sup>2</sup>, Rocío Callejón<sup>1</sup>, Antonio Zurita<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Antonia Sánchez-Romero<sup>1</sup>, Francine Piubeli<sup>1</sup>, Salvadora Navarro-Torre<sup>1</sup>, Ángela M<sup>a</sup> García<sup>1</sup>, Cristina Galisteo<sup>1</sup>, Ana Durán-Viseras<sup>1</sup>, Rosa García-Valero<sup>1</sup>, Rocío Fernández-Fernández<sup>3</sup>, Julia Rivero<sup>1</sup>, Lourdes Martínez<sup>1</sup>, Manuel Merinero<sup>1</sup>, Ángela Ruiz-Carnicer<sup>1</sup>, Verónica Segura<sup>1</sup>, Emilia Naranjo<sup>1</sup>, Antonio Ventosa<sup>1</sup>, Rafael R. de la Haba<sup>1</sup>

(1) Universidad de Sevilla, Microbiología y Parasitología, Farmacia, Calle Profesor García González 2, 41012, Sevilla, España

(2) Universidad de Sevilla, Microbiología, Biología, Avenida Reina Mercedes, 41012, Sevilla, España

(3) Universidad de Sevilla, Genética, Biología, Avenida Reina Mercedes, 41012, Sevilla, España

La Universidad de Sevilla se unió al proyecto MicroMundo desde que, tras asistir al I Workshop SWI@ Spain organizado por la Universidad Complutense de Madrid en julio de 2017, percibimos el potencial impacto de un proyecto en el que merecía la pena embarcarse. Para su implantación en nuestra Universidad hemos contado con financiación del Vicerrectorado de Relaciones Institucionales y del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad de Sevilla. Nuestra andadura empezó el curso 2017-2018, con la participación de solo dos centros educativos (unos 50 alumnos), ampliándose a cuatro centros en el curso 2018-2019. Durante el pasado curso 2019-2020 teníamos planeado realizar la actividad en 10 centros de la provincia de Sevilla, implicando a casi 700 alumnos, aunque el confinamiento por COVID-19 disminuyó ligeramente nuestras expectativas. Contamos con el apoyo de numerosos profesores y doctorandos de varios Departamentos y Facultades, así como de un número elevado de alumnos del Grado en Farmacia, Doble Grado en Farmacia, Óptica y Optometría y Grado en Biología. Hemos conseguido aislar 64 cepas con actividad antimicrobiana que estamos caracterizando en la actualidad y serán objeto de un estudio más detallado en un futuro. Con este fin hemos propuesto la realización de varios Trabajos Fin de Grado experimentales.

Financing: Plan Propio de Decencia de la Universidad de Sevilla

## Elaboración de material docente audiovisual para prácticas de microbiología

**Matilde Fernández Rodríguez**<sup>1</sup>, Ana Isabel Del Moral García<sup>1</sup>, Mercedes Monteoliva Sánchez<sup>1</sup>, Fernando Martínez-Checa Barrero<sup>1</sup>, María Jiménez Varela<sup>1</sup>, Inmaculada Llamas Company<sup>1</sup>, Antonio Cobo Molinos<sup>2</sup>, Inmaculada Samp Pedro Quesada<sup>1</sup>, Elizabet Aranda Ballesteros<sup>1</sup>, Manuel Montalbán López<sup>2</sup>, Daniel Pérez Mendoza<sup>3</sup>, María Teresa Arias Moliz<sup>3</sup>, María Victoria Megías Sánchez<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus de Cartuja, Granada, España

(2) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Fuentenueva s/n, Granada, España

(3) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Odontología, Campus de Cartuja, Granada, España

La Enseñanza Superior ha sido objeto de profundos cambios desde la implantación del Plan Bolonia en las universidades europeas. El aspecto más innovador ha sido la modificación en la metodología de enseñanza-aprendizaje. Actualmente los sistemas educativos de todo el mundo se apoyan en herramientas innovadoras que ayudan al docente a transmitir sus conocimientos. La visualización de la realización de las técnicas de laboratorio de Microbiología es un instrumento fundamental que facilita a los estudiantes universitarios la comprensión de las mismas. La necesidad de virtualización de la enseñanza ante la situación de emergencia por COVID-19, así como el convencimiento de la utilidad de disponer de herramientas audiovisuales propias nos condujo a desarrollar un Proyecto de Innovación Docente con el objetivo básico de realizar una serie de vídeos con algunas de las técnicas que con frecuencia se incluyen en las Prácticas de distintas asignaturas impartidas por el Departamento de Microbiología de la Universidad de Granada. Son todos vídeos de corta duración, destinados a ser material de apoyo docente (no sustitutos del profesor), en los que se ha tratado de cuidar especialmente las normas de bioseguridad en el laboratorio y que han sido guionizados por los profesores integrantes del equipo del Proyecto. Las grabaciones y el montaje han sido realizados de manera profesional por el Servicio de Tratamiento de Imagen del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada. Los vídeos generados están disponibles para toda la comunidad educativa en DIGIBUG, el Repositorio Institucional de la Universidad de Granada, desde en el enlace <https://digibug.ugr.es/handle/10481/68583>

Financing: Proyecto financiado por el Plan FIDO UGR 2020-2022. Unidad de Calidad, Innovación Docente y Prospectiva de la Universidad de Granada.

### El proyecto Micro Mundo en tiempos de pandemia: cómo aprender sobre la resistencia a los antibióticos con un juego virtual

**Carolina Gómez Albarrán**<sup>1</sup>, Natividad Araújo Sánchez<sup>2</sup>, Andrea Martínez López<sup>1</sup>, Mara Rodríguez Aliaño<sup>1</sup>, Paloma Romero Pardo<sup>1</sup>, Jéssica Gil Serna<sup>1</sup>

(1) Universidad Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología, Ciencias Biológicas, Madrid, España

(2) Instituto de Educación Secundaria Federico García Lorca, Biología y Geología, Las Matas, Madrid, España

Micro Mundo es un proyecto educativo de Aprendizaje-Servicio que pretende incentivar a los estudiantes de instituto a cursar carreras científicas, así como, descubrir microorganismos productores de nuevos antimicrobianos en muestras de suelo. Debido a que este curso no se han podido realizar las actividades presenciales habituales, nuestro grupo de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense ha creado un escape room virtual con alumnos de 1º de Bachillerato del Instituto Federico García Lorca de Las Matas (Madrid). El juego se titula "ESKAPE ROOM: desde el Instituto luchando contra las Superbacterias" y su objetivo es concienciar a los estudiantes de todos los grados educativos, así como, a la población general del problema actual de la resistencia a los antibióticos y dar unas pautas para su correcto uso. El juego se ha realizado con la plataforma genial.ly y la historia se desarrolla en un instituto donde los estudiantes superan misiones para obtener un código que servirá para frenar el desarrollo de las superbacterias. La primera misión pretende dar a conocer la figura de Alexander Fleming. El segundo juego se desarrolla en el laboratorio y tiene como objetivo conocer el protocolo seguido en las prácticas que realizan habitualmente los estudiantes participantes en el proyecto Micro Mundo. La tercera misión, localizada en el gimnasio del instituto, aporta información sobre las especies que conforman las bacterias ESKAPE. La cuarta y última actividad trata de concienciar a la población del uso correcto de los antibióticos por medio de entrevistas a expertos en la materia.

Financing: Este trabajo está subvencionado por el proyecto ApS de la Universidad Complutense de Madrid (UCM-ApS 22/2019)

## De cómo una situación docente excepcional abrió puertas para la divulgación científica en la España vaciada

**Magdalena Martínez Cañamero**<sup>1</sup>, Natalia Andújar Tenorio<sup>1</sup>, Antonio Cobo Molinos<sup>2</sup>, Antonio Gálvez del Postigo Ruiz<sup>1</sup>, María José Grande Burgos<sup>1</sup>, María Belén Iglesias Valenzuela<sup>1</sup>, Laura Mena Ordóñez<sup>1</sup>, Elena Ortega Morente<sup>1</sup>, Rubén Pérez Pulido<sup>1</sup>, Javier Rodríguez López<sup>1</sup>, Rosario Lucas López<sup>1</sup>

(1) Universidad de Jaén, Departamento de Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Experimentales, Campus de Las Lagunillas s/n 23071, Jaén, España

(2) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus Universitario de La Cartuja s/n 18071, Granada, España

Nuestro equipo de investigación ha estado siempre muy implicado en la divulgación del conocimiento, y a través de los años ha colaborado activamente con la Unidad de Cultura Científica de la Universidad de Jaén, en programas como el Café con Ciencia, el Día de la Mujer y la Niña en la Ciencia, la Noche de los Investigadores y, muy especialmente, con la iniciativa Micromundo desde sus inicios. La UJA tiene una relación muy estrecha con todos los núcleos urbanos de la provincia y nuestra vocación ha sido siempre llevar nuestros talleres por toda la geografía jiennense. Sin embargo, esto no ha sido fácil debido a la amplitud del territorio y a la dificultad de acceso de determinadas poblaciones serranas. Esta dificultad se ve acentuada en aquellos talleres que requieren varios días, con repetidos viajes al centro educativo, lo que irremisiblemente conlleva un desequilibrio entre los municipios de fácil acceso y aquellos más distantes. Sin embargo, con la llegada del estado de alarma y la reinención online de la divulgación, uno de los resultados más inesperados fue que todos los centros, estuvieran en la capital o a tres horas de viaje en coche, tenían la misma probabilidad de estar en nuestros talleres, a un mismo click de distancia. Cuando volvamos al final de las restricciones y a la divulgación presencial, podremos aplicar todo lo aprendido y seguir usando las tecnologías online con objeto de optimizar la presencialidad para que hasta el más lejano de nuestros institutos pueda disfrutar la comunicación científica.

Financing: XI Plan de Divulgación Científica y de la Innovación, Universidad de Jaén, FECYT



## Proyecto colaborativo para la concienciación sobre el uso de antibióticos y búsqueda de nuevas bacterias productoras de antimicrobianos

Diego Arnal<sup>1</sup>, Margarita Ortigosa<sup>2</sup>, Dori Palencia<sup>3</sup>, Juan José Pérez<sup>3</sup>, Àngela Figàs<sup>1</sup>, Elena G. Biosca<sup>1</sup>, **Sergi Maicas**<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Microbiología y Ecología, Ciencias Biológicas, Dr. Moliner, 50, Burjassot, Espanya

(2) IES Vicent Andrés Estellés, Biología y Geología, C/ Cementerio, 2, Burjassot, Espanya

(3) CEIP San Juan de Ribera, C/ Josep Carrau, 3, Burjassot, Espanya

El abuso y/o uso inadecuado de antibióticos es un grave problema en nuestra sociedad facilitando que los microorganismos adquieran resistencias frente a estos compuestos antimicrobianos. Esto hace necesario la concienciación social, así como la búsqueda de nuevos antibióticos mediante distintas estrategias, siendo una de ellas la relacionada con la participación ciudadana. Basándonos en una estrategia de Aprendizaje-Servicio (ApS) nos centramos en buscar bacterias del suelo productoras de antibióticos. Los alumnos participantes han aprendido a desenvolverse en un ambiente científico, así como a divulgar conocimientos básicos sobre antibióticos, complementando su formación curricular. Se ha llevado a cabo formación de alumnos de 3 niveles educativos (1 de universidad, 14 de bachillerato y 42 de sexto de primaria) mediante sesiones teórico-prácticas. El alumno de universidad, tras formarse en la propuesta educativa, diseñó e impartió sesiones de formación teórica a los alumnos de bachillerato que después realizaron prácticas de aislamiento de bacterias del suelo y ensayos de antibiosis frente a bacterias testigo. Posteriormente, los alumnos de bachillerato diseñaron sesiones formativas adaptadas a primaria y las ejecutaron de manera práctica en el colegio. Los resultados más interesantes se expusieron en la feria científica Expociencia que organiza el Parque Científico de la Universitat de València.

