

Microorganismos industriales y compuestos microbianos bioactivos

CARMEN SIEIRO, ÁNGELES PICHARDO-GALLARDO, LARA AREAL-HAERMIDA, JOANA TERRA-MATOS, DIOGO FERREIRA

Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Área de Microbiología. Universidade de Vigo.

✉ mcsieiro@uvigo.gal



Figura 1. Miembros del grupo. De izquierda a derecha: Carmen Sieiro, Ángeles Pichardo-Gallardo, Lara Areal-Hermida, Joana Terra-Matos, Diogo Ferreira.

El equipo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana de la Universidad de Vigo se creó en el año 2004 y está dirigido por la Profesora Carmen Sieiro, que pertenece al Área de Microbiología del Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. En la actualidad, está integrado en el grupo de investigación multidisciplinar "Innovación en Agrolimentación y Salud" de la mencionada Universidad.

El trabajo desarrollado por el equipo tiene como objetivo principal la caracte-

rización, selección y mejora de microorganismos de importancia industrial y la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos de interés biotecnológico, con especial interés en los que muestran actividad antimicrobiana. Para llevar a cabo estos trabajos, previamente, se explora la biodiversidad de microorganismos presentes en diferentes hábitats y procesos fermentativos con la finalidad de obtener colecciones de cepas microbianas, identificadas y tipificadas fenotípica y genotípicamente, que son después sometidas a estudio. El grupo financia sus investigaciones a tra-

vés de proyectos de investigación y transferencia conseguidos en convocatorias competitivas, muchos de ellos realizados en colaboración con empresas del sector interesadas.

Una de las líneas de investigación que desarrolla el grupo desde su creación es el estudio de la microbiota asociada a la vid y a las fermentaciones vínicas. Tras los primeros estudios sobre la influencia de cepas seleccionadas de *Saccharomyces cerevisiae* en la tipicidad de los vinos de Galicia, en el marco de proyectos poste-

