

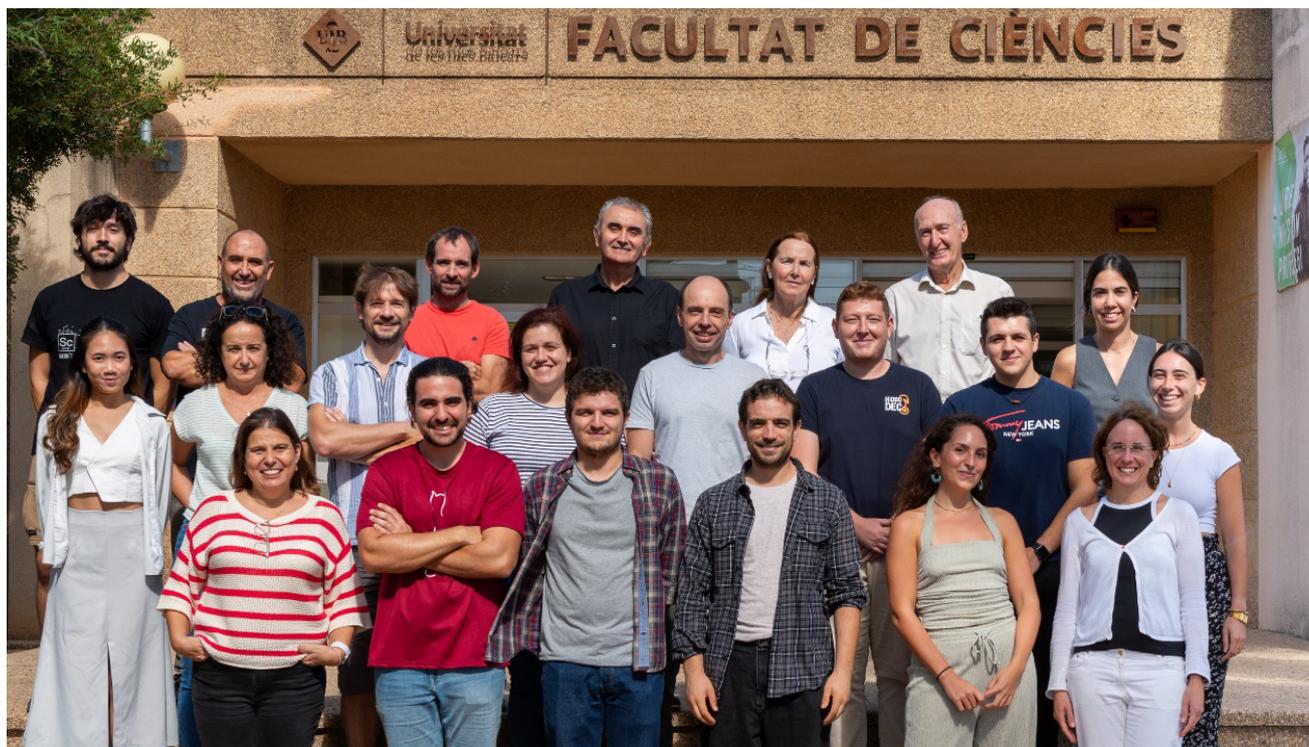
MICROBIAM: Desde la biodegradación de hidrocarburos hasta el futuro de los plásticos sostenibles

JOSEPH A. CHRISTIE-OLEZA*, **MARÍA DEL MAR AGUILÓ-FERRETJANS**, **ANTONIO BENNASAR-FIGUERAS**, **JUSTINE M. BITALAC**, **ANTONIO BUSQUETS**, **ESTEBAN BUSTOS-CAPARROS***, **CATALINA CABOT**, **IBAI CANO**, **MARIA CAÑELLAS-CIFRE**, **GUILLEM COLL-GARCÍA***, **ALBERTO CONTRERAS-MOLL**, **MARC CRESPO-CARRETERO**, **PEDRO ECHEVESTE**, **ELENA GARCÍA-VALDÉS**, **MARGARITA GOMILA**, **JOSE LAÇO**, **JORGE LALUCAT**, **ROCÍO D.I. MOLINA**, **MAGDALENA MULET**, **NIEVES M. NAVARRETE-LÓPEZ**, **THEO OBRADOR-VIEL**, **RAMON ROSSELLÓ-MORA***, **ÁLVARO SÁNCHEZ-CARABANTES**, **TOMEU VIVER***, **BALBINA NOGALES#**, **RAFAEL BOSCH#**

Grupo de Microbiología y Biotecnología Ambiental, Departamento de Biología, Universitat de les Illes Balears (UIB), Cta. Valldemossa km 7.5, 07122, Palma de Mallorca.