Financing: SFPIE Universitat de València. RMD18-839102; RMD18-954062; 19-SPL\_325

## Divulgamos y aprendemos de forma activa sobre las superbacterias: proyecto DIVULSUPERBAC

**Belén Fouz<sup>1</sup>**, María Martínez<sup>1</sup>, M. Consuelo Pina Pérez<sup>1</sup>, Sergi Maicas<sup>1</sup>

(1) Departamento de Microbiología y Ecología, Universitat de València, 46100, Burjassot

Nuestro proyecto DIVULSUPERBAC tiene como objetivos principales a) involucrar a estudiantes universitarios de la Universitat de València (UV), que actúan como divulgadores y estimuladores de la vocación científica del alumnado preuniversitario y b) concienciar a la comunidad educativa (alumnos, profesores, familias) sobre el problema sanitario que representan las bacterias multirresistentes a los antibióticos (superbacterias). Está concebido como una actividad de Aprendizaje-Servicio (ApS), continuación de las anteriores de nuestro equipo MicroMundo@Valencia. La actividad seminal DIVULSUPERBAC consiste en una exposición de 14 infografías que el alumnado universitario (comisari@s) acerca a los centros educativos (12-14 por curso académico), en donde queda expuesta 1-2 semanas. La apertura se acompaña de una charla sobre el contenido de la exposición y se finaliza con una actividad de evaluación por parte de los comisari@s utilizando diferentes tecnologías. Los alumnos universitarios, supervisados por profesorado, realizan cuestionarios en grupos reducidos (tipo Kahoot, Trivial) con explicación de las respuestas, actividades escape room... basadas en los contenidos de la exposición. La actividad culmina con acciones complementarias en los centros educativos (cortometrajes, actividades ApS con niveles educativos inferiores...) y en sus entornos sociales (encuesta masiva para valorar el conocimiento del público generalista sobre el uso de antibióticos). Empleando estrategias colaborativas hemos conseguido transmitir conocimientos sobre el grave problema sanitario que representan las superbacterias a diferentes niveles educativos y sus respectivos entornos sociales, de una manera amena y rigurosa.

Financing: Proyectos Divulsuperbac UV-SFPIE\_PID19-1096021 y UV-SFPIE\_PID20-1353053, Universitat de València.

### Plataformas de streaming como recurso docente: brote cinematográfico de fiebre tifoidea en el siglo XVIII

**Laura Martínez<sup>1</sup>**, Miguel Rodríguez<sup>1</sup>, Inmaculada Sampedro<sup>1</sup>

(1) Universidad de Granada, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Campus de Cartuja S/N, 18071, Granada, España

Uno de los aspectos más innovadores de la implantación del Plan Bolonia en la Enseñanza Superior ha sido la modificación de la metodología de enseñanza-aprendizaje. En la actualidad, la mayoría de los sistemas educativos se apoya en herramientas innovadoras que ayuden al docente a transmitir sus conocimientos favoreciendo dicho proceso de enseñanza-aprendizaje. El profesorado debe centrar una parte importante de su esfuerzo en conseguir una docencia motivadora, actualizada y eficaz, dotada de una estrecha concordancia con las necesidades de la sociedad en la que se va a desarrollar la actividad del futuro profesional, y con un nivel de calidad exigible a las instituciones universitarias. En este sentido, el trabajo que se presenta aborda la utilización de la serie televisiva de actualidad "Outlander", para ayudar a la reflexión constructiva por parte del alumnado de los contenidos que se imparten en la asignatura Microbiología Alimentaria del Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada. Esta serie narra como Claire, una reconocida cirujana y exenfermera en la Segunda Guerra Mundial, rompe la barrera del espacio-tiempo y viaja al siglo XVIII. Los consolidados conocimientos de Claire en los ámbitos médico y microbiológico aportan al guion un sinfín de contenidos de gran valor divulgativo cuando esta debe hacer frente a un brote de fiebre tifoidea en alta mar en una época en la que esta enfermedad era aún desconocida. Esta herramienta educativa permite al estudiante recibir información sobre la fiebre tifoidea de una forma innovadora y amena, pero igualmente rigurosa.

## Creación de una base de datos con contenidos curados en microbiología

**Belén Patiño Álvarez<sup>1</sup>**, Lucía Arregui<sup>1</sup>, Alberto Guillen<sup>2</sup>, Mercedes Martín-Cereceda<sup>1</sup>, Blanca Pérez-Uz<sup>1</sup>, Susana Serrano<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Isabel De Silóniz<sup>1</sup>, Covadonga Vázquez<sup>1</sup>, Jéssica Gil-Serna<sup>1</sup>

(1) Complutense de Madrid, Genética, Fisiología y Microbiología,, Ciencias Biológicas, José Antonio Novais 12, Madrid,, España

(2) Complutense de Madrid, Bioquímica, Ciencias Biológicas, José Antonio Novais 12, Madrid, España

Los universitarios se encuentran en una situación de sobrecarga informativa y no saben discernir entre las fuentes que son fiables y las que no. Por tanto, el curso 2019-2020 pusimos en marcha un proyecto de innovación consistente en la creación de una base de datos online con contenidos fiables y veraces sobre temas relacionados con la Microbiología. Estas listas curadas fueron realizadas por estudiantes de la asignatura Microbiología del grado en Biología y están pensadas para que puedan ser utilizadas tanto con fines académicos como divulgativos siendo todos los contenidos de acceso libre en internet. Cada lista temática se compone de un mínimo de 10 entradas. En cada una de ellas se indica el enlace y se recoge la información más relevante señalándose a qué tipo de público va dirigido. Hasta el momento se han realizado 28 listas de contenidos curados de temas que abarcan muchos ámbitos de la Microbiología (ambiental, sanitaria, alimentaria, etc.) y que se pueden consultar libremente a través del perfil de list.ly (<https://list.ly/MicroUCM/lists>). Las encuestas realizadas tras el proyecto revelaron que los estudiantes se mostraron muy satisfechos con el trabajo realizado, destacando que les había sido útil para aprender a identificar fuentes adecuadas y saber citarlas correctamente. La búsqueda bibliográfica suele ser un tema que parece tedioso a los estudiantes y con este proyecto hemos conseguido que adquieran esa competencia de manera más proactiva. Por ello, hemos mantenido la realización de estas listas dentro de los Seminarios de Microbiología en los siguientes cursos académicos.

Financing: Está actividad está encuadrada en el proyecto INNOVA-UCM 110/2019

### Descubriendo microorganismos productores de antibióticos en la Comunidad Valenciana mediante una estrategia de Aprendizaje-Servicio

Sergi Maicas<sup>1</sup>, Belén Fouz<sup>1</sup>, Àngela Figàs-Segura<sup>1</sup>, Jesús Zueco<sup>2</sup>, Hortensia Rico<sup>2</sup>, Alfonso Navarro<sup>3</sup>, Ester Carbó<sup>4</sup>, Jaume Segura-García<sup>5</sup>, **Elena G. Biosca**<sup>1</sup>

(1) Universitat de València, Departamento de Microbiología y Ecología., Facultad de Ciencias Biológicas, Dr. Moliner, 50, 46100. Burjassot, Valencia., España

(2) Universitat de València, Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Farmacia,, Av. Vicente Andrés, s/n, 46100 Burjassot, Valencia, España

(3) Universitat de València,, Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Medicina y Odontología, Avda Blasco Ibañez nº 15, 46010 Valencia, España

(4) Universitat de València, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Farmacia, Av. Vicente Andrés, s/n, 46100 Burjassot, Valencia., España

(5) Universitat de València, Departamento de Informática, Escuela Técnica de Ingeniería Superior, Avinguda de l'Universitat s/n, 46100 Burjassot, Valencia., España

El uso indebido de los antibióticos supone una seria amenaza para la salud mundial por la aparición de cepas resistentes en numerosos patógenos bacterianos, lo que dificulta el tratamiento de las infecciones que causan. MicroMundo surgió como un programa de enseñanza activa, basado en una estrategia de Aprendizaje-Servicio, con el objetivo de motivar a los estudiantes preuniversitarios a cursar carreras científicas y también a descubrir nuevos microorganismos productores de antimicrobianos. MicroMundo@Valencia se implementó en la Universitat de València durante los cursos 2017-2018 y 2018-2019, permitiendo formar a 140 estudiantes universitarios para aplicar esta iniciativa en 23 institutos de educación secundaria/bachillerato. Se obtuvo una colección de 7002 aislados bacterianos de muestras de suelo de distintos orígenes geográficos que se analizaron para detectar fenómenos de antibiosis. Alrededor del 1% o el 7% de estos aislados fueron capaces de inhibir el crecimiento de cepas bacterianas diana de *Escherichia coli* o *Bacillus cereus*, respectivamente. La geolocalización de los sitios de muestreo mediante una aplicación desarrollada ad hoc y el posterior análisis permitieron la detección de focos de bacterias productoras de antibióticos. La evaluación del programa por los estudiantes participantes evidenció una notable percepción positiva y un mayor interés por la ciencia, al adquirir nuevos conceptos y habilidades científicas y pedagógicas que pudieron transmitir a otros compañeros, estudiantes más jóvenes o familiares. La difusión del proyecto en la Comunidad Valenciana se complementó con actividades extrauniversitarias, dirigidas a diferentes grupos de edad y con perspectiva de género, obteniendo resultados muy satisfactorios.

Financing: Proyectos de Universitat de València: Unidad de Igualdad (2018-2020), INNOV-17/18-SPL\_330, UV-INNOV-18/19-SPL\_330, SFPIE\_R588199, SFPIE\_RMD18\_839102, SFPIE\_GER18-844761, SFPIE\_RMD18\_954062, SFPIE\_PID19-1096784 y SFPIE\_PID19\_1096021.

## **Farmaconciencia: la resistencia a los antibióticos. proyecto de innovación docente para la concienciación sobre el uso prudente de antibióticos**

**Zaki Saati-Santamaría**<sup>1,2</sup>, Pedro F. Mateos<sup>1,2,3</sup>, Paula García Fraile<sup>1,2,3</sup>

(1) Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca, Salamanca, España.

(2) Instituto Hispano-Luso de investigaciones Agrarias (CIALE). Salamanca, España.

(3) Unidad asociada Universidad de Salamanca-IRNASA (CSIC), Salamanca, España.

El descubrimiento de los antibióticos supuso un hito en la Medicina moderna, permitiendo reducir drásticamente la mortalidad debida a infecciones. Sin embargo, su uso inapropiado nos ha llevado a una situación drástica: las bacterias multirresistentes a antibióticos están provocando 33.000 muertes al año en Europa, generando un gasto sanitario adicional de 1.500 millones de euros. "Farmaconciencia (Farma, Fármaco, Con Ciencia, Conciencia), concienciación sobre el uso prudente de antibióticos" es un proyecto de innovación docente realizado en la Universidad de Salamanca que trata de transmitir a los alumnos de la Facultad de Farmacia conocimientos derivados de las investigaciones científicas para un uso adecuado de los antimicrobianos. En una acción de aprendizaje bidireccional, los alumnos de prácticas tuteladas en Oficina de Farmacia (OF) trasladarán a la sociedad (pacientes) estos conocimientos de una forma divulgativa, para un doble efecto: fijación de conceptos en estos futuros profesionales sanitarios, y concienciación social sobre el adecuado uso de los fármacos antimicrobianos. Este proyecto de innovación docente se ha planteado en dos fases: 1. Formación del alumnado: mediante un curso en el que se ha impartido información sobre la resistencia a los antibióticos y se les ha mostrado un vídeo, realizado para tal fin, que muestra la facilidad de las bacterias para adquirir estas resistencias. 2. Concienciación social hacia un consumo responsable de antibióticos. En total, 156 alumnos asistieron al curso de formación y más de 50 farmacias se han ofrecido a colaborar en el proceso de divulgación, que se encuentra en fase de realización.

Financing: Financiación: Universidad de Salamanca, Centro de Formación Permanente. Proyecto de Innovación y Mejora Docente ID2019/204



# INDEX

## A

- A. Lages Marta 219  
Abad Ana 104  
Abad Díaz De Cerio Ana 195  
Abad Lorenzo José P. 110  
Abad Ortega Maria Del Mar 86  
Abad Trueba Naiara 222  
Abad-Diaz Ana 310  
Abarquero Camino Daniel 381  
Abdala Díaz Roberto 228  
Abellán Soler Manuel 294  
Abia David 204  
Abriouel Hikmate 382  
Abrusci Concepción 529, 533  
Acinas Silvia G. 344  
Acosta-Jurado Sebastián 94  
Adanero Jorge Félix 312  
Admella Joana 272  
Aguilar José J. 444, 455  
Aguilar-Romero Inés 521  
Aguilera Margarita 80, 342, 343, 356  
Aguilera Cobos Lorena 170  
Aguilera-Bazán Ángeles 89  
Aguiló-Ferretjans Maria Del Mar 516, 517  
Agulló Loreine 244  
Albareda Marta 482  
Albarrán Vidal Verónica 313  
Alcolea Alcolea Pedro 53  
Aldea Ramos Irene 62  
Aldeguer Riquelme Borja 330  
Alegría González Ángel 383  
Alejandre Amela Marta 367  
Alejo Armijo Alfonso 421  
Alfaro Manuel 462  
Alho Luis 512  
Alía Muñoz Alberto 65  
Alias-Villegas Cynthia 94  
Alicia Boronat Muñoz Alicia 413  
Alkorta Calvo Itziar 179, 402  
Allende Ana 70, 373  
Allende Prieto Ana 294  
Almaraz Herce Arkaitz 226, 230  
Almendral Alexander 304  
Alonso Germán 203  
Alonso Rosa M 452  
Alonso Andrés Patricia 530  
Alonso Calleja Carlos 311, 312  
Alonso García Esther 382  
Alonso Maestre Maider 540  
Alonso Monsalve Rodrigo 386, 416, 435  
Alonso Sánchez M. Carmen 228  
Alonso-Calleja Carlos 295, 296, 301, 302, 303, 305, 384, 391, 392, 432  
Alonso-Del Valle Aída 194  
Alonso-Fernández Sergio 146, 155  
Alonso-Rodríguez Esmeralda 450  
Altarejos Caballero Joaquín 421  
Alvarado María 474  
Alvarado González María 447  
Álvarez Belén 208, 510  
Álvarez Lanzarote Ignacio 367  
Álvarez Rubio María Micaela 366, 370  
Álvarez Rubio Micaela 64  
Alvarez Sanchez Maria 201  
Álvarez-Fernández Roberto 155  
Álvarez-García Samuel 493  
Álvarez-Mena Ana 200  
Álvarez-Ordóñez Avelino 294  
Álvaro-Llorente Laura 371  
Alves Gilberto 400  
Amaro Carmen 41, 236, 297, 319  
Amaro Torres Francisco 220  
Amigo Jose Manuel 352  
Andrade Gracia María Jesús 64, 366, 370

