



XI REUNIÓN DE LA RED NACIONAL DE MICROORGANISMOS EXTREMÓFILOS



8-10 MAYO 2013

BUSQUISTAR (GRANADA)

Parque Natural de Sierra Nevada



ugr

Universidad
de Granada

Responsable de organización:

Grupo “Exopolisacáridos Microbianos”

Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia.

Universidad de Granada.

Campus Universitario de Cartuja s/n.

18071 Granada

<http://www.ugr.es/~eps/es/index.html>

Comité organizador:

Presidente: Victoria Béjar Luque

Vicepresidente: Emilia Quesada Arroquia

Secretaria: M^a Eugenia Alferez Herrero

Tesorero: Fernando Martínez-Checa Barrero

Vocales: Ana del Moral García

Inmaculada Llamas Company

Alí Tahriou

Colaboradores:

Marta Torres Béjar

M^a Dolores Ramos Barbero

Hakima Amjres

David Jonathan Castro

Logotipo Redex: Empar Rosselló. www.artega.net

Impreso por: “**Imprime**”. Facultad de Farmacia (Granada)

Editorial: Ediciones Sider S.C.

I.S.B.N: 978-84-941343-3-3

ÍNDICE

BIENVENIDA	5
AGRADECIMIENTOS	7
INFORMACIÓN GENERAL	9
PROGRAMACIÓN DIARIA	11
SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES I	15
SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES II	23
SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES III	33
SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES IV	43
SESIÓN DE COMUNICACIONES EN PANELES I	51
SESIÓN DE COMUNICACIONES EN PANELES II	65
ÍNDICE DE COMUNICACIONES Y PARTICIPANTES	79
LISTA DE PARTICIPANTES	81
NOTAS	87

BIENVENIDA

La XI Reunión de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos ha sido organizada por el Grupo de Investigación “Exopolisacáridos Microbianos” del Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada con el apoyo del Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN, BIO2011-12879-E). La reunión tendrá lugar los días 8-10 de mayo de 2013 en las instalaciones del hotel “La Alcazaba de Busquistar”, a escasos 4 kilómetros de Trevélez (el pueblo más alto de España), en el km 37 de la carretera Orgiva-Láujar, en el termino municipal de Busquistar. A una altura aproximada de 1.700 m sobre la ladera del barranco de Trevélez, permite encontrarse en un verdadero entorno natural de paisajes, barrancos, ríos y senderos, en pleno Parque Natural de Sierra Nevada. (<http://www.hotelalcazaba.com>).

Los microorganismos extremófilos son aquellos que requieren para su crecimiento óptimo valores extremos de factores físicos y/o químicos que son desfavorables para la mayoría de los seres vivos. Es decir, son microorganismos que se desarrollan en medios ambientes extremos, caracterizados por presentar condiciones hostiles para la vida de otros organismos. Hay diversos tipos de ambientes extremos, tales como los de altas y bajas temperaturas, elevadas presiones hidrostáticas, elevada concentración de sales y los hábitats de altos y bajos valores de pH, entre otros. Existen por tanto diferentes tipos de microorganismos extremófilos: termófilos, psicrófilos, piezófilos, halófilos, alcalófilos, acidófilos, etc. En algunos casos estos microorganismos pueden ser poliextremófilos; por ejemplo los termoacidófilos o los haloalcalófilos que viven en hábitats de elevadas temperaturas y pH ácidos o en medios de altas concentraciones de sales y elevados valores de pH respectivamente. En los medios extremos existen también microorganismos que toleran sus condiciones límite pero no las requieren para su desarrollo óptimo; son los microorganismos extremotrofos, como es el caso de los tolerantes a la elevada sequedad o a las altas radiaciones, tales como *Deinococcus*.