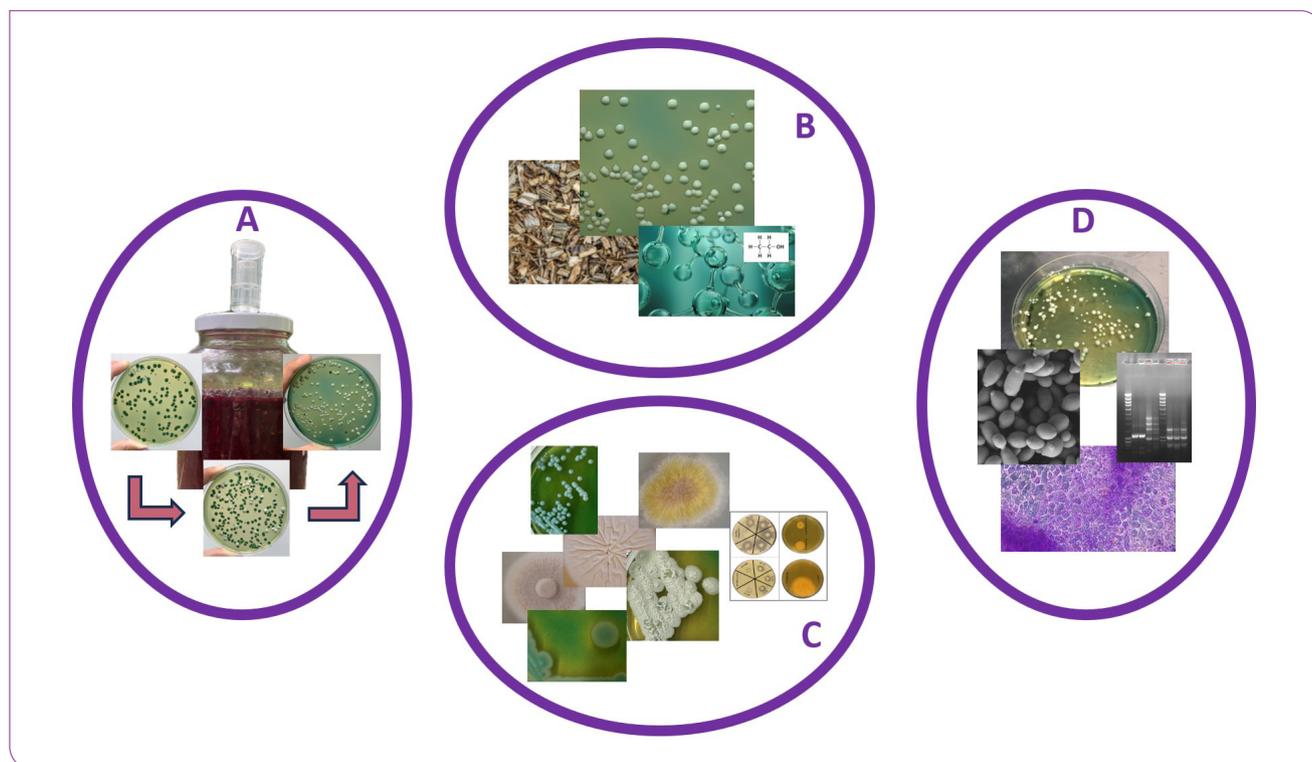


Figura 2. Líneas de investigación: Microorganismos de interés enológico (A); Levaduras para producción de etanol a partir de lignocelulosa; Compuestos microbianos bioactivos (C); Probióticos y nuevos alimentos funcionales (D).

riores que continúan en la actualidad, los trabajos se centraron en las levaduras no-*Saccharomyces* de diferentes variedades de vid. La caracterización de estos aislados permitió la selección de cepas que, en fermentaciones mixtas controladas, potencian y diferencian el perfil sensorial de los vinos. Estas cepas han sido probadas con éxito en ensayos de microvinificación que en la actualidad se están escalando en volúmenes mayores, en colaboración con bodegas interesadas, con la finalidad de verificar su bondad para llevar a cabo en el futuro fermentaciones a escala industrial. Dentro de la línea de investigación de microorganismos de interés enológico, y con objeto de abordar las dificultades que surgen en la consecución de la fermentación maloláctica de los vinos gallegos de la variedad Albariño, se han llevado a cabo estudios sobre las bacterias ácido lácticas presentes en la vid y en el vino, que pusieron de manifiesto una diversidad diferenciada asociada a la variedad y a la comarca. A partir de los aislados, atendiendo a criterios de calidad y seguridad, se seleccionaron bacterias malolácticas con capacidad para desarrollarse en las condiciones de

los vinos estudiados y que pueden ser usadas como cultivos iniciadores.

En el marco de la investigación en levaduras industriales, en colaboración con el Centro de Biología Molecular y Ambiental de la Universidade do Minho-Portugal, se trabaja también en una línea sobre la obtención de cepas de *S. cerevisiae* mejoradas para la producción de bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos. La presencia de inhibidores derivados de la hidrólisis de la lignocelulosa, en particular ácido acético y fórmico, causa un stress severo que limita la productividad. Reforzar la resistencia de las levaduras a este stress puede ser una estrategia prometedora para incrementar la eficiencia fermentativa. En concreto, se busca identificar proteínas vacuolares cuya delección impacte positivamente en el crecimiento celular y la eficacia fermentativa de las levaduras en presencia de ácido acético y ácido fórmico. La caracterización de algunos de estos mutantes ha puesto de manifiesto ya un incremento en el crecimiento y en la producción de etanol en condiciones que simulan la fermentación de hidrolizados lignocelulósicos.

Otra de las líneas de investigación que se llevan a cabo en el grupo consiste en la búsqueda y caracterización de nuevas enzimas de interés biotecnológico mediante el estudio de sus determinantes moleculares y propiedades bioquímicas. Entre ellas, y en relación con la línea anterior, se resaltan los trabajos realizados con una endopoligalacturonasa de *Kluyveromyces marxianus*. Para esta enzima se construyeron cepas hiperproductoras mediante su expresión heteróloga en *Pichia pastoris* y la enzima producida se mostró adecuada para la clarificación de mosto de uva y la extracción de precursores de aromas varietales, así como para la extracción e intensificación del color de los vinos y su enriquecimiento en polifenoles compitiendo, como enzima única, con formulaciones pécticas comerciales.

Las quitinasas son otro grupo de enzimas estudiadas también por el laboratorio. Estas enzimas tienen gran interés para la degradación de la quitina y su transformación en oligosacáridos con actividad biológica, pero sobre todo debido a su actividad frente a hongos e insectos, por

la que han sido propuestas como agentes de biocontrol. Dentro de este tema se han estudiado, desde el punto de vista estructural y funcional, los genes que codifican distintas quitinasas en *Lactococcus lactis*, *Halalkalibacterium halodurans*, *Halobacterium salinarum* y *Pseudoalteromonas tunicata*, para lo cual se han construido cepas recombinantes de *Escherichia coli* que los sobreexpresan. La caracterización de las propiedades de estas enzimas demostró su utilidad para llevar a cabo la hidrólisis de la quitina o como antimicrobianos debido a su actividad frente a distintos hongos. La línea de investigación continúa con la optimización de la producción y la caracterización de nuevas enzimas para diferentes aplicaciones.