* Dirección actual: Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA, CSIC-UIB), C/ Miquel Marqués 21, 07190, Esporles.

✉ joseph.christie@uib.eu | bnogales@uib.es | rbosch@uib.es



Miembros del grupo.

El grupo de investigación en Microbiología y Biotecnología Ambiental (MICROBIAM) de la Universidad de las Islas Baleares (anteriormente conocido como el grupo Microbiología-UIB, <https://www.uib.es/es/recerca/estructures/grups/grup/Microbio/>) es un equipo dinámico y diverso compuesto por profesores universitarios, catedráticos eméritos, investigadores postdoctorales, doctorandos, técnicos de investigación

e investigadores colaboradores. Los miembros del grupo somos responsables de la gestión académica de dos programas de posgrado en la UIB: el máster en Microbiología Avanzada (<https://cep.uib.es/es/master/MMAV/>) y el doctorado en Microbiología Ambiental y Biomédica (<https://edoctat.uib.es/es/doctorat/TMAB/>). Además, impartimos docencia en los grados de Biología, Bioquímica,

Farmacia y Medicina. Nuestro grupo, cuyo origen se sitúa a finales de los años 70 con la fundación de la UIB, centra su investigación en dos grandes líneas: i) taxonomía, filogenia y diversidad (Gomila *et al*, 2024), y ii) biodegradación y biorremediación. Adoptando siempre un enfoque multidisciplinar, utilizamos desde técnicas de cultivo tradicionales hasta modernas técnicas ómicas (genómica,

proteómica y metabolómica) aplicadas a cultivos puros y muestras ambientales.

Las primeras publicaciones del grupo sobre biodegradación se remontan a finales de los años 80, cuando se aislaron microorganismos degradadores de naftaleno, entre los que destaca *Stutzerimonas chloritidismutans* AN10 (anteriormente *Pseudomonas stutzeri*) (García-Valdés *et al*, 1988). Esta cepa fue nuestro modelo para caracterizar la vía de degradación aeróbica del naftaleno (Bosch *et al*, 1999a; 2000), mediante la cual este compuesto se convierte en salicilato y luego, a través de las salicilato 1-monooxigenasas NahG y NahW (Bosch *et al*, 1999b; Lanfranconi *et al*, 2009), a catecol, que es finalmente canalizado hacia el ciclo de Krebs. La codificación genética de la vía degradativa en el cromosoma o en plásmidos se ha aclarado recientemente con el descubrimiento de elementos integrativos y conjugativos (ICE) en ésta y otras cepas muy relacionadas, como *Stutzerimonas decontaminans* 19SMN4 (Mulet *et al*, 2023).

Hace unos 15 años, el grupo se centró en el estudio del linaje Roseobacter, componente clave del bacterioplancton marino, especialmente en aguas costeras y puerros (Nogales *et al*, 2011). Se aislaron varias cepas, casi todas capaces de degradar hidrocarburos aromáticos. El uso de técnicas genómicas permitió una comprensión más profunda de los mecanismos de degradación de hidrocarburos aromáticos, como el protocatecuato, utilizados por estos microorganismos (Alejandro-Marín *et al*, 2014). El aislado mejor caracterizado, *Salipiger aestuarii* 357, fue capaz de utilizar el naftaleno como única fuente de carbono y energía, transformándolo en salicilato, que luego se convierte en gentisato, y finalmente es dirigido hacia el ciclo de Krebs (Suárez-Suárez *et al*, 2012). En colaboración con investigadores del Departamento de Química de la UIB, se propuso el uso de esta cepa junto con microfibras magnéticas como estrategia para la eliminación de hidrocarburos poliaromáticos en agua de mar (Gutiérrez *et al*, 2021).