Los microorganismos extremófilos tienen gran interés tanto desde el punto de vista de la investigación básica como desde el punto de vista aplicado. No sólo presentan moléculas únicas y estructuras que son interesantes por su composición en sí misma sino que muchas de ellas tienen aplicaciones industriales por sus características especiales. Un ejemplo de ello son las polimerasas de *Thermus aquaticus* (Taq) y de *Pyrococcus furiosus* (Pfu) de gran utilidad en la técnica de PCR, las proteasas y lipasas de termófilos o psicrófilos empleadas en la industria de detergentes, o las membranas lipídicas de los termófilos utilizadas para la elaboración de los arqueosomas. Tampoco puede olvidarse el interés de las arqueas y bacterias hipertermófilas desde el punto de vista evolutivo, al encontrarse en la base del árbol filogenético, o de los hábitats acidófilos o xerófilos que por sus peculiares características recuerdan las condiciones de otros planetas.

AGRADECIMIENTOS

La XI Reunión de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos ha sido financiada por la Acción Complementaria del MICINN BIO2011-12879-E y por ayudas tanto del Plan Propio de la Universidad de Granada como de la Facultad de Farmacia de dicha Universidad.

Al igual que en reuniones pasadas, también hemos querido destacar y potenciar el contacto con la empresa privada y con la investigación que se realiza en algunas de ellas unida al desarrollo de productos de interés farmacológico y biotecnológico. Agradecemos, por tanto, la participación de Lipotec y de la Fundación MEDINA (Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía).

Finalmente queremos dar las gracias a Empar Rosselló-Móra por la cesión del logo Redex.

INFORMACIÓN GENERAL

LOCALIZACIÓN

Hotel "La Alcazaba de Busquistar".
Km 37 carretera Orgiva-Láujar.
Busquistar (Granada).
Tel: 958 858 687
Fax: 958 858 693
www.hotelalcazaba.com

Coordenadas GPS:
Latitud: 36° 58' 22.5366"
Longitud: -3° 16' 8.3676"



VISITA GUIADA POR LA ALPUJARRA-SIERRA NEVADA EN BUS

- Encuentro en “La Alcazaba de Busquistar” a las 16.00h.

TREVÉLEZ

- Visita a secadero de jamón en Trevelez.
- (tapa degustación + vino local).

PÓRTUGOS

Los Pueblos de la Taha de Pitres:

- Las Tahas Alpujarreñas: Antigua organización política y administrativa de los moriscos alpujarreños.
- Huellas y vestigios moriscos en la alpujarra.
- Cultivos de seda.
- Fuente Agria de Pórtugos.(aguas minero-medicinales)

CAPILEIRA

- Eras de Ardeire.
- Panorámica de las cumbres de más de 3000 metros.
- Rio Poqueira y antiguas zonas de cultivo.

BUBION

- Sendero hasta Pampaneira por el gr-7- 30min. descendente.
- Los GR. y caminos de herradura.
- La tipología arquitectónica alpujarreña.

PAMPANEIRA

Visita al Centro de Información del Parque Nacional de Sierra Nevada:

- Los Espacios Naturales Protegidos de Andalucía.
- El Parque Nacional de Sierra Nevada: Ecosistema de la Alta Montaña Mediterránea.
- La comarca de la Alpujarra y el Parque Nacional: usos y actividades tradicionales.

Itinerario Guiado por Pampaneira

- El Barranco del Poqueira, su historia y cultura.
- Actividades económicas tradicionales de los pueblos alpujarreños.

Recogida del bus Pampaneira Bubión sobre las 08.30h ó 08.45h.

Fin de la actividad.

Cena en Restaurante “El Teide” en Bubión.

PROGRAMACIÓN DIARIA

Miércoles 8 de mayo

13.00 – 14.00 h: **Entrega de documentación.**

14.00 – 16.00 h: **Almuerzo.**

16.00 h: **Inauguración.**

16.30 -18.00 h: **Sesión de comunicaciones orales (I).**

Moderador: Antonio Ventosa Ucero.