- Andreopoulos William 462  
 Andrés-Barranco Sara 325  
 Andújar Tenorio Natalia 412, 542, 546  
 Ángeles De Paz Gabriela 105, 520  
 Anguita Juan 452  
 Anguita Maeso Manuel 92  
 Anido Laura 224  
 Anitua Aitor 402  
 Antigüedad Iñaki 78  
 Antón Josefa 78, 330, 350, 351, 363  
 Antón Pepa 71  
 Antón Ordóñez Javier 540  
 Antoran Aitziber 316  
 Antorán Díaz Aitziber 195  
 Anza Mikel 402  
 Aparicio-Fernandez Leire 316  
 Aparisi Héctor 411  
 Aragón Isabel 508  
 Aragón Virginia 328  
 Arahal David R. 344, 345  
 Arana Gorka 352  
 Arana Basabe Inés 226, 230  
 Aranda Elisabet 105, 520  
 Aranda Jesús 162, 277  
 Aranda Ballesteros Elizabet 544  
 Aranda Frattarola Xavier 511  
 Aranda Medina Emilio 407, 408  
 Aranda Medina Mercedes 408  
 Aranda-Medina Mercedes 440  
 Aranzamendi Zaldumbide Maitane 195  
 Araújo Sánchez Natividad 545  
 Arbe Cartón Kepa 179  
 Arbeloa Laura 490  
 Arce-Gorvel Vilma 325  
 Areitio Maialen 316  
 Arenas Jesús 203  
 Ares-Arroyo Manuel 215  
 Arévalo Villena María 377, 468, 471  
 Arévalo-Jaimes Betsy Verónica 54  
 Arévalo-Villena María 369, 401  
 Argandoña Montserrat 138, 192, 543  
 Arias Moliz María Teresa 544  
 Armendariz Lopez Leticia 284, 285  
 Arnal Diego 547  
 Arosemena Angulo Esteban 443  
 Arqués Juan Luis 176, 433  
 Arrebola Eva 498, 499, 500  
 Arregui Lucía 538, 550  
 Arregui García-Roves Lucía 523  
 Arrieta Jesús Maria 222  
 Arroyo Javier 216  
 Arroyo Nombela Javier 457  
 Arroyo Sánchez Miguel 523  
 Artacho Alejandro 132  
 Artolozaga Itxaso 222  
 Asensio Pérez Miguel Ángel 64, 366  
 Astráin Redín Leire 367  
 Audrain Bianca 67, 133  
 Aulestia Herrera Magaly Isabel 531  
 Aure Cristina M. 90  
 Ávalos F. Javier 467  
 Avila Conxita 238, 242  
 Ávila Marta 385  
 Ávila Arribas Marta 389, 403  
 Ayala-García Paula 94  
 Aymerich Teresa 63  
 Ayo Begoña 222  
 Ayuso Calles Miguel 504  
 Ayuso-Fernández Iván 462  
 Aza Pablo 166  
 Aza Toca Pablo 102  
 Aznar Rosa 344, 345, 431  
 Aznar Gimeno Elena 321  
 Aznar Novella Rosa 395  
 Azor Raquel 304  
 Azpiazu Muniozguren Maia 329  
 Azúa Iñigo 222  
 Azuaje Carlos 287

## B

- Babiker Rashid 116, 462  
 Babot Esteban D. 347  
 Baelo Aida 274  
 Báez Martín Miguel 182  
 Balado Miguel 217, 219, 232, 278  
 Balcázar José Luís 240

- Baldanta Callejo Sara 244, 254  
Balebona M<sup>a</sup> Carmen 170, 229  
Ballesté Elisenda 238, 239, 242  
Ballester Ana-rosa 449  
Ballester Frederic 298  
Ballester Frutos Ana Rosa 461  
Ballesteros Antonio O. 259  
Ballesteros Mercedes 123  
Balsalobre Parra Carlos 44  
Balsera Mónica 128  
Baña Zuriñe 222  
Bandín Matos Maria Isabel 227  
Barandika Iza Jesús F. 39  
Barat José Manuel 265  
Barata Coelho Pedro 188, 209, 210  
Barbé Jordi 58, 131, 158, 162, 186, 277  
Barbé Silvia 480, 507  
Barbé Martínez Silvia 506  
Barberán Montserrat 325  
Barceló Munar Isabel María 286  
Barja Juan L 278  
Barja Juan L. 223  
Barrasa José M. 462  
Barriuso Jorge 106, 258, 462  
Barriuso\* Jorge 246  
Barros García Rocío 434  
Bartolomé Álvarez Joaquín 447  
Bayilina Pilar 209  
Baylina Pilar 188, 210  
Baztarrika Uria Itsaso 386, 416, 435  
Becker Anke 495  
Beitia González Enrique 367  
Béjar Victoria 340, 478, 503  
Béjar Alvarado Julia 228  
Bejarano-Muñoz Lara 256  
Belabbes Ouda 391  
Belda Ignacio 438, 441, 456, 523, 538  
Belen Florez Ana 404  
Bello-Morales Raquel 529  
Benaiges-Fernandez Robert 235  
Bengoechea Jose 469  
Benitez Troncoso Alejandro 190  
Benito María José 440  
Benito Santiago 441  
Benito Bernáldez María José 430, 439  
Benomar Nabil 382  
Benz Fabienne 322  
Berenguer José 129, 181  
Berenguer Carlos José 139  
Berlanga M. Mercedes 235  
Berlanga Clavero María Victoria 199  
Bermúdez Garrido Laura 540  
Bermúdez Polo Elena 65, 375  
Bermudez Polo María Elena 60  
Bernabé Quispe Verónica Patricia 206, 321  
Bernabe-Balas Cristina 215  
Bernabeu-Gimeno Mireia 90, 506  
Bernabéu-Roda Lydia M. 495  
Bernal Patricia 476  
Bernal Bayard Joaquin 67, 133  
Berruga M<sup>a</sup> Isabel 385  
Berruga Fernández M<sup>a</sup> Isabel 389, 403, 419, 420  
Berzosa Suñer Melibea 48  
Bes María Teresa 128  
Beyrer Michael 427  
Biel Carmen 505  
Biel Loscos Carme 511  
Bigorra Ángel 345  
Bikandi Bikandi Joseba 329  
Blanch Anicet R. 241  
Blanco Jose Luis 202, 214  
Blanco Paula 56, 212  
Blanco González Sara 415  
Blanco-Cabra Núria 54, 262, 274  
Blanco-Romero Esther 476, 486  
Blas Sánchez Javier 530  
Blasco José María 325  
Blázquez Muñoz María Teresa 447, 474  
Blesa Alba 129  
Blesa Esteban Alba 139, 181  
Bódalo Ponce Alejandro 460, 491  
Bodelón Sánchez Raquel 381  
Boido Eduardo 428  
Bok Frank 514  
Bolívar Anillo Hernando José 460, 491  
Bonafant Raul 247

Bonilla Luque Olga María 374, 387  
 Bono Cristina 50, 291, 292  
 Bork Peer 79  
 Borrego Carles M. 240  
 Borrego Juan J. 233  
 Borrego García Juan Jose 227  
 Borrego López Rogelio 460, 491  
 Bosch Albert 70  
 Bosch Rafael 221  
 Bosch Zaragoza Rafael 137, 334, 516, 517, 539  
 Bourret Robert B. 138  
 Bover-Cid Sara 399  
 Bravo Blanco Gonzalo 540  
 Brenes-Álvarez Manuel 142  
 Briones Pérez Ana 369, 401, 468, 471  
 Brülisauer Laura 322  
 Bueno Marí Rubén 164  
 Buksa Nikolina 263  
 Buldain Idoia 316  
 Buldain Gárriz Idoia 195  
 Buruaga-Ramiro Carolina 109, 257  
 Busquets Bisbal Antonio 334, 358, 361, 517  
 Bustos Caparrós Esteban 221, 517  
 Butturini Andrea 235

## C

Caballero Carlos 180  
 Caballero Carlos J. 156, 184, 185  
 Caballero Eva 33  
 Caballero Primitivo 180, 184, 185  
 Caballero-Delgado S. 492  
 Cabañas Catalina M. 388, 437  
 Cabañas-Romero L. Verónica 109, 257  
 Cabot Catalina 334  
 Cáceres Rafaela 505  
 Calafat Soriano Jordi 487  
 Calatrava-Morales Nieves 495  
 Calbet Salas Arnau 179  
 Caldelari Isabelle 156  
 Calero Fernando 444, 455  
 Callejón Rocío 543  
 Calonge-García Alba 341

Calvet-Seral Juan 198  
 Calvo Alba 48  
 Calvo Concepción 105  
 Calvo Laura 128  
 Calvo Sainz Concepción 520  
 Calvo Torras M. Àngels 443  
 Calvo-Solanilla Rodrigo 444  
 Calzada Javier 385  
 Calzada Gómez Javier 389  
 Camacho Fernández Eva María 531  
 Camacho Herrero Lucía 349  
 Camacho Sánchez-Camacho María Cruz 37  
 Cámara-Almirón Jesús 205  
 Camarero Susana 116, 124, 166, 462  
 Camarero Fernández Susana 102  
 Campa Víctor 178  
 Campelo Ana Belén 396  
 Campo Pérez Víctor 149  
 Campos-Pardos Elena 168  
 Campoy Susana 131, 162, 422  
 Campoy Sánchez Susana 186  
 Camuña Pardo Laura 390  
 Cañellas Maria 334  
 Cañellas Cifre Maria 358, 361  
 Cano Lira José Francisco 357  
 Cano Prieto Carolina 245  
 Cano-Cano Mónica 85  
 Cano-Lira José Francisco 379  
 Canosa Inés 187, 532  
 Cansado José 445, 475  
 Cansado Vizoso José 463  
 Cantón Rafael 268  
 Cantoral Fernández Jesús Manuel 248, 460, 491  
 Cantoral-Fernández Jesús Manuel 99  
 Capita Rosa 295, 296, 301, 302, 303, 305, 312, 384, 391, 392, 432  
 Capita González Rosa 311  
 Carbó Ester 551  
 Carbú Espinosa De Los Monteros María 460, 491  
 Carmona Manuel 161, 389  
 Carmona Delgado Manuel 403, 419, 420  
 Carmona Pérez Manuel 172  
 Carmona-Salido Héctor 236, 297