En los últimos años, hemos centrado nuestros esfuerzos en el estudio de la

degradación de plásticos desde perspectivas ecológicas y fisiológicas. Desde el enfoque ecológico, diseñamos métodos innovadores para la detección de microplásticos (Erni-Cassola *et al*, 2017) y definimos la distribución de los diferentes tipos de polímeros en ecosistemas marinos (Erni-Cassola *et al*, 2019), factores de vital importancia para entender el contexto ambiental en el que se produce la posible biodegradación de plásticos en medios acuáticos. Estudiamos, además, comunidades microbianas pioneras en la colonización de plásticos en dichos ecosistemas, observando rápidas sucesiones en la plastisfera marina, y un detrimento de comunidades con mayor potencial biodegradador con el paso del tiempo (Latva *et al*, 2022; Erni-Cassola *et al*, 2020). Desde el enfoque fisiológico, y utilizando técnicas proteogenómicas y metabolómicas, caracterizamos degradadores específicos, como cepas del género *Alcanivorax*, con actividad enzimática capaz de degradar poliésteres naturales y sintéticos, como PHB, PES y PBS (Zadjelovic *et al*, 2020), así como derivados de plásticos más recalcitrantes como el polietileno (Zadjelovic *et al*, 2022). Además, hemos aislado y caracterizado cepas de *Mycobacterium* y *Halomonas*, capaces de degradar plastificadores como DBP, DEHP y ATBC (Wright *et al*, 2020), así como cepas de *Thioclava* y *Bacillus* que degradan PET en ambientes marinos (Wright *et al*, 2021).

¿Qué nos depara el futuro? En nuestra publicación más reciente (Obrador-Viel *et al*, 2024), realizamos una revisión crítica de los métodos actuales para evaluar la degradación microbiana de diversos tipos de plásticos. Entre otros aspectos, destacamos la importancia de adoptar técnicas avanzadas, como la transferencia de la firma isotópica del plástico a los microorganismos, lo que ofrece un método sólido para confirmar la biodegradación de los materiales más resistentes, como el polietileno y el polipropileno. Bajo esta premisa, estamos desarrollando técnicas para estudiar los mecanismos de biodegradación de plásticos, tanto biodegradables (como poliésteres del tipo PHB, PCL, PBS, PLA o PBAT, en el marco de los proyectos AlivePlastics, TED2021-129739B-100, y POLYDEMAR,

PDC2022-133849-I00) como los más recalcitrantes (plásticos con cadenas poliméricas carbono-carbono, como el polietileno y el polipropileno, financiados por el proyecto PlasticROS, PID2022-139042NB-I00). Nuestros estudios proteogenómicos, combinados con técnicas de biología molecular, nos están permitiendo identificar y caracterizar las enzimas involucradas en la ruptura de los distintos polímeros plásticos, así como las rutas metabólicas responsables de la asimilación y mineralización de los oligómeros derivados. La colección de microorganismos biodegradadores de plásticos que estamos generando, junto con la batería de enzimas identificadas y sobreexpresadas, tiene como objetivo su futura aplicación en biorremediación. Con un enfoque aplicado, en los proyectos actuales estamos desarrollando plásticos diseñados para una biodegradación acelerada al final de su vida útil, ya sea en plantas de compostaje o en el océano.

Bibliografía

- Alejandro-Marín CM, Bosch R, Nogales B** (2014). Comparative genomics of the protocatechuate branch of the β -ketoacyl pathway in the Roseobacter lineage. *Marine Genomics*, 17: 25–33.
- Bosch R, García-Valdés E, Moore ERB** (1999a). Genetic characterization and evolutionary implications of a chromosomally encoded naphthalene-degradation upper pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Gene*, 236: 149–157.
- Bosch R, Moore ERB, García-Valdés E, Pieper DH** (1999b). NahW, a novel, inducible salicylate hydroxylase involved in mineralization of naphthalene by *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Journal of Bacteriology*, 181: 2315–2322.
- Bosch R, García-Valdés E, Moore ERB** (2000). Complete nucleotide sequence and evolutionary significance of a chromosomally encoded naphthalene-degradation lower pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Gene*, 245: 65–74.
- Erni-Cassola G, Gibson MI, Thompson RC, Christie-Oleza JA** (2017). Lost, but