O1. Ana Beatriz Fernández, Rohit Ghai, Ana-Belén Martín-Cuadrado, Cristina Sánchez-Porro, Francisco Rodríguez-Valera y Antonio Ventosa. Análisis de la comunidad procariota de una salina mediante una aproximación metagenómica.

O2. Mª José León, Ana B. Fernández, Cristina Sánchez-Porro, Rohit Ghai, Ana Belén Martín-Cuadrado, Francisco Rodríguez-Valera y Antonio Ventosa. *Spiribacter salinus* sp. nov., una *Gammaproteobacteria* abundante en ambientes acuáticos hipersalinos.

O3. Carmen Infante-Domínguez, Ana B. Fernández, Cristina Sánchez-Porro, Francisco Rodríguez-Valera y Antonio Ventosa. Aislamiento y caracterización de una nueva especie de *Aquisalimonas*.

O4. Clara López-Hermoso, Rafael R. de la Haba, Cristina Sánchez-Porro, R. Thane Papke y Antonio Ventosa. Análisis por secuenciación multilócica (MLSA) del género *Salinivibrio*.

O5. Paulina Corral, R. Thane Papke y Antonio Ventosa. Caracterización de arqueas haloalcalófilas basada en el estudio de la composición de lípidos polares y otros métodos taxonómicos clásicos.

O6. Ana Belén Martín-Cuadrado y Francisco Rodríguez-Valera. Diversidad clonal en poblaciones procariotas concurrentes. Variabilidad de *Haloquadratum walsbyi*.

18.00-18.30h: **Café.**

18.30 – 20.00 h: **Sesión de comunicaciones en paneles (I).**

Moderadores: Mª José Bonete Pérez y Joaquín Nieto Gutiérrez.

P1. Jessica Domenech, Julia Esclapez y **Juan Ferrer**. Cambio de preferencia aparente de coenzima en deshidrogenasas halófilas.

P2. Joaquín J. Nieto, Francine Piubeli, Aggeliki Katsifa, **Montserrat Argandoña**, Manuel Salvador, Rosa García-Valero, Anna I. Koukkou y Carmen Vargas. Caracterización molecular de dos sintasas de ácidos grasos ciclopropánicos implicadas en la osmoadaptación de la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*.

P3. Francine Piubeli, Montserrat Argandoña, Manuel Salvador, Rosa García-Valero, Carmen Vargas y Joaquín J. Nieto. Modelo metabólico refinado de *Chromalobacter salexigens* DSM3043 para la producción de ectoínas.

P4. Ana Filipa d'Avó, Sofia Cunha, Ana Mingote, Pedro Lamosa, Milton S. da Costa y Joana Costa. A unique pool of compatible solutes on *Rhodopirellula baltica*, member of the deep-branching phylum *Planctomycetes*.

P5. Luciana Albuquerque y Milton S. da Costa. Isolation, characterization and phylogenetic analysis of new slightly thermophilic bacteria from hot springs in the Azores.

P6. Alba Cuecas, Jorge Cruces, Mª Carmen Portillo y Juan M. González. Viscosity as a factor controlling thermostability of low-molecular weight biomolecules at elevated temperatures.

P7. Ali Tahrioui, Emilia Quesada e Inmaculada Llamas. La producción de moléculas señal del sistema quorum sensing en *Halomonas anticariensis* FP35^T es sensible a la salinidad.

P8. Hakima Amjres, Victoria Béjar, Emilia Quesada, Jamal Abrini, Corinne Sinquin, Jacqueline Ratiskol, Sylvia Collic-Jouault, e Inmaculada Llamas. Propiedades químicas, funcionales y biológicas de exopolisacárido producido por *Halomonas stenophila* HK30.

P9. Irma Marín, Siamack Javani, Ricardo Amils y José P. Abad. Producción de nanopartículas de plata por bacterias psicrófilas aisladas de aguas de deshielo de la Antártida.

P10. Irma Marín, Khaoula Ferraga, Mohammed Merzouki, Moustafa Malki y José P. Abad. Aislamiento y caracterización de bacterias resistentes a níquel procedentes de aguas contaminadas con éste metal.