- Carnicero-Mayo Yaiza 175  
Caro Gabriel 455  
Caro-Astorga Joaquín 200  
Carrasco Reinado Rafael 190, 470  
Carrau Francisco 428  
Carreño Domínguez Javier 401  
Carreras-Sempere Mar 505  
Carrillo Bautista Miryam 71  
Carrizo Daniel 69, 84  
Carro Lorena 494  
Carro-Huerga Guzmán 493  
Carvalho Mário 512  
Casadesús Josep 27, 171, 174  
Casqueiro Blanco Francisco Javier 175  
Casquero Pedro A. 493  
Casquete Rocío 414  
Casquete Palencia Rocio 407, 430  
Cassan Cédric 478  
Castanera Raúl 462  
Castaño Osorio Jhon Carlos 326  
Castillo María 161  
Castillo López María 172  
Castillo Rodríguez Inés 489  
Castillo-Gutiérrez Sonia 382  
Castro David J. 340  
Castro Dolores 233  
Castro Laura 161  
Català-Senent José Francisco 208  
Catalan Moreno Arancha 156  
Cavalcante-Silva Erika 84  
Caviedes Miguel Ángel 488  
Cazorla Francisco 479, 508  
Cazorla Francisco M. 484, 498, 499, 500  
Cazzaniga Monica 327  
Cebrián Guillermo 98  
Cebrián Auré Guillermo 367  
Cebrián Cabezón Eva 64, 366, 375  
Cela Marta 156  
Cendon-Sanchez Saioa 310, 352, 452  
Cendra Maria Del Mar 149  
Cendra Gascón Maria Del Mar 144  
Ceniceros Ana 150  
Cerk Klara 80, 342, 343, 356  
Cerna Vargas Jean Paul 477, 496  
Cervera Alamar Mercedes 206  
Chaduli Delphine 116  
Chávez Renato 173, 362  
Cherkouk Andrea 130  
Chovatia Mansi 116  
Christie-Oleza Joseph A. 516  
Christie-Oleza Joseph Alexander 517, 539  
Cid Ángeles 224  
Cifuentes Alejandro 365  
Cisneros-Sureda Javier 217  
Ciudad Cabañas Maria José 331  
Claros Diaz Manuel Gonzalo 170  
Cloeckaert Axel 347  
Cobo Molinos Antonio 273, 412, 421, 542, 544, 546  
Coelho Luis Pedro 79  
Colavolpe Belén 512  
Coll García Guillem 137, 517  
Collado Yurrita Luis Rodolfo 331  
Comín Polo Jessica 261, 270  
Comino Isabel 543  
Conde Álvarez Raquel 347  
Conde-Álvarez Raquel 269, 325  
Condón Santiago 436  
Condón Usón Santiago 436  
Conejo Martínez Amparo 110  
Conejo-Saucedo Ulises 105  
Conill Bonet Pau 186  
Conrad Roth E. 221, 332  
Cooper Vaughn S. 266  
Copa-Patiño José Luis 279, 280  
Cordero Bueso Gustavo Adolfo 248  
Cordero-Bueso Gustavo 99  
Córdoba María De Guía 414, 418  
Córdoba Ramos Juan José 60, 65, 372  
Córdoba Ramos María De Guía 407, 408, 439  
Coronas-Serna Julia M 453  
Corral Jordi 277  
Corral Paulina 353  
Correa-Fiz Florencia 328  
Corte-Rodríguez Mario 155  
Cortés Pilar 58, 153, 158, 162, 422



Coscollà Devís Mireia 263  
 Crellen Thomas 268  
 Cruz Cruz Fátima Del Carmen 300  
 Cuadros-Sánchez Paula 145  
 Cuéllar Virginia 495  
 Cuervo Lorena 150  
 Culebras López Esther 281  
 Cullen Daniel 462  
 Curiel Iglesias Ainhize 283

## D

Da Silva Guedes Jéssica 393, 415  
 Darder Margarita 113  
 Davenport Bryant 507  
 Dávila López Sonsoles 147  
 De Carvalho Gonçalo 304  
 De Castro Fernández Paula 238  
 De Castro-Fernández Paula 242  
 De Celis Miguel 438, 441, 456  
 De Celis Rodríguez Miguel 523  
 De Cos-Gandoy A. 237, 354  
 De Eugenio Laura I. 121, 258  
 De Eugenio Martínez Laura I. 256  
 De Frutos Martínez Begoña 540  
 De Groot Piet W J 474  
 De Groot Piet W. J. 447  
 De Herralde Travería Felicidad 434  
 De La Cruz Fernando 178, 197, 198, 404  
 De La Cruz Calahorra Fernando 182, 189  
 De La Fuente Javier 56, 268  
 De La Fuente Ordoñez Juan José 382  
 De La Haba Rafael R. 336  
 De La Huerta Bengoechea Paula 472, 540  
 De La Mata Francisco Javier 38  
 De La Mata Riesco Isabel 523  
 De La Puente Javier 37  
 De La Torre Ruiz María Ángeles 457  
 De La Torre Ruiz M<sup>a</sup> Angeles 448  
 De La Vega Carmen 268  
 De Llanos Frutos Rosa 313  
 De Los Reyes-Gavilán Clara G. 365  
 De Los Ríos Asunción 88  
 De Los Ríos Murillo Asunción 349  
 De Miguel María Jesús 325  
 De Miguel Sara 308  
 De Miguel Bouzas Trinidad 293  
 De Miguel Sanz Santiago Roque 103  
 De Miguel-Pickers Patricia 541  
 De Salas De La Cuadra Felipe 102  
 De Silóniz M<sup>a</sup> Isabel 550  
 De Toro María 456  
 De Vicente Antonio 196, 200, 205, 484, 498, 500, 508, 509  
 De Vicente Moreno Antonio 127, 199, 479  
 De Vries Ronald P. 163  
 Decros Guillaume 478  
 Del Cerro Dr. Carlos 157  
 Del Cerro Pablo 94  
 Del Cerro Arrieta Ana 39  
 Del Moral García Ana Isabel 544  
 Del Olmo Sánchez Ana 426  
 Del Val Elba 453  
 Delgado Perón Josué 64, 366, 370  
 Delgado-Blas Jose F. 202  
 Delgado-Moreno Laura 521  
 Dellacassa Eduardo 428  
 Den Besten Heidi 97  
 Descostes Michael 135  
 Di Pietro Antonio 93, 264, 454  
 Diaz Anai 362  
 Diaz Pilar 257  
 Diaz De Brito Fernandez Vicens 304  
 Diaz Lucea Pilar 109  
 Díaz Martínez Luis 196  
 Díaz Martínez Margarita 247  
 Díaz-Agero Cristina 268  
 Díaz-Martínez Luis 200  
 Domenech Miriam 308  
 Domenech Mirian 318, 320  
 Domenech Sánchez Antonio 539  
 Domingo Serrano Lucía 482  
 Domingo-Calap Maria Luisa 90  
 Domingo-Calap Pilar 90  
 Dominguez Durante Ana 60



Domínguez García Laura 205  
Domínguez Monedero Alazne 195  
Domínguez Santos Rebeca 164  
Domínguez Seijo Óscar 540  
Domínguez-Llata Sara 239  
Domínguez-Santos Rebeca 327  
Dorado-Morales Pedro 134, 180, 184  
Drozdowski Jennifer 130  
Drula Elodie 462  
Duarte Ana Catarina 394  
Dubert Javier 223  
Dumont Marc G. 72  
Dupin Damien 262  
Duque Martín De Oliva Estrella 120  
Durán David 476  
Durán-Viseras Ana 337, 340, 489, 543  
Dzikowski Marcin 434

## E

Eberl Leo 29, 479  
Echeverz Sarasua Maite 151  
El Mouali Benomar Youssef 141  
Elías-Rodríguez Alba 279  
Elío Lucas Patricia 115, 183  
Elizalde-Bielsa Aitor 269  
Elizaquivel Bárcenas Patricia 395  
Ellis Tom 112  
Elsser-Gravesen Anne 373  
Enguidanos Carlos 487  
Eraso Elena 447  
Erill Ivan 58, 153, 158, 162  
Errington Jeff 204  
Escobar Niño Almudena 190, 470  
Escobar Salom María 286  
Escobedo Susana 396  
Escribano M. Pilar 232  
Escribano Bailón María Teresa 504  
Escudero José Antonio 56, 212, 213  
Esperanza Marta 224  
Espert Rehues Antonio 263  
Espí Felgueroso Alberto 39  
Espinosa Sáiz Daniel 485

Espinosa Taxis Alejandra Paula 300, 324  
Essen Lars-oliver 474  
Esteban-Sánchez Lorena 193, 299, 314  
Esteves Alexandra 392, 432  
Estrella González María José 525  
Estrella-González María J. 527  
Estudillo-Martínez María Dolores 382  
Ezcurra Zubizarreta Enrique 226

## F

Falcó Antonio 323  
Farfán Maribel 276  
Férez Rubio Jose Antonio 323  
Fernandes Rodrigo 272  
Fernandes Ruben 188, 209, 210  
Fernández : Lucía 394  
Fernández Belén 244  
Fernandez Domingo 376  
Fernandez Gemma 146  
Fernández Lucía 398  
Fernández Luis Ángel 118  
Fernandez Acero Francisco Javier 190, 470  
Fernández Álvarez Manuela 397  
Fernández Calvet Ariadna 42  
Fernández De Lis Patricia 33  
Fernández Escámez Pablo 61  
Fernández Fernández Rocío 174  
Fernández Gándara Noelia 109  
Fernández Gubieda María Luisa 243  
Fernández Hospital Xavier 397  
Fernández López Raúl 182, 198  
Fernández Morales Ana 491  
Fernández Pereira Jordan 447, 474  
Fernández Retuerto Borja 231  
Fernández Rodríguez Ana 460  
Fernández Rodríguez Matilde 544  
Fernandez-Acero Teresa 465, 473  
Fernández-Acero Bascones Teresa 450  
Fernández-Astorga Aurora 416  
Fernández-Bravo Ana 289, 298, 464  
Fernández-Fernández Rocío 171, 543

- Fernández-García Gemma 155  
 Fernández-Gubieda Maria Luisa 104  
 Fernández-Lobato María 259  
 Fernández-López Raúl 178, 404  
 Fernández-Martínez Miguel Ángel 84  
 Fernández-Ortega Paz 304  
 Fernández-Pacheco Pilar 369, 401, 468, 471  
 Fernández-Pacheco Rodríguez Pilar 377  
 Fernández-Suárez Jonathan 39  
 Ferrándiz M. J. 148  
 Ferrándiz Avellano María José 59  
 Ferreira Elaine 348  
 Ferreira Patricia 462  
 Ferreiro María Dolores 95  
 Ferrer-Bustins Núria 399  
 Ferrero García Miguel Ángel 175  
 Figàs Àngela 547  
 Figàs-Segura Àngela 208, 480, 506, 510, 551  
 Figueras María José 298  
 Figueras Salvat María José 234  
 Fillat María F. 203, 211  
 Fillat María Francisca 128, 518  
 Flandin Amelie 478  
 Flores Diaz Amando 531, 532  
 Flores Félix José David 400, 502, 504  
 Flores-Duarte N. J. 492  
 Flórez Ana Belén 249  
 Floriano Pardal Belén 423  
 Fouz Belén 548, 551  
 Fouz Rodríguez Belén 236  
 Franco Alejandro 445, 463, 475  
 Franco Castrillón Juliana 326  
 Freire Víctor 98, 436  
 Freire Carrascosa Víctor 436  
 Frías Iruzubieta Roberto 434  
 Frutos Grilo Elisabet 131, 186  
 Fuentes-Romero Francisco 94  
 Fuertes Toro Anabel 439  
 Fusté Ester 287, 304  
 G. Biosca Elena 208, 510, 547, 551  
 G. De La Campa A. 148  
 G.biosca Elena 480  
 Gabaldón Toni 283  
 Gadea-Fernández Rebeca 499  
 Gadea-Pallás Laura 510  
 Gago Juan F. 348  
 Gago Córdoba César 204  
 Galán Beatriz 161, 244  
 Galán Sicilia Beatriz 172  
 Galea-Outón Sandra 246  
 Galindo Honrubia Francisco 313  
 Galisteo Cristina 335, 336, 338, 543  
 Gallego Francisca 167  
 Gallego Rodrigo Mikel 195  
 Gallego-García María 122  
 Gallegos María Trinidad 95  
 Galofré Belén 241  
 Gálvez Antonio 273, 409, 410  
 Gálvez Del Postigo Ruiz Antonio 405, 406, 412, 421, 546  
 Galvis Serrano Nestor Fabian 278  
 Gamazo De La Rasilla Carlos 48  
 Gandarias Lucia 104, 243  
 Gandia David 243  
 Gandía Mónica 165, 458, 459  
 Gandía Gómez Mónica 413  
 Gangloff Valentin 351  
 Gaona Marc 277  
 Garaizar Candina Javier 329  
 Garbisu Carlos 402, 494  
 García Ana M. 515  
 García Ángela M<sup>a</sup> 543  
 García Dania 333  
 García José Luis 161, 244  
 García M. T. 148  
 Garcia Marta 214  
 García Marta E. 202  
 García Pilar 394, 398  
 García Alcaide Andrea 191  
 García Arribas Alfredo 243  
 García Barbazán Irene 283  
 García Del Portillo Francisco 47