En el contexto de la línea relacionada con la búsqueda de nuevos antimicrobianos y microorganismos antagonistas, los trabajos del grupo en el futuro continuarán con la selección de los mismos en las colecciones de microorganismos con las que cuenta el laboratorio, así como explorando nuevos hábitats. En este sentido, y en colaboración con el Centro de Estudios Clínicos del Hospital Fernando Pessoa de Porto y con el Centro de Investigación en Salud Traslacional y Biotecnología Médica del Instituto Politécnico de Porto-Portugal, se ha construido una colección de hongos filamentosos aislados de distintos frutos a partir de la cual se están identificando nuevas cepas con actividad antimicrobiana frente a diferentes bacterias patógenas resistentes a antibióticos. En paralelo, aprovechando esta colección, y dado el interés en nuevos metabolitos microbianos bioactivos, se está explorando su potencial para buscar nuevas moléculas con actividad citotóxica frente a líneas celulares tumorales. Dentro de esta línea se resaltan los resultados obtenidos ya en la selección de nuevas bacterias lácticas de origen enológico con actividad frente a distintos patógenos, destacando la cepa LPLUV10 de *Lactiplantibacillus plantarum* que, además, demostró capacidad para proteger a las plantas de tomate frente a

Fusarium oxysporum, así como para estimular su crecimiento.

Por último, destacar que el grupo ha iniciado recientemente una nueva línea de investigación, en la que centrará también sus esfuerzos en el futuro, cuyo objetivo es la caracterización de nuevos microorganismos probióticos y de sus propiedades funcionales a partir de alimentos fermentados no convencionales. En este momento cuenta ya con cepas para las que se ha comprobado su capacidad de supervivencia y adherencia en el tracto digestivo y que muestran interesantes características funcionales. En el marco de un nuevo proyecto de investigación de reciente concepción, se comenzarán a explorar en breve, tanto in vitro como in vivo, nuevas aplicaciones para estas cepas.

Bibliografía

Terra-Matos J, Oliveira Teixeira M, Santos-Pereira C, Noronha H, Domingues L, Sieiro C, Gerós H, Rodrigues Chaves S, Sousa MJ y Corte-Real M. (2022). *Saccharomyces cerevisiae* cells lacking the zinc vacuolar transporter Zrt3 display improved ethanol productivity in lignocellulosic hydrolysates. *J. Fungi* 8: 78.

López-Seijas J, García-Fraga B, da Silva AF, Zás-García X, Lois LC, Gago-Martínez A, Leao-Martins J M y Sieiro C. (2020). Evaluation of malolactic bacteria associated with wines from Albariño variety as potential starters: Screening for quality and safety. *Foods* 9: 99.

Sieiro C, Areal-Hermida L, Pichatdo-Gallardo A, Almuiña-González R, de Miguel T, Sánchez S, Sánchez-Pérez A y Villa TG. (2020). A hundred years of bacteriophages: Can phages replace antibiotics in agriculture and aquaculture?. *Antibiotics* 9: 493.

López-Seijas J, García-Fraga B, da Silva AF y Sieiro C. (2020). Wine lactic acid bacteria with antimicrobial activity as potential

biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Agronomy* 10: 31.

da Silva AF, García-Fraga B, López-Seijas J y Sieiro C. (2017). Optimizing the expression of a heterologous chitinase: A study of different promoters. *Biongnineered* 8: 428-432.

García-Fraga B, da Silva AF, López-Seijas J y Sieiro C. (2015). Optimized expression conditions for enhancing production of two recombinant chitinolytic enzymes from different prokaryotes domains. *Bioprocess and Biosyst Eng* 38:2477-2486.

García-Fraga B, da Silva AF, López-Seijas J y Sieiro C. (2015). A novel family 19 chitinase from the marine-derived *Pseudoalteromonas tunicata* CCUG 44952T with antifungal activity. *Biochem Eng J* 93: 84-93.

da Silva AF, García-Fraga B, López-Seijas J y Sieiro C. (2014). Characterization and optimization of heterologous expression in *Escherichia coli* of the chitinase encoded by the *chiA* gene of *Bacillus halodurans* C-125. *Process Biochem* 49: 1622-1629.

Sieiro C, Villa TG, da Silva AF, García-Fraga B y Vilanova M. (2014). Albariño wine aroma enhancement through the use of a recombinant polygalacturonase from *Kluyveromyces marxianus*. *Food Chem* 145: 179-185.

García-Fraga B, da Silva AF, López-Seijas J y Sieiro C. (2014). Functional expression and characterization of a chitinase from the marine archaeon *Halobacterium salinarum* CECT 395 in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 98: 2133-2143.