P11. Irma Marín, Fernando Catalina, Teresa Corrales, Ana Morro, Ana Isabel Morato y Concepción Abrusci. Biodegradación de surfactantes no iónicos polietoxilados en agua marina artificial por bacterias aisladas del lago Roumi (Marruecos).

21.30 h: **Cena.**

Jueves 9 de mayo

08.30 – 09.30 h: **Desayuno.**

09.30-11.30 h: **Sesión de comunicaciones orales (II).**

Moderador: José Berenguer Carlos.

O7. Montserrat Argandoña, Manuel Salvador, Francine Piubeli, Rosa García-Valero, José M^a Pastor, Vicente Bernal, Joaquín J. Nieto, Manuel Cánovas y Carmen Vargas. Biología de Sistemas en *Chromohalobacter salexigens* para optimizar la producción de ectoínas.

O8. Rosa García-Valero, Montserrat Argandoña, Manuel Salvador, Francine Piubeli, Joaquín J. Nieto y Carmen Vargas. Caracterización molecular de una histidina quinasa híbrida implicada en la osmoadaptación de la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*.

O9. Verónica Morgante, Salvador Mirete, Carolina González de Figueras, Marina Postigo y **José Eduardo González-Pastor**. Identificación de nuevos genes implicados en mecanismos de resistencia a arsénico mediante metagenómica funcional.

O10. Lara Mellini, Carmen Pire, Jonathan Regalado, Julia Esclapez, María José Bonete. Regulación de la expresión de genes implicados en la asimilación de nitrógeno en haloarqueas.

O11. Anna Vegara, Mónica Camacho, Vanesa Bautista, María José Bonete. Estudios sobre la estructura oligomérica de la glutamina sintetasa de *Haloferax mediterranei* y su interacción con la proteína reguladora PII.

O12. Pedro González-Torres, Leszek Pryszcz, Fernando Santos, Cristina López, Toni Gabaldón y Josefa Antón. Análisis transcriptómico de las cepas M8 y M31 de la bacteria halófila extrema *Salinibacter ruber*.

O13. Judith Villamor, Fernando Santos, Manuel Martínez y Josefa Antón. Virus de la bacteria halófila extrema *Salinibacter ruber*.

O14. Alba Blesa, Carolina E. César y José Berenguer. Caracterización de un nuevo sistema de conjugación en *Thermus thermophilus*.

11.30 – 12.00 h: **Café.**

12.00 – 13.30 h: **Sesión de comunicaciones en paneles (II).**

Moderadores: Josefa Antón Botella y Ramón Rosselló-Mora.

P12. M^a José García-Bonete, RM. Martínez-Espinosa y **M^a José Bonete**. ¿Cómo están organizados los genes relacionados con la desnitrificación en haloarqueas desnitrificantes?

P13. Joaquín Vera, Paulina Corral, Cristina Sánchez-Porro, Rafael R. de la Haba, R. Thane Papke y Antonio Ventosa. Caracterización de nuevas especies del género *Halorubrum* basada en estudios de secuenciación multilócica (MLSA).

P14. Inmaculada Ibáñez, Rafael R. de la Haba, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa. Genómica comparativa de *Halomonas titanicae*.

P15. Blanca Vera, Ana Beatriz Fernández, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa. Metagenómica comparativa de dos ambientes hipersalinos acuáticos: diversidad filogenómica de procariotas

P16. Can Akpolat, Cristina Sánchez-Porro, Pinar Caglayan, Meral Birbir y Antonio Ventosa. Diversidad de procariotas en pieles tratadas con sal.

P17. Rafael R. de la Haba, Paulina Corral, Cristina Sánchez-Porro, Andrea Makkay, R. Thane Papke y **Antonio Ventosa**. Aplicación del análisis por secuenciación multilócica (MLSA) en la descripción de nuevas especies del género *Halorubrum*.