## G

G Lavilla Beatriz 465

- García Durán Carmen 216  
García Esteban María Teresa 59  
García Estévez Ignacio 504  
García Fernández Camino 312  
García Fraile Paula 360, 483, 502, 552  
García Franco Ana 120  
García García Isidoro 252  
García Gutierrez Coral 250  
García López Jose Luis 172  
García Martínez Teresa 252  
García Palacios Pablo 75  
García Pastor Lucía 212, 213  
García Pérez Ana L. 39  
García Prieto Ana 104, 243  
García Ríos Estéfani 265  
García Rodas Rocío 283  
García Rosado Esther 227, 228  
García Ruiz Ana M. 355  
García Salcedo Raúl 150  
García-Aljaro Cristina 239, 241, 242  
García-Béjar Beatriz 369, 377, 401, 468, 471  
García-Comas Luis 308  
García-Ferris Carlos 327  
García-López M. 148  
García-Mauriño Sofía M. 187  
García-Pastor Lucía 56  
García-Quintáns Nieves 181  
García-Rodríguez Juan José 193, 299, 314  
García-Roldán Alicia 337  
García-Valero Rosa 543  
García-Valero Rosa M. 138  
García-Vellido Almellones Gonzalo 423  
Garcillán Barcia María Del Pilar 189  
Garcillán Barcia Maria Pilar 197, 198  
Garcillán-Barcia M. Pilar 134  
Garde Sonia 385  
Garde López-Brea Sonia 389, 403  
Garmendia García Juncal 45  
Garre Alberto 97  
Garre Alberto P. 61  
Garrido José Manuel 532  
Garrido Benavent Isaac 349  
Garrido Crespo Carlos 460, 491  
Garrido Romero Manuel 423  
Garrido-Sanz Daniel 476, 486  
Garrigues Sandra 163, 165, 458  
Garrigues Cubells Sandra 459  
Garrote Sánchez Emilio 164  
Garrote-Sánchez Emilio 255  
Garzón Villar Andrés 423  
Gascon Gubieda Alicia 104  
Gattoni Giuliano 353  
Gaviria Lorena 287  
Gaya Pilar 433  
Gayán Elisa 436  
Gayán Ordás Elisa 436  
Gelado Rodríguez Gonzalo 540  
Gémez Mata Juan 227  
Gémez-Mata Juan 233  
Gené Josepa 333  
Georgalis Leonidas 61  
Ghigo Jean-marc 67, 133  
Gibello Prieto Alicia 62  
Gibon Yves 478  
Gil Concha 216  
Gil María I 373  
Gil María Luisa 50, 292  
Gil Rosario 255, 327  
Gil García M. Rosario 164  
Gil Herrero María Luisa 291  
Gil Serna Jéssica 446, 466, 472, 538, 545  
Gil-Durán Carlos 362  
Gil-Serna Jéssica 424, 550  
Gimeno-Valero Helena 341  
Giner Lamia Joaquín 79  
Giner Llorca Moisés 459  
Giner-Llorca Moisés 165, 167  
Giraldo Rafael 145  
Girbau Iturralde Cecilia 416, 435  
Gironés Nuria 529  
Godoy Manuel Santiago 103  
Godoy Alba Patricia 120  
Gojon Frantz 210  
Gomariz María 78  
Gómez Rafael 279  
Gómez Albarrán Carolina 446, 545

- Gómez Arrebola Carmen 43  
 Gómez Bertomeu Frederic-francesc 390  
 Gómez Calvo Lorena 293  
 Gómez Gil Elisa 445, 463  
 Gómez Gil Lucía 93  
 Gómez Navajas Jesús Alberto 447  
 Gómez Peral Emma 402  
 Gómez Polo Francisco 65  
 Gómez Polo Francisco Manuel 60, 372  
 Gómez Rubio Elena 179  
 Gómez- Bertomeu Frederic 380  
 Gómez-Casanova Natalia 279, 280  
 Gómez-Galindo Marisa 373  
 Gómez-Gil Elisa 475  
 Gómez-Martínez Daniela 513  
 Gómez-Sánchez Noelia 193, 299, 314  
 Gomila Rosa M. 334  
 Gomila Ribas Margarita 83, 334, 358, 361  
 Gomis Olcina Carlos 263  
 González Alberto 122  
 González Andrés 203  
 Gonzalez Oskar 452  
 González Biosca Elena 506  
 González Candelas Fernando 236  
 González Candelas Luis 461  
 González De La Campa Adela 59  
 Gonzalez Fandos Elena 393, 415  
 González López Jesús 105  
 González Morales Eduardo 524  
 González Moreno María Soledad 169  
 González Navarro Emilio José 403, 419, 420  
 González Peña Josu 226  
 González Quiñónez Nathaly 146, 155  
 González Rivacoba María 226  
 González Rodríguez Victoria Eugenia 460, 491  
 González-Benítez Natalia 74  
 González-Camacho Fernando 318  
 González-Candelas Luis 449  
 Gonzalez-Del Ruben 198  
 González-Guerra Ana 178, 404  
 Gonzalez-Lopez Jesus 346  
 González-Machado Camino 295, 296  
 Gonzalez-Mun?oz María Teresa  
 González-Navarro Emilio J. 389  
 González-Pastor José Eduardo 177  
 González-Rojí Santos J. 222  
 González-Zorn Bruno 202, 214, 215  
 Gonzalo-Asensio JesÚs 168, 198  
 Gorvel Jean-pierre 325  
 Gost Pere A. 334  
 Govantes Romero Fernando 136, 191  
 Gracia Raquel 262  
 Gracia Quintans Nieves 139  
 Granados-Casas Alan Omar 464  
 Grande Burgos María José 542, 546  
 Grande Burgos M<sup>a</sup> José 405, 406, 409, 410  
 Grifé Ruiz Montserrat 127  
 Grigoriev Igor V. 116, 462  
 Gross Harald 245  
 Guantes Navacerrada Raúl 355  
 Gudiño Iris 414  
 Gudiño Rubio Iris 407  
 Gudiol Carlota 304  
 Guedes Carla 188, 209, 210  
 Gueimonde Miguel 365  
 Guenilloud Olga 247  
 Guerra Tschuschke Isabel 86  
 Guerreo Paula 291  
 Guerrero Paula 50, 292  
 Guevara Govinda 254  
 Guilhon Aude-agnès 325  
 Guillen Alberto 550  
 Guío Jorge 128, 211, 518  
 Guío Martínez Jorge 203  
 Guirado Emilio 500  
 Guivernau Miriam 505  
 Guivernau Ribalta Miriam 511, 535  
 Guix Susana 70  
 Gullón-Escobar Luis 255  
 Guruceaga Xabier 310, 352, 452  
 Guruceaga Sierra Xabier 195  
 Gutiérrez Ana 116, 347  
 Gutiérrez Gabriel 467  
 Gutiérrez Juan Carlos 220  
 Gutiérrez Santiago 493  
 Gutierrez Barranquero José Antonio 479  
 Gutiérrez Fernández Juan Carlos 530

Gutiérrez-Barranquero José Antonio 484,  
499, 508  
Gutiérrez-Lanza Raquel 178, 404  
Guzmán Sofía 520

### H

Hadjem Lillia 325  
Hall Alex 322  
Hanniffy Sean 325  
Hazal Ayhan Dilay 93  
He Guifen 462  
Henaó Diana Carolina 326  
Henrissat Bernard 462  
Heras Diego 541  
Herbera Sara 274  
Heredero-Bermejo Irene 38, 279, 280  
Heredia Ponce Zaira M<sup>a</sup> 479  
Heredia-Ponce Zaira 484  
Herencias Cristina 159  
Hermosa Rosa 91, 497  
Hernández María Luisa 216  
Hernández Alejandro 388, 414, 418, 437  
Hernández Ana 214  
Hernández Gabriel 161  
Hernández Marcela 72  
Hernández Fernández María 248  
Hernández Pérez Marta 62  
Hernández Valenzuela Pablo 59  
Hernández-Cabanyero Carla 319  
Hernández-Fernández María 99  
Hernández-García Marta 268  
Hernández-Ruiz Víctor 497  
Hernando Fernando L. 310, 316, 352  
Herralde Travería Felicidad 511  
Herrero-Cervera Mario 507  
Hibbett David 462  
Hidalgo Rosa 298  
Hidalgo Pestaña Marina 412  
Hidalgo Rodríguez Cristina 407, 408  
Hidalgo-Iruela Javier 85  
Hierrezuelo León Jesús 127  
Hierro Paredes Eva 397

Hinton Arthur 307  
Hipólito Alberto 56  
Hipólito Carrillo De Albornoz Alberto 212, 213  
Hobbs Leanne 114  
Hofle Ursula 37  
Horcajada Juan P. 287  
Hortós María 63  
Huang Elisa 533  
Huerta Cepas Jaime 79, 477  
Huerta-Cepas Jaime 82

### I

Ibáñez-Escribano Alexandra 315  
Iglesias Belén 406, 409, 410  
Iglesias Guillermo R. 275  
Iglesias Valenzuela María Belén 542, 546  
Iglesias Valenzuela M<sup>a</sup> Belén 405  
Iglesias Vilches Alba 528  
Illescas María 91, 497  
Insuasti-Astudillo Hernán Camilo 497  
Irache Juan Manuel 48  
Iriarte Maite 325  
Iriberry Juan 222  
Irurzun Naiara 156  
Iturbe Sanz Pablo 154  
Izquierdo José María 204

### J

Jabalera Ylenia 275  
Javier De La Mata Francisco 280  
Jiménez Carlos 217  
Jiménez Elena 259  
Jiménez Cid Víctor 453, 469  
Jiménez De Juan David 311, 312  
Jiménez Gómez Alejandro 504  
Jiménez Martínez Juan 423  
Jiménez Moreno Carlos Jonay 44  
Jiménez Navas Jorge 540  
Jiménez Valera María 544



Jiménez- Barbero Jesús 529  
 Jiménez-Guerrero Irene 94  
 Jiménez-Gutiérrez Elena 450  
 Jimenez-Lopez Concepcion 275  
 Jiménez-Torcate Emilio 424  
 Jofré Anna 399  
 Jordana Lluch Elena 286  
 Jové Thomas 56  
 Jroundi Fadwa 85, 86, 135, 225, 524  
 Juan Nicolau Carlos 286  
 Julián Esther 149  
 Jurado Macarena Del Mar 525, 526,  
 534  
 Jurado Macarena M. 490, 527  
 Jurado Rodríguez Macarena Del Mar  
 519

## K

Kassahun Andrea 514  
 Keller Nancy P. 452  
 Kellner Harald 462  
 Kennedy Emily N. 138  
 Khames Mammar 347  
 Khoubbane Messaoud 164  
 Kidibule Peter 259  
 Kijpornyongpan Teeratas 116  
 Kluge Sindy 130  
 Knapp Charles W. 382  
 Kolarik Miroslav 360  
 Konstantinidis Konstantinos T. 221,  
 332  
 Koomen Jeroen 97  
 Kostantinidis Kostantinos 71  
 Krasnogor Natalio 114  
 Krawczyk-Ba?rsch Evelyn  
 Krell Tino 477  
 Krol Elizaveta 495  
 Kuipers Oscar 200  
 Kun Roland S. 163  
 Kuo Alan 462

## L

Labella Alejandro M. 233  
 Labella Vera Alejandro Manuel 227  
 Labutti Kurt 462  
 Lago Espartero Darío 540  
 Lago-Espartero Darío 320  
 Lai Liliana 180, 184, 185  
 Lalucat Jo Jorge 358  
 Lamas Freire Alexandre 378  
 Lamprecht María 177  
 Landa Del Castillo Blanca B. 92  
 Landete José María 176, 433  
 Langa Susana 176, 433  
 Laorden Muñoz Lorena 329  
 Larraga Vicente 53  
 Larraga Criado Jaime 53  
 Lasa Aide 309  
 Lasa Iñigo 134, 151, 207  
 Lasa Uzcudun Iñigo 43, 154  
 Latorre Amparo 327, 339  
 Latorre-Pérez Adriel 513  
 Lattanzio Giuseppe 98  
 Lavado Benito Carla Ariadna 481  
 Laviada Pérez Ivan 226  
 Lavilla Lerma Leyre 382  
 Lazúen López Guillermo 524  
 Leal Morales Antonio 136  
 Leal-Rodríguez Carlos 444  
 Leclercq Sébastien O. 347  
 Ledesma-Amaro Rodrigo 117  
 Ledezma-Villanueva Alejandro 105  
 Lee Mark 158  
 Leiva-Rebollo Rocío 233  
 Lema Alberto 309  
 Lemos Manolo L 278  
 Lemos Manuel L. 217, 219, 232  
 León Carlos 365  
 León León María José 359  
 León Ropero Guillermo 92  
 León-Morcillo Rafael 520  
 León-Sampedro Ricardo 194, 268, 322