- found with Nile Red: a novel method for detecting and quantifying small microplastics (1 mm to 20 µm) in environmental samples. *Environmental Science & Technology*, 51: 13641–13648.
- Erni-Cassola G, Zadjelovic V, Gibson MI, Christie-Oleza JA** (2019). Distribution of plastic polymer types in the marine environment; a meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 369: 691–698.
- Erni-Cassola G, Wright RJ, Gibson MI, Christie-Oleza JA** (2020). Early colonization of weathered polyethylene by distinct bacteria in marine coastal seawater. *Microbial Ecology*, 79: 517–526.
- García-Valdés E, Cozar E, Rotger R, Lalucat J, Ursing J** (1988). New naphthalene-degrading marine *Pseudomonas* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 54: 2478–2485.
- Gomila M, Lalucat J, García-Valdés E, Bosch R, Nogales B, Bennisar A, Christie-Oleza JA, Mulet M, Busquets A, Seguí G, Echeveste P, Aguiló-Ferretjans MM, Molina RDI, Cañellas M, Laço J, Cano I, Martorell S, Obrador-Viel T, Contreras A, Bitalac JM, Colman-Vega PJ, Bustos-Caparrós E, Coll-García G** (2024). *Microbiología UIB: Desde la taxonomía de Pseudomonas a la diversidad como herramienta en microbiología ambiental*. *Sem@foro* 77: 42–44.
- Gutiérrez MS, León AJ, Duel P, Bosch R, Piña MN, Morey J** (2021). Effective elimination and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons from seawater through the formation of magnetic microfibres. *International Journal of Molecular Sciences*, 22: 17.
- Lanfranconi MP, Christie-Oleza JA, Martín-Cardona C, Suárez-Suárez LY, Lalucat J, Nogales B, Bosch R** (2009). Physiological role of NahW, the additional salicylate hydroxylase found in *Pseudomonas stutzeri* AN10. *FEMS Microbiology Letters* 300: 265–272.
- Latva M, Dedman CJ, Wright RJ, Polin M, Christie-Oleza JA** (2022). Microbial pioneers of plastic colonisation in coastal seawaters. *Marine Pollution Bulletin*, 179: 113701.
- Mulet M, Gomila M, Lalucat J, Bosch R, Rossello-Mora R, García-Valdés E** (2023). *Stutzerimonas decontaminans* sp. nov. isolated from marine polluted sediments. *Systematic and Applied Microbiology* 46: 126400.
- Nogales B, Lanfranconi MP, Piña-Villalonga JM, Bosch R** (2011). Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews* 35: 275–298.
- Obrador-Viel T, Zadjelovic V, Nogales B, Bosch R, Christie-Oleza JA** (2024). Assessing microbial plastic degradation requires robust methods. *Microbial Biotechnology*, 17: e14457.
- Suárez-Suárez LY, Brunet-Galmés I, Piña-Villalonga JM, Christie-Oleza JA, Peña A, Bennisar A, Armengaud J, Nogales B, Bosch R** (2012). Draft genome sequence of *Citricella aestuarii* strain 357, a member of the Roseobacter clade isolate without xenobiotic pressure from a petroleum-polluted beach. *Journal of Bacteriology*, 194: 5464–5465.
- Wright RJ, Bosch R, Gibson MI, Christie-Oleza JA** (2020). Plasticizer degradation by marine bacterial isolates: a proteogenomic and metabolomic characterization. *Environmental Science & Technology*, 54: 2244–2256.
- Wright RJ, Bosch R, Langille MGI, Gibson MI, Christie-Oleza JA** (2021). A multi-OMIC characterisation of biodegradation and microbial community succession within the PET Plastisphere. *Microbiome*, 9: 141.
- Zadjelovic V, Chhun A, Quareshy M, Silvano E, Hernandez-Fernaund JR, Aguiló-Ferretjans MM, Bosch R, Dorador C, Gibson MI, Christie-Oleza JA** (2020). Beyond oil degradation: enzymatic potential of *Alcanivorax* to degrade natural and synthetic polyesters. *Environmental Microbiology*, 22: 1356–1369.
- Zadjelovic V, Erni-Cassola G, Obrador-Viel T, Lester D, Eley Y, Gibson MI, Dorador C, Golyshin PN, Black S, Wellington EMH, Christie-Oleza JA** (2022). A mechanistic understanding of polyethylene biodegradation by the marine bacterium *Alcanivorax*. *Journal of Hazardous Materials*, 436: 129278.
-