P18. Cristina Sánchez-Porro, Maryam Bagheri, Mohammad Ali Amoozegar, Maryam Didari, Ali Makhdoumi-Kakhki, Peter Schumann, Cathrin Spröer y Antonio Ventosa. *Marinobacter persicus* sp. nov., una bacteria halófila moderada aislada de un lago salino de Irán.

P19. M^a José León, **Rafael R. de la Haba**, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa. Cepas M1-18 y L1-16, ¿un nuevo género de la familia *Halomonadaceae*?

P20. Nahid Oueriaghli, Emilia Quesada, Victoria Béjar y **Fernando Martínez-Checa**. Procariotas dominantes y análisis de la biodiversidad de cinco salinas del sur de España y norte de Marruecos.

P21. Gema L. Batanero, Andy J. Green, Manuel Rendón e Isabel Reche. Respuesta de los procariotas a la guanotrofización por aves acuáticas en un sistema atalasoalino, la laguna de Fuente de Piedra.

P22. Camilo Muñoz, Catalina Hidalgo, Manuel Zapata, David Jeison, Carlos Riquelme y Mariella Rivas. Selection of marine bacteria with cellulase activity for pre-treatment of microalgal biomass for biogas production.

14.00 – 16.00 h: **Almuerzo.**

16.00 h: **Excursión a los pueblos de la Alpujarra.**

21.30 h: **Cena en el Restaurante Teide.**

Viernes 10 de mayo

08.30 – 09.30 h: **Desayuno.**

09.30-11.30 h: **Sesión de comunicaciones orales (III).**

Moderadora: Asunción de los Ríos Murillo.

O15. Elena González-Toril, Bernhard Dold, Manuel J. Gómez, Alejandro Palomo, Ángeles Aguilera, Enrique López-Pamo y Ricardo Amils. Diversidad microbiana de dos drenajes ácidos de roca en la Antártida.

O16. Fernando Puente, Manuel Gómez-Rodríguez, Ricardo Amils, Virginia Souza-Egipsy, María Altamirano, y **Angeles Aguilera**. Light stress in the extreme acidophilic protist *Euglena mutabilis* as revealed by *in situ* metatranscriptomics.

O17. Isabel Reche, Gema L. Batanero, Ignacio P. Mazuecos, Curtis Suttle, Marion Vittecoq, Juan J. Amat y Andy J. Green. Relación entre la comunidad microbiana y la biogeoquímica de humedales salinos de la cuenca Mediterránea.

O18. Roberto González, Pablo Fuciños, Clara Fuciños, Natalia Estévez, Martín Míguez, Isabel R. Amado y M. Luisa Rúa. Análisis de la diversidad de arqueas en As Burgas (Ourense) mediante DGGE y una estrategia eficiente de screening de bibliotecas de secuencias ADNr 16S.

O19. Bartomeu A. Viver, Ana Cifuentes y Ramón Rosselló-Mora. Diversidad de microorganismos aerobios y cultivables en ambientes hipersalinos mediante el uso de MALDI-TOF/MS y filogenia basada en RNAr 16S.

O20. Ana Cifuentes y Ramón Rosselló-Mora. Caracterización filogenética de la comunidad microbiana de ambientes hipersalinos mediante análisis de clonación y secuenciación del 16S rDNA y pirosecuenciación 454.

O21. Miguel Ángel Fernández-Martínez, Sergio Pérez-Ortega y Asunción de los Ríos. Estudio de la diversidad microbiana en zonas recientemente deglaciadas de Tierra del Fuego, Chile.

O22. Rüdiger Ortiz-Álvarez, Asunción de los Ríos y Sergio Pérez-Ortega. Filogeografía de cianobacterias liquenizadas en ambientes extremos costeros en un gradiente latitudinal.

11.30 – 12.00 h: **Café.**

12.00 – 13.30 h: **Sesión de comunicaciones orales (IV).**

Moderador: Emilia Quesada Arroquia.