- Lerma Moliz María Del Rosario 526, 534  
Lett Lina 346  
Levican Arturo 307  
Lezcano María Ángeles 84  
Lezcano Vega María Ángeles 69  
Liébana García Raquel 363  
Liébana García Rebeca 523  
Limón Enric 287, 304  
Limón M. Carmen 467  
Linde Dolores 462  
Lipzen Anna 116, 462  
Llagostera Montserrat 153, 162, 422  
Llama Palacios Arancha 331  
Llamas Inmaculada 478, 489, 503  
Llamas Company Inmaculada 487, 544  
Llamosí Mirella 308, 318, 320  
Llobregat Pajarón Belén 461  
Loaiza Toscueto David Iván 324  
Loayza Francisco 53  
Lobato Márquez Damián 49  
Locascio Antonella 165  
Loinaz Iraida 262  
Loot Céline 212  
Loperena Barber Maite 347  
Loperena-Barber Maite 269  
López Cristina 350  
López María J. 527  
López María José 525, 526, 534  
López María M. 208  
López M<sup>a</sup> José 490  
López Díaz Cristina 93  
López Díaz Teresa María 376, 383, 403, 419, 420  
López Fernández Ana María 313  
López Fernández Margarita 130  
López González Juan Antonio 519, 525, 526, 534  
López Guerrero Jose Antonio 529  
López López María Josefa 519  
López Montesino Sara 469  
López Moreno Ana 342, 343, 356  
López Robles Javier 434  
López Romalde Jesús 70  
López Sánchez Aroa 136, 191  
López Solanilla Emilia 477, 496  
López Suárez Ella Karina 427  
López-Baena Francisco Javier 543  
López-Baena Francisco-javier 94  
López-Barona Patricia 38  
López-Coronado José Miguel 431  
López-Díaz Teresa M<sup>a</sup> 385  
Lopez-Fernandez Margarita 514  
López-Fresneña Nieves 268  
López-García María Teresa 155  
López-Goñi Ignacio 33  
López-González Juan A. López-gonzález 527  
López-González Juan Antonio 490  
López-Martínez Maria José 54  
López-Moreno Ana 80  
López-Pérez Júlia 153, 162  
López-Ruiz Beatriz 308  
López-Siles Mireia 267, 288  
Lores Aguin Marta 293  
Lozano-Cruz Tania 38, 279  
Lozano-Picazo Paloma 145  
Lucas López Rosario 405, 406, 409, 410, 542, 546  
Lucas Márquez Yolanda 535  
Lucena Teresa 344, 345  
Luche Herve 325

## M

- Ma Li-jun 93  
Macián M<sup>a</sup> Carmen 344, 345  
Madariaga Juan Manuel 352  
Madrid Marisa 445, 475  
Madrid Mateo María Isabel 463  
Madrid Xufre Cristina 44  
Maestre Carballa Lucia 55  
Maestre-Carballa Lucía 68  
Magariños Beatriz 232  
Maicas Sergi 411, 427, 547, 548, 551  
Malatsetxebarria Maddi 316  
Malmierca Mónica G. 143  
Mañas Pilar 98  
Mancabelli Leonardo 365

- Manoli Dr. Maria-tsampika 157  
 Manteca Ángel 146, 152, 155  
 Manzanares Paloma 165, 167, 458  
 Manzanares Leal Gaudy Lizeth 306  
 Manzanares Mir Paloma 413, 459  
 Manzanera Maximino 105, 520  
 Maqueda Mercedes 275  
 Marchesi Julian 32  
 Marcilla Díaz Antonio 164  
 Marco Noales Ester 506  
 Marco-Noales Ester 90, 480, 507  
 Marcos Jose F. 165, 167, 458  
 Marcos Jose Francisco 413  
 Marcos López Jose F. 459  
 Mareze Juliana 376, 383  
 Marín Clara M. 325  
 Marin Muela M<sup>a</sup> Del Pilar 321  
 Marín Palma Irma 110  
 Marín-Miret Jesús 339  
 Marina Alberto 167  
 Mariscal Gómez Melani 264  
 Marqués Ana M. 276  
 Marques Gisela 116  
 Marquina Domingo 438, 441  
 Marquina Díaz Domingo 523  
 Marradi Marco 262  
 Marshall Christopher W. 266  
 Martín Alberto 388, 437  
 Martín Belén 399  
 Martín Carlos 51, 198  
 Martín Francis 462  
 Martín Humberto 451  
 Martín Jesús 143, 247  
 Martín Marta 476, 486  
 Martín Sofía 540  
 Martín Andrés Irene 110  
 Martín Brieva Humberto 450, 465, 473  
 Martín Cereceda Merche 538  
 Martín Cuadrado Ana Belen 260  
 Martín Galiano Antonio Javier 59  
 Martín García Francisco J. 253  
 Martín González Alberto 430  
 Martín González Ana 220, 530  
 Martín Martín Clara 265  
 Martín Santamaría Sonsoles 179  
 Martín Souto Leire 195  
 Martín Tornero Irene 60, 65, 372  
 Martín Vicent María 164  
 Martín Zarza Pedro 522  
 Martín-Cereceda M. 237, 354  
 Martín-Cereceda Mercedes 550  
 Martín-Gómez María Teresa 54  
 Martín-Pérez Tania 38  
 Martín-Rodríguez Irene 74  
 Martín-Sánchez Inés 85, 86  
 Martín-Serrano Ángela 280  
 Martín-Souto Leire 316  
 Martínez Ana 388, 439, 440  
 Martínez Ángel T. 116, 462  
 Martínez Beatriz 396  
 Martínez Clara 223  
 Martínez Igor 244  
 Martínez Josefina 257  
 Martínez Laura 549  
 Martínez Lourdes 543  
 Martínez María 548  
 Martínez María Jesús 108  
 Martínez -Culebras Pedro V. 165  
 Martínez Ballesteros Ilargi 329, 386, 435  
 Martínez Cañamero Magdalena 412, 546  
 Martínez Cazorla Andrea 115  
 Martínez Culebras Pedro V. 413  
 Martínez Dorado Ana 414  
 Martínez Expósito Oscar 195  
 Martínez García Manuel 55, 201, 218  
 Martínez Hernández Francisco 218  
 Martínez Hernández María Jesús 256  
 Martínez Jiménez Christian José 115  
 Martínez Laorden Alba 393, 415  
 Martínez López Andrea 545  
 Martínez López Raquel 216  
 Martínez Malax-Etxebarria Irati 329, 386, 416, 435  
 Martínez Mañez Ramón 321  
 Martínez Martínez Josefina 109  
 Martínez Moreno Marcos F. 524  
 Martínez Rodríguez Ana María 412  
 Martínez\* María Jesús 121, 258

- Martínez-Carrasco Ana 247  
Martínez-Checa Fernando 340  
Martínez-Checa Barrero Fernando 544  
Martínez-Faedo Ceferino 365  
Martínez-Gallardo María Rosa 519  
Martínez-García Manuel 68, 71, 78  
Martínez-Gil Marta 481  
Martínez-Hernández Francisco 68  
Martínez-Martínez Lourdes 192  
Martínez-Ruiz Francisca 225  
Matamoros Bosco R. 202, 214  
Mateos Pedro F 485  
Mateos Pedro F. 552  
Mateos Sánchez Carlos 115  
Mateos-Naranjo E. 492  
Matilla Leticia 207  
Matilla Cuenca Leticia 42  
Mauricio Juan Carlos 252, 253  
Mayayo Emilio 452  
Mayer Melinda J. 385  
Mayo Baltasar 249, 404  
Mayo Prieto Sara 493  
Mazel Didier 178, 212  
Mcconnell Michael 52  
Mcconnell Michael J. 267, 288  
Medaglia Selena 321  
Medici Sandra 346  
Medina Ángel 466  
Medina Margarita 417  
Medina-Morillas Carlos 94  
Megevand Valentine 69  
Megías Sánchez María Victoria 544  
Meijer Wilfried 204  
Melguizo Clara 541  
Mena Ordóñez Laura 405, 409, 410, 542, 546  
Mencía Mario 129, 181  
Mencía Caballero Mario 139  
Mendaña Alfonso 178  
Mendes-Ferreira Ana 456  
Méndez Carmen 143, 150, 169  
Méndez Fernández Carmen 250  
Méndez-Líter Juan A. 121, 256, 258  
Mendonça Jacinta 188  
Mendoza-Losana Alfonso 198  
Menéndez Esther 485, 512  
Menendez-Gil Pilar 156  
Merinero Manuel 543  
Merroun Mohamed L. 86, 87, 135, 514, 524  
Merroun Mohamed Larbi 85  
Mestelan Silvia 346  
Michán Carmen 455  
Miguel Arribas Andrés 204  
Míguez Noa 121, 259  
Minguet Marina 259  
Miñón Martínez Jorge 434  
Mirete Salvador 177  
Mitbaá Rym 105  
Miyachi Shingo 462  
Molina Ana 389  
Molina Carmen 74  
Molina Maria 451, 453  
Molina Casanova Ana María 403, 419, 420  
Molina Martín María 450, 465, 469, 473  
Molina Santiago Carlos 196, 199  
Molina-Menor Esther 341  
Molina-Quintero Luisa 183  
Molpeceres Gonzalo 166  
Molpeceres García Gonzalo 102  
Monedero García Vicente 100  
Monllor-Guerra Roberto 289, 298  
Montalbán López Manuel 544  
Montalban-Lopez Manuel 275  
Montanares Mariana 173  
Monte Enrique 91, 497  
Monteagudo-Cascales Elizabet 187  
Montellà Manuel Sandra 448  
Monteoliva Lucía 216  
Monteoliva Sánchez Mercedes 544  
Montero Ignacio 143  
Montero Natalia 202, 214, 215  
Montero Ordóñez Ignacio 250  
Montes-Bayón María 155  
Montesinos Seguí Emilio 76  
Montiel Moreno Raquel 417  
Montiel Riquelme Francisco 294  
Montsant Lourdes 287  
Moraga Carlos 437

Moraga Lozano Carlos 418  
 Morales Laura 273  
 Morales Hidalgo Mar 86  
 Morales Laverde Liliana 151  
 Morales-Hidalgo Mar 85  
 Morán Felix 90, 507  
 Morano Bermejo Inés María 470  
 Moreno Antonio D. 122  
 Moreno Diego A. 515  
 Moreno Elena 165  
 Moreno Encarna 304  
 Moreno M<sup>a</sup> De Lourdes 543  
 Moreno García Patricia 228  
 Moreno Giménez Elena 459  
 Moreno Gómez Diego A. 355  
 Moreno Paz Mercedes 69  
 Moreno Pérez M. Pablo A. 306  
 Moreno Romo Miguel Ángel 62  
 Moreno-Cid Juan 251  
 Mori Sánchez Isabel 535  
 Morillo Jose Antonio 346  
 Morín-Carpintero Desirée María 315  
 Moriñigo Gutierrez Miguel Angel 170, 229  
 Moriyón Ignacio 325, 347  
 Morón García Álvaro 220  
 Moscardó Irene 238  
 Mostowy Serge 49  
 Movellan Julie 262  
 Moya Andrés 255, 339  
 Moya Andérico Laura 272  
 Moya Simarro Andrés 132  
 Muela Alicia 104, 243  
 Munar Palmer Martí 496  
 Muñoz Álvaro Pilar María 325  
 Muñoz Resta Ignacio 313  
 Muñoz Rodríguez Natalia 115  
 Muñoz Tébar Nuria 403, 419, 420  
 Muñoz-Tébar Nuria 389  
 Murguiondo Delgado Carlos 108  
 Murillo Martínez Jesús 481  
 Muro-Pastor Alicia 142  
 Muruzabal-Galarza Ane 180, 184  
 Musicha Patrick 268

## N

Nácher-Vázquez Montserrat 395  
 Nadal Molero Francisco 260  
 Nadales Martin Borja José 503  
 Naffakh Mohammed 515  
 Naranjo Emilia 192, 543  
 Narbad Arjan 385  
 Navalón Pedro 351  
 Navarro Alfonso 551  
 Navarro Juana María 161  
 Navarro Llorens Juana María 172, 254  
 Navarro López Vicente 55  
 Navarro-García Federico 193, 299, 314  
 Navarro-Gómez Pilar 94  
 Navarro-Herrero Inma 90  
 Navarro-Herrero Inmaculada 480  
 Navarro-Torre S. 492  
 Navarro-Torre Salvadora 488, 543  
 Navas Cortés Juan A. 92  
 Navascués Eva 441  
 Negro María José 122  
 Nesme Joseph 521  
 Newman-Portela Antonio M. 514  
 Ng Vivian 116, 462  
 Nieto Joaquín J. 138, 192  
 Nieto-Prieto Amalia 212  
 Niño-Ramírez Jairo 73  
 Nogacka Alicja María 365  
 Nogales Juan 244  
 Nogales Rogelio 521  
 Nogales Enrique Dr. Juan 157  
 Nogales Fernández Balbina 517  
 Norczyk Simon Aleksandra 164  
 Noyer Mégane 240  
 Nunes Ana R. 400  
 Núñez Breña Félix 64, 375  
 Nuñez Gutiérrez Manuel 426  
 Núñez Hernández Andrés 355

## O

Obrador-Viel Theo 516  
Obregon Pau 328  
Ogayar Sandoval Elixabet 230  
Ojeda García Francisco Manuel 213  
Ojiakor Adaobi 49  
Olano Carlos 143, 150  
Olicón-Hernández Dario R. 105  
Oliva Vicente 362  
Oliva Galleguillos Vicente 173  
Oliván Muro Irene 203  
Oliveira Marco 209, 210  
Olivenza David R. 171  
Oliver Palomo Antonio 286  
Ollero-Márquez Francisco-javier 94  
Olmo García Diego 358  
Olofsson Jenny 317  
Orera Irene 98  
Orero-Bayo Marta 480  
Orruño Beltrán Maite 226, 230  
Ortega Carmen 129  
Ortega Elena 273  
Ortega Paula 279  
Ortega Blázquez Irene 406  
Ortega Morente Elena 421, 542, 546  
Ortigosa Margarita 547  
Ortiz Pilar 343  
Ortiz Millán Gabriela 186  
Ortiz Rivero Javier 349  
Ortúzar Maite 73, 501  
Ostiz Llanos Miriam 284  
Otero Andrés 371  
Otero Jennifer 162, 422  
Oumona Mustapha 347  
Owens Rebecca A. 471  
Özbaykal Gu?ler Gizem