O23. Mª Dolores Ramos, Emilia Quesada, Victoria Béjar y Fernando Martínez-Checa. Nuevas estrategias para el cultivo y caracterización de las bacterias que pueblan Rambla Salada (Murcia) y no han podido ser aun cultivadas por métodos clásicos.

O24. David Castro, Emilia Quesada, Victoria Béjar, Inmaculada Llamas y Fernando Martínez-Checa. Puesta a punto de nuevos métodos para el cultivo de los procariontes que pueblan Rambla Salada (Murcia).

O25. Marta Torres, Susana Prado, Manuel Romero, Javier Dubert, Ali Tahrioui, Emilia Quesada e Inmaculada Llamas. Alternativa para combatir enfermedades infecciosas en la acuicultura basada en la interrupción de la comunicación celular.

O26. Albert Soley. Desarrollo de activos cosméticos a partir de los productos de microorganismos extremófilos.

O27. Rocío Luque, Inmaculada Llamas, Emilia Quesada, Ignacio González, Sara Palomo, Rubén Tormo, Noureddine Aouad, Mercedes de la Cruz, Olga Genilloud y Gerald Bills. Búsqueda de nuevos antimicrobianos en procariontes que habitan ambientes salinos de Andalucía.

O28. Ana del Moral, Borja Torres, Emilia Quesada, Inmaculada Llamas, Fernando Martínez-Checa y Victoria Béjar. Un nuevo reto para el investigador: desarrollar su propia spin-off.

13.30 – 14.00 h: **Mesa redonda sobre “Futuro de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos”. Conclusiones y clausura.**

14.00 h: **Almuerzo.**

SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES I

O1. Análisis de la comunidad procariota de una salina mediante una aproximación metagenómica.

Ana Beatriz Fernández¹, Rohit Ghai², Ana-Belén Martín-Cuadrado², Cristina Sánchez-Porro¹, Francisco Rodríguez-Valera² y Antonio Ventosa¹.

¹*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla.*

²*Grupo de Genómica Evolutiva. División de Microbiología. Universidad Miguel Hernández. 03550 Alicante.*

E-mail: abf@us.es

En el presente estudio hemos analizado a nivel genómico la estructura de la comunidad procariota en la columna de agua de varios estanques de la salina “Bras del Port”, en Santa Pola, Alicante, con una profundidad mayor con la que se había realizado previamente. Para este estudio hemos seleccionado cuatro estanques de las salinas con una concentración total de sales del 13, 19, 33 y 37% p/v, respectivamente; se obtuvo el ADN total y posteriormente se secuenció mediante pirosecuenciación 454 (Roche). El análisis genómico comparativo de los metagenomas se realizó utilizando la herramienta BLAST.

La diversidad microbiana a lo largo del gradiente de salinidad es gradualmente más reducida, especialmente en el estanque cristizador. De hecho, hemos detectado 12 phyla del dominio *Bacteria* y un phylum de *Archaea* en el metagenoma proveniente del estanque con un 13% p/v de sales y tan solo un phylum bacteriano y un phylum de arqueas en el estanque con el 37% p/v de salinidad. Además, se observa que los microorganismos con estrategia “salt-out” son reemplazados por los microorganismos con estrategia “salt-in” a medida que aumenta la salinidad. Nuestro estudio pone de manifiesto que en los metagenomas obtenidos a partir de esta salina existe un gran número de secuencias relacionadas con nuevos taxones no cultivados hasta la fecha, relacionadas tanto con bacterias como con arqueas. Este estudio puede contribuir al aislamiento de los grupos de procariotas que son más abundantes en los ambientes hipersalinos.

La luz puede ser una fuente de energía fundamental para estos organismos procariotas a través de diferentes tipos de rodopsinas y de la oxidación del monóxido de carbono mediante la fotólisis de compuestos orgánicos, ya que se han detectado muchas secuencias relacionadas con estos genes en las bases de datos metagenómicas de la salina “Bras del Port”. A partir de estanques con salinidades intermedias se detectan principalmente secuencias relacionadas con transportadores de betaína y genes de síntesis de glutamato mientras que a altas salinidades se detecta una mayor proporción de secuencias relacionadas con la síntesis de glicerol. Por tanto, los microorganismos que utilizan la estrategia “salt-out” muestran principalmente una preferencia hacia el transporte o la síntesis de estos solutos compatibles dependiendo de la salinidad a la que se encuentren.

O2. *Spiribacter salinus* sp. nov., una *Gammaproteobacteria* abundante en ambientes acuáticos hipersalinos.

M^a José León¹, Ana B. Fernández¹, Cristina Sánchez-Porro¹, Rohit Ghai², Ana Belén Martín-Cuadrado², Francisco Rodríguez-Valera² y Antonio Ventosa¹.

¹Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla.

²Grupo de Genómica Evolutiva. División de Microbiología. Universidad Miguel Hernández. 03550 Alicante.

E-mail: mjl@us.es

En un estudio realizado por Ghai y col. (2011) se analizaron distintas bases de datos metagenómicas, obtenidas a partir de estanques de una salina con diferentes concentraciones salinas, poniendo de manifiesto la presencia abundante de nuevos microorganismos no aislados previamente. En este estudio, los análisis de las secuencias y los “contigs” ensamblados de la base de datos SS19, correspondiente a un estanque de una salina con una salinidad del 19% p/v, mostraron la presencia abundante de un representante del phylum *Euryarchaeota* con bajo G+C (diferente a *Haloquadratum walsbyi*) y otro de la clase *Gammaproteobacteria*. Este último se encuentra filogenéticamente relacionado con especies de la familia *Ectothiorhodospiraceae*, en concreto con *Alkalilimnicola ehrlichii* y *Nitrococcus mobilis*. El análisis del reclutamiento de SS19 frente al genoma de estas dos especies fue reducido lo que indicaba que este abundante representante perteneciente a la clase *Gammaproteobacteria* no se correspondía con ninguna de estas dos especies, pero sí se encontraba estrechamente relacionado.

Recientemente hemos aislado en cultivo puro un microorganismo (cepa M19-40) con una secuencia de ARNr 16S relacionada con la especie *Alkalilimnicola ehrlichii*, mostrando un porcentaje de semejanza del 95% con respecto a esta especie. Hemos secuenciado el genoma de esta bacteria para realizar un estudio genómico detallado de la misma. Los estudios de reclutamiento de este genoma con respecto a la base de datos SS19 confirman que esta bacteria se encuentra en una proporción elevada en este estanque con un 19% p/v de salinidad. Actualmente estamos finalizando la caracterización taxonómica de esta bacteria a la que hemos denominado *Spiribacter salinus* sp. nov.

Ghai, R., Pašić, L., Fernández, A. B., Martín-Cuadrado, A. B., Mizuno, C. M., McMahon, K. D., Papke, R. T., Stepanauskas, R., Rodríguez-Brito, B., Rohwer, F., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A. and Rodríguez-Valera, F. (2011). New abundant microbial groups in aquatic hypersaline environments. *Sci. Rep.* 1: 135.

León, M. J., Ghai, R., Fernández, A. B., Sánchez-Porro, C., Rodríguez-Valera, F. and Ventosa, A. (2013). Draft genome of *Spiribacter salinus* M19-40, an abundant *Gammaproteobacterium* in aquatic hypersaline environments. *Genome Announc.* 1: e00179-12.

O3. Aislamiento y caracterización de una nueva especie de *Aquisalimonas*.

Carmen Infante-Domínguez¹, Ana B. Fernández¹, Cristina Sánchez-Porro¹, Francisco Rodríguez-Valera² y Antonio Ventosa¹.