## P

Pacheco Remedios 462  
Padilla Guillermo 462

Pajuelo E. 492  
Pajuelo Eloísa 488, 543  
Palacios Carmen 240  
Palacios José Manuel 482  
Palencia Dori 547  
Palma Diego 173  
Palop Herreros Maria De Los Llanos 368, 429  
Palop Herreros M<sup>a</sup> De Los Llanos 147, 271  
Palos Fernández Rafael 454  
Panera-Martínez Sarah 301, 391, 392  
Pangilinan Jasmyn 462  
Pardo Jesús 80, 342, 343  
Pardo Cacho Jesús 356  
Pardo Freire Marco 309  
Pardo-Medina Javier 467  
Paredes Aguilar Katihuska 379  
Parejo Cubillana Alejandro 423  
Parra Riofrio Geovanna 228  
Parro Víctor 84  
Parro García Victor 69  
Pascual Javier 341, 528  
Pascual San Román Irene 281  
Patiño Álvarez Belén 424, 446, 466, 472, 538, 540, 550  
Patiño-Navarrete Rafael 67  
Pavón Vergés Mónica 457  
Paytan Adina 225  
Pearson John 199  
Pedreira Adrián 364  
Pedrero-Méndez Alberto 497  
Pedrós Alió Carlos 77  
Peinado Amores Rafael A. 253  
Peirotén Ángela 176, 433  
Peleato María L. 211  
Peleato María Luisa 128, 518  
Pelegrí Martínez Eduardo 195  
Pelegrí-Martínez Eduardo 310, 452  
Pellon Aize 452  
Pemán Javier 316  
Peña Ander 116  
Peña-Miller Rafael 194  
Peñalva Miguel A. 46  
Peñil Celis Arancha 197  
Peral Aranega Ezequiel 360



- Perestelo Rodríguez Fernando 522  
 Peretó Juli 341, 513  
 Pérez Enrique 216  
 Perez Irene 198  
 Pérez Juan José 547  
 Pérez Lourdes 276  
 Pérez Uxue 310  
 Pérez Álvarez María José 442  
 Pérez Cantalapiedra Carlos 79  
 Pérez De Pipaon Mikel 396  
 Pérez García Alejandro 127, 509  
 Pérez García Covadonga 308  
 Pérez Gómez Olivia 170, 229  
 Pérez Gracia María Teresa 282, 323  
 Pérez Lorente Alicia Isabel 199  
 Pérez Martín Laura 281  
 Pérez Mendoza Daniel 544  
 Pérez Pascual David 67, 133  
 Pérez Pulido Rubén 405, 406, 409, 410, 542, 546  
 Pérez Romero Pilar 265  
 Pérez Royo José Manuel 206  
 Perez Uz Blanca 538  
 Pérez-Andrés Jenifer 175  
 Pérez-Baltar Aida 417  
 Pérez-Cobas Ana Elena 339  
 Perez-Cuesta Uxue 452  
 Pérez-Díaz Armando 445, 463, 475  
 Pérez-García Covadonga 541  
 Pérez-García Henar 303  
 Perez-Herrán Esther 198  
 PÉrez-JimÉnez Sandra 168  
 Pérez-Martínez Isabel 508  
 Pérez-Montaño Francisco 94  
 Pérez-Seco Ana 541  
 Pérez-Serrano Jorge 38  
 Pérez-Uz B. 237, 354  
 Pérez-Uz Blanca 550  
 Pérez-Victoria Ignacio 143  
 Pernas Pleite Carlos 110  
 Perozzi Marina 395  
 Pesciaroli Chiara 346  
 Peteiro César 63  
 Pétriacq Pierre 478  
 Pico Tomàs Anna 240  
 Picón Gálvez Antonia María 425, 426  
 Pilhofer Martin 49  
 Pina Pérez M. Consuelo 548  
 Pina PÉrez Maria Consuelo 427  
 Pina-Pérez Maria Consuelo 411  
 Pinar-Méndez Anna 241  
 Pinazo Aurora 276  
 Pintado Adrián 508  
 Pintó Rosa M 70  
 Pintor-Cora Alberto 371  
 Pisabarro Antonio G. 462  
 Pitarch Aida 216  
 Piubeli Francine 543  
 Plata Beatriz 273  
 Plou Francisco J. 121  
 Plou Gasca Francisco J. 259  
 Ponath Falk 141  
 Ponce-Gordo Francisco 193, 299, 314, 315  
 Porcar Manuel 125, 341, 513, 528  
 Porte Lorena 307  
 Portela Gabriela 346  
 Porteous-Álvarez Alejandra J. 493  
 Possas Aricia 374, 387  
 Poveda Ana 529  
 Poveda Colado Justa María 368, 429  
 Povedano Priego Cristina 524  
 Povedano-Priego Cristina 85, 86, 135  
 Pozo Clementina 105, 346  
 Pozo Llorente Clementina 520  
 Pozo-Rodríguez Ana 258  
 Prado-Alonso Laura 143  
 Prieto Alicia 121, 246, 256, 258  
 Prieto M. Auxiliadora 111  
 Prieto Prof. M. Auxiliadora 157  
 Prieto Gómez Isabel 412  
 Prieto Jiménez M. Auxiliadora 160  
 Prieto Jimenéz María Auxiliadora 103  
 Prieto Ruiz Francisco 463  
 Prieto\* Alicia 108  
 Prieto-Martin Gil Sonia 267  
 Prieto-Ruiz Francisco 445, 475  
 Prieto-Taboada Nagore 352



Prior Stefan 198  
Puerta García Iván 428  
Puig Montserrat 304  
Puig Pujol Anna 253  
Pujalte Domarco María Jesús 344, 345  
Pujol Isabel 289, 298  
Pujol Carrion Nuria 448, 457  
Pulido Pacheco Juan Carlos 60, 65, 372  
Pulido Sánchez Marta 136  
Purswani Jessica 105, 346  
Purtschert Gabriela 479

### Q

Quero De Lera Fermín 164  
Quesada Antonio 84  
Quetglas Barbara 334  
Quevedo Luis 33  
Quindós Guillermo 57  
Quiñonero Coronel María Del Mar 189  
Quintanilla Morales Irene 381  
Quintero Blanco Juan 423

### R

R. De La Haba Rafael 335, 543  
R. Fernandes Tânia 264  
R. García Míriam 364  
R. Olivenza David 174  
Rad Moradillo Carlos 434  
Raff Johannes 514  
Ramírez Lucía 462  
Ramírez Cortés Marina 286  
Ramírez García Andoni 195  
Ramírez-Durán Ninfa 306  
Ramírez-García Andoni 310, 316, 352, 452  
Ramírez-Lozano Daniela 384  
Ramiro Yolanda 37  
Ramos Cayo 477, 508  
Ramos José 444, 455

Ramos Juliana 376, 383  
Ramos Barbero Maria Dolores 78, 330  
Ramos Garrido Sofía 281  
Ramos Martín Juan Luis 120  
Ramos Monge Inés Maria 368, 429  
Ramos Rodríguez Cayo Juan 481  
Ramos-Barbero María Dolores 71  
Ramos-Moreno Laura 444, 455  
Rancaño Perez Amador 294  
Rasero Javier 266  
Rauhut Doris 456  
Recio María Isabel 120  
Redondo Salvo Santiago 197, 198  
Redondo-Nieto Miguel 476, 486  
Reina Jose Carlos 340  
Reithofer Viktoria 474  
Rementeria Aitor 310, 316, 352, 452  
Rementeria Ruiz Aitor 195  
Renau Mínguez Chantal 263  
Rencoret Jorge 116  
Renes Bañuelos Erica 381  
Rey Campa Aroa 115  
Rey-Varela Diego 217  
Reyes Fernando 143, 247, 353  
Rico Hortensia 551  
Ricós-Muñoz Neus 411  
Riesco Raúl 501  
Rigaudeau Dimitri 67  
Riley Robert 462  
Rincón Agüera Alba 229  
Rioboo Carmen 224  
Rioseras Beatriz 146, 155  
Rita Larrucea Juan 361  
Rivadeneira Sánchez Alejandra Maritza 540  
Rivadeneira Maria Angustias 346  
Rivas Raúl 483  
Rivas González Raúl 360, 502, 504  
Rivas Muñoz María De Los Ángeles 407, 430  
Rivera Galindo Mildred Azucena 306  
Rivero Julia 543  
Rivilla Rafael 476, 486  
Robledo Pedro Agustín 348  
Robledo-Mahón Tatiana 105  
Roca Couso Rocio 502

- Roca Hernandez Amalia 487  
 Rodrigo-Torres Lidia 431  
 Rodriguez Alicia 437  
 Rodríguez Ana 394, 396, 398  
 Rodríguez Jaime 217  
 Rodríguez Javier 249  
 Rodríguez Manoli 541  
 Rodríguez Miguel 478, 489, 549  
 Rodríguez Miriam 169  
 Rodríguez Aliaño Mara 545  
 Rodríguez Alonso Álvaro 442  
 Rodríguez Aparicio Leandro Benito 175  
 Rodríguez Calleja José María 376  
 Rodríguez Cervantes Ana 147, 271  
 Rodríguez Del Río Álvaro 79  
 Rodríguez Escudero María Isabel 469  
 Rodríguez Herva José J. 477  
 Rodríguez Herva José Juan 496  
 Rodríguez Jiménez Alicia 65, 372, 408  
 Rodríguez Jovita Mar 64, 375  
 Rodríguez Lázaro David 40  
 Rodríguez López Javier 405, 406, 409, 410, 542, 546  
 Rodríguez Martín Samuel 522  
 Rodríguez Minguez Eva 425  
 Rodríguez Moreno Luis 481  
 Rodríguez Palenzuela Pablo 477  
 Rodríguez Pérez Ana María 522  
 Rodríguez Pérez Esther 349  
 Rodríguez Pérez María 147, 271  
 Rodríguez Sánchez Sara 368, 429  
 Rodríguez-Avial Infante Iciar 281  
 Rodríguez-Beltrán Jerónimo 159, 194, 268  
 Rodríguez-Calleja Jose M. 371  
 Rodríguez-Castro Elisa 444, 455  
 Rodríguez-González Álvaro 493  
 Rodríguez-Llorente Ignacio 543  
 Rodríguez-Llorente Ignacio D. 488  
 Rodríguez-Llorente I. D. 492  
 Rodríguez-Melcón Cristina 301, 302, 303, 305, 384, 391, 392, 432  
 Rodríguez-Rodriguez Sergio 223  
 Rodríguez-Rubiano Elvira 193, 299, 314  
 Rodríguez-Rubio Lorena 238  
 Roig Arnau P. 297  
 Roldán Carolina 273  
 Romalde Jesus L 309  
 Román Alonso Federico 318, 320  
 Román Camacho Juan Jesús 252  
 Romero Diego 196, 200, 205, 509  
 Romero Esperanza 521  
 Romero Hinojosa Diego 127, 199  
 Romero Jiménez Paula 370  
 Romero Pardo Paloma 545  
 Romeu Eduardo 216  
 Roncero Benavente Elia 64, 370, 375  
 Ropero Carolina 165  
 Ros Sirvent Manuel 506  
 Rossello-Mora Ramon 71, 78, 221, 332, 348, 363  
 Rosso Marie-noëlle 116, 462  
 Ruas-Madiedo Patricia 365  
 Rubiño Susana 63  
 Rubio M. Belén 91  
 Rubio González Álvaro 534  
 Rubio-Canalejas Alba 274  
 Ruiz Javier 438, 441  
 Ruiz Altamirano Sonia 418  
 Ruiz De La Bastida Ana 433  
 Ruíz De La Haba Rafael 338, 353, 537  
 Ruiz Moreno Ángel 356  
 Ruiz Muñoz Marina 248  
 Ruiz Rico María 265  
 Ruiz Ruiz Javier 456  
 Ruiz Ruiz Susana 132  
 Ruiz-Carnicer Ángela 543  
 Ruiz-Castilla Francisco J. 455  
 Ruiz-Castilla Francisco Javier 444  
 Ruiz-Deñas Francisco J. 166  
 Ruiz-Deñas Francisco Javier 116, 462  
 Ruiz-Gaitán Alba Cecilia 447  
 Ruiz-Garbajosa Patricia 268  
 Ruiz-Moreno Ángel 80, 342, 343  
 Ruiz-Moyano Santiago 388, 418, 439, 440  
 Ruíz-Moyano Seco De Herrera Santiago 430

Ruiz-Muñoz Marina 99  
Ruiz-Pérez Francisco 444, 455  
Ruiz-Sainz José-enrique 94  
Ruiz-Sánchez Alessandra 541  
Russo Alessandra 353  
Ruvira Amparo 344, 345  
Ruvira Garrigues Maria Amparo 395

### S

S. Cooper Ben 268  
Sá Sara 209, 210  
Saati Santamaria Zaki 485, 512  
Saati-Santamaría Zaki 360, 483, 552  
Sacristán Pérez-Minayo Gonzalo 434  
Sáez-Matía Alba 424  
Salas J. A. 150  
Salas José A. 143  
Salazar Nuria 365  
Salazar Sánchez Adrián 386  
Salazar-Sánchez Adrián 416, 435  
Salgado Briegas Sergio 160  
Saliba Patrick 304  
Salido Ruiz Sofía 421  
Salinas Nieto Jesús 519  
Salvachúa Davinia 116  
Salvador Cristian 262  
Salvador Maika 436  
Salvador Arnadillo Maika 436  
Samitier Josep 54  
Sampedro Inmaculada 478, 489, 503, 549  
Sampedro Quesada Inmaculada 487, 544  
Samper Blasco Sofía 261, 270  
San Millán Álvaro 35, 56, 159, 194, 268  
Sánchez Álvaro 31  
Sánchez Carmen 385  
Sánchez Gloria 70  
Sánchez M<sup>a</sup> Blanca 231  
Sánchez Olga 344  
Sánchez Amat Antonio 183  
Sánchez Angulo Manuel 536  
Sanchez Beltrán Maria Del Carmen 331  
Sánchez Cármenes Ricardo 428  
Sánchez De La Nieta Ricardo 247  
Sánchez García Laura 84  
Sánchez León Enrique 529, 533  
Sánchez López Carmen 389  
Sánchez López-Berges Manuel 454  
Sánchez Nieto Esperanza 294  
Sánchez Osuna Miquel 131, 158  
Sánchez Romero María Antonia 174  
Sánchez-Amat Antonio 115  
Sánchez-García Laura 69  
Sánchez-García Marisol 462  
Sánchez-Jiménez A. 237, 354  
Sánchez-Juanes Fernando 400  
Sánchez-Martínez Elisa 541  
Sánchez-Martínez Rodrigo 350  
Sánchez-Melsió Alexandre 240  
Sánchez-Osuna Miquel 58, 162  
Sánchez-Porro Cristina 335, 336, 337, 338, 359, 537, 543  
Sánchez-Romero María Antonia 171  
Sánchez-Romero M<sup>a</sup> Antonia 543  
Sánchez-Ruiz María I. 116  
Sanchez-Vidal Anna 239  
Sanchis López Claudia 477  
Sanchis Talón Marta 234, 380, 390  
Sandoval Andrés 203  
Sandoval Trujillo Horacio 306  
Sanjuán Eva 319  
Sanjuán Caro Eva 236  
Santamaría Ramon I. 257  
Santamaría Hernando Saray 477, 496  
Santamaría Sánchez Ramón I. 247  
Santero Eduardo 187  
Santero Santurino Eduardo 531  
Santiago Gómez Irene 540  
Santos Antonio 438, 441, 456  
Santos Fernando 71, 78, 330, 350, 351  
Santos Jesús A. 371, 419  
Santos De La Sen Antonio 523  
Santos Dueñas Inés María 252  
Santos Lopez Alfonso 266  
Santos-Merino María 178  
Santos-Moriano Paloma 259

Sanz Juan Carlos 308  
 Sanz Gómez Jose Javier 312  
 Sanz Martí Estela 191  
 Sanz-Aparicio Julia 259  
 Sanz-Saez Isabel 344  
 Sapena Fernando 276  
 Sarasa-Buisan Cristina 211  
 Sastoque Martínez Angie Paola 357  
 Sastre Miquel Àngel 131, 186  
 Satari Leila 341  
 Savé Montserrat Robert 511  
 Scharrer Vincent 141  
 Schiatarella Giuseppe 353  
 Schikora Tamarit Miquel Àngel 283  
 Sebastián Clara 176  
 Segado Martín 519  
 Segarra Robles Ana Belén 412  
 Seguí Crespí Guillem 358, 361  
 Segura Verónica 543  
 Segura-García Jaume 551  
 Sellers Moya Angela 451  
 Sempere Julio 308, 318, 320, 541  
 Senel Ece 78  
 Seoane Marta 224  
 Seoane Zonjic Pedro 170, 229  
 Sequeros David 73  
 Serna Carlos 202, 214  
 Serradilla Manuel J. 418  
 Serrano Ana 462  
 Serrano Susana 538, 550  
 Serrano Aguirre Lara 523  
 Serrano Barrero Susana 523  
 Serrano Durruty Ricardo 540  
 Serrano Durruty Sebastián 540  
 Serrano Salces Antonio 264  
 Serrano-Galán Víctor 301, 302  
 Serrano-Toril Adriana 444  
 Seseña Prieto Susana 147, 271, 368, 429  
 Sevilla Emma 128, 203, 211, 518  
 Siles-Castellano Ana B. 527  
 Silva Carina 188, 209, 210  
 Silva Luis R. 400  
 Silva Alexandre Víctor 449

Smith Aaron T. 158  
 Solana Jimena 255  
 Solano Cristina 134  
 Solano Goñi Cristina 43, 151, 154  
 Soliveri Juan 279, 280  
 Somoano García Aitor 39  
 Soria Elena 351  
 Soto Helena 259  
 Soto Teresa 445, 463, 475  
 Soto Misffut María José 495  
 Souto Pereira Sandra 227  
 Spezzia Mazzocco Teresita 300, 324  
 Stchigel Alberto Miguel 379, 380, 464  
 Stchigel Glikman Alberto Miguel 357, 390  
 Straková Dáša 335, 336  
 Stressmann Franziska 133  
 Suárez Adolfo 365  
 Suarez Estrella Francisca 519, 525, 526  
 Suárez-Estrella Francisca 490, 527, 534  
 Suay Garcia Beatriz 282, 323  
 Sørensen Søren J. 521

## T

Tagg Kaitlin A 197  
 Taglialegna Agustina 207  
 Tajuelo Ana 267, 288  
 Tamame Mercedes 101  
 Tapia Paniagua Silvana Teresa 170, 229  
 Tarín Pelló Antonio 282, 323  
 Teira Esmatges Maria Rosa 511  
 Tejero Paula 418  
 Tejero Cordero Paula 437  
 Tejero-Ojeda M<sup>a</sup> Mar 145  
 Tellechea Luzardo Jonathan 114  
 Tellez Germán Alberto 326  
 Terrab Benjelloun Anass 379  
 Tienda Sandra 499, 500  
 Tirado Victor 253  
 Toledo Del Árbol Julia 406  
 Toledo-Arana Alejandro 156, 180, 184, 185  
 Tolf Conny 317  
 Tomasi Sandra 438, 441

Toral Laura 503  
Toribio Ana 519  
Toribio Gallardo Ana J. 490  
Tormo Jose R. 247  
Tormo Mas María Ángeles 321  
Tormo Mas M<sup>a</sup> Ángeles 206  
Tornadijo Rodríguez María Eugenia 381  
Toro Segovia Lily Johana 326  
Torrens Ribot Gabriel 286  
Torrents Eduard 54, 144, 149, 262, 274  
Torrents Serra Eduard 272  
Torres Marta 503  
Torres Sánchez Alfonso 342, 343, 356  
Torres-Cano Alba 279  
Torres-Garcia Daniel 333  
Torres-Sánchez Alfonso 80  
Torres-Vila Luis M. 247  
Trelis Villanueva María 164  
Trigo Da Roza Filipa 56, 212  
Tritt Andrew 462  
Trobos Margarita 151  
Truchado Pilar 294, 373  
Trujillo Martha E 73  
Trujillo Martha E. 501  
Turner Caroline 266

## U

Unanue Marian 222  
Uranga Ainhoa 222  
Uribe Tapia Eduardo 228  
Urmeneta Jordi 235

## V

V. Merchán Almudena 439, 440  
Vaca Inmaculada 173  
Vaca Cerezo Inmaculada 362  
Val Calvo Jorge 204  
Valderrama Conde M<sup>a</sup> José 281  
Valentín Eulogio 447  
Valentín Martín Amparo 206

Valenzuela Susana V. 257  
Valenzuela Mayorga Susana V. 109  
Valera Martínez María José 428  
Valero Antonio 374, 387  
Valle Jaione 42, 207  
Van Dillewijn Pieter 521  
Van Wezel Gilles 152  
Varela Carmen 307  
Vargas Carmen 138, 192  
Vásquez Ghislaine 362  
Vázquez-Hernández Maria 388  
Vázquez Covadonga 424, 541, 550  
Vázquez José Antonio 364  
Vázquez Lucía 249  
Vázquez Domínguez Débora 324  
Vázquez Estévez Covadonga 446, 466, 472, 538  
Vázquez Toscano María 425  
Vázquez-Arias David 476  
Vázquez-De La Fuente Iñaki 352  
Vázquez-Hernández María 440  
Vázquez-Marín Beatriz 445, 463, 475  
Veiga Marlene 209, 210  
Vela Corcía David 127, 196, 509  
Vela Delgado María Dolores 460, 491  
Velapatiño Gamarra Angela 331  
Velázquez Encarna 485  
Velázquez Otero Rocío 408  
Vendrell-Fernández Sol 145  
Venter Fanus 221, 332  
Ventosa Antonio 72, 335, 336, 337, 338, 353, 359, 543  
Ventura Marco 365  
Vera-Gargallo Blanca 72  
Verdú Carlos 129, 181  
Verdú Cano Carlos 139  
Verdú Navarro Fuensanta 251  
Verdú-Expósito Cristina 38  
Vergara Ester 56, 212  
Vergara González Ester 213  
Vicario Martín Roberto 179  
Vicedo Begonya 510  
Vicente Javier 438, 441  
Vicente-Soler Jero 445, 475  
Vicente-Soler Jerónima 463



Vicentefranqueira Rocío 483  
 Vidal Ariadna 235  
 Vidal-Verdú Àngela 341, 513  
 Videira Isabel 512  
 Vieira André 209  
 Vieiros Rodríguez Melina 109  
 Vieitez Manuel 235  
 Vielva Luis 197  
 Vignolo Graciela 395  
 Vila Nistal Marina 218  
 Vila-Nistal Marina 68  
 Vilanova Cristina 528  
 Vilchez-Vargas Ramiro 86  
 Villalón Melo Altea 442  
 Villamor Judith 71  
 Villanueva Maite 180, 184, 185  
 Villanueva Pablo 173, 362  
 Villar-Moreno Rafael 498  
 Vinardell Jose-maria María Vinardell 94  
 Viñas Marc 505  
 Viñas Miguel 287  
 Viñas Canals Marc 511, 535  
 Vinuesa-Rodríguez Juan Jose 275  
 Vioque Agustín 142  
 Viver Tomeu 71, 78, 221, 332, 348, 363  
 Viveros Lizondo Noelia 377  
 Vogel Jörg 141  
 Volpi Marta 373  
 Vukomanovic Marija 274

## W

Waldenstrom Jonas 317  
 Wang Luxin 397  
 Wang Mei 116  
 Wangenstein Owen S. 241  
 Webb Hattie 197  
 Wedel Emilia 215  
 Weglarczyk M. Izabela 515  
 Wegmann Udo 396  
 Weitzel Thomas 307  
 Welp Allison L. 266

Willemse Joost 152  
 Williams Richard 37, 317  
 Wu Ling Juan 204

## X

Xiao Xiansha 152  
 Xu Hengyi 183  
 Xu Jingwei 49

## Y

Yagüe Paula 146, 152, 155  
 Yan Mi 462  
 Yáñez Alberto 50, 291, 292  
 Yáñez M. Adela 351  
 Ye Suhui 250  
 Yuste Aida 443  
 Yuste Jose 308, 318, 320

## Z

Zabaleta Ane 78  
 Zaldibar Aramburu Beñat 226  
 Zapico Inés 216  
 Zaragoza Óscar 283  
 Zhu Xiang Le 540  
 Ziarsolo Peio 431  
 Zorrilla Ana 541  
 Zueco Jesús 551  
 Zúñiga Ripa Amaia 347  
 Zúñiga-Ripa Amaia 269, 325  
 Zurita Antonio 543  
 Zuzuarregui Aurora 431  
 Zwietering Marcel 97  
 Zygmunt Michel S. 347



SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
**MICROBIOLOGÍA**

**75**

**ANIVERSARIO**

## ORGANIZADORES



XXVIII Congreso  
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
**MICROBIOLOGÍA**

 **75**  
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
**MICROBIOLOGÍA** ANIVERSARIO

 **4ID** SCIENCE  
M.R. GO DIGITAL!

## PATROCINADORES



Federation of European  
Microbiological Societies



**bionet**<sup>®</sup>