¹*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla.*

²*Grupo de Genómica Evolutiva. División de Microbiología. Universidad Miguel Hernández. 03550 Alicante.*

E-mail: carmenid@us.es

Entre los ambientes extremos más característicos se encuentran los hábitats hipersalinos, que están representados principalmente por sistemas acuáticos y suelos salinos. Los ambientes hipersalinos acuáticos son los mejor estudiados. La mayoría de los estudios realizados para el conocimiento de los microorganismos halófilos se han llevado a cabo mediante técnicas clásicas de cultivo y más recientemente técnicas moleculares independientes de cultivo. Los estudios metagenómicos realizados en ambientes hipersalinos, concretamente en estanques de la salina “Bras de Port”, de Santa Pola han revelado la presencia de grupos taxonómicos nuevos que no han sido aislados hasta la fecha (Ghai *et al.*, 2011).

A partir de estos estudios metagenómicos se han diseñado medios de cultivo con diferentes concentraciones de sales, valores de pH, fuentes de carbono, así como diferentes condiciones de cultivo. Hasta la fecha hemos aislado un total de 630 cepas y continuamos realizando nuevos aislamientos. Actualmente estamos realizando el estudio detallado de la cepa BA42AL-1, la cual está relacionada filogenéticamente con la bacteria *Aquisalimonas asiatica* (Márquez *et al.*, 2007), mostrando un porcentaje de semejanza del gen del ARNr 16S de 96,9%. La cepa BA42AI-1 es una bacteria Gram-negativa capaz de crecer en un rango salino de 5-15% p/v de NaCl, con un óptimo al 7,5% p/v de NaCl y en la actualidad estamos completando su caracterización polifásica. Los análisis del reclutamiento de su genoma frente a las bases de datos metagenómicas antes mencionadas nos permitirán determinar si esta bacteria forma parte en una proporción elevada de la microbiota de las salinas.

Ghai, R., Pašić, L., Fernández, A. B., Martín-Cuadrado, A. B., Mizuno, C. M., McMahon, K. D., Papke, R. T., Stepanauskas, R., Rodríguez-Brito, B., Rohwer, F., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A., and Rodríguez-Valera, F. (2011). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22355652>. **New abundant microbial groups in aquatic hypersaline environments.** *Sci. Rep.* 1: 135.

Márquez, M. C., Carrasco, I. J., Xue, Y., Ma, Y., Cowan, D. A., Jones, B. E., Grant, W. D. and Ventosa, A. (2007). *Aquisalimonas asiatica* gen. nov., sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from an alkaline, saline lake in Inner Mongolia, China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 1137-1142.

O4. Análisis por secuenciación multilócica (MLSA) del género *Salinivibrio*.

Clara López-Hermoso¹, Rafael R. de la Haba¹, Cristina Sánchez-Porro¹, R. Thane Papke² y Antonio Ventosa¹.

¹*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla.*

²*Department of Molecular and Cell Biology. University of Connecticut. 06269 Storrs. CT. USA.*

E-mail: claralh@us.es

El género *Salinivibrio* fue descrito por Smith en 1938 y actualmente consta de 4 especies: *Salinivibrio costicola* (especie tipo, con tres subespecies), *S. sharmensis*, *S. siamensis* y *S. proteolyticus*. Todas ellas son bacterias halófilas moderadas, anaerobias facultativas, aisladas a partir de diversos ambientes hipersalinos, alimentos en salazón y salmueras.

Con la finalidad de estudiar la biodiversidad del género *Salinivibrio* en ambientes hipersalinos así como las relaciones filogenéticas existentes entre los miembros de este género se está llevando a cabo un estudio MLSA incluyendo las cepas tipo de las especies y subespecies del género junto con otras cepas aisladas de diversos ambientes hipersalinos. Hasta la fecha se han aislado 62 cepas, pertenecientes al género *Salinivibrio*, a partir de varias salinas de Huelva, Granada, Alicante y Mallorca, utilizando diversos medios y condiciones de cultivo. Los aislados se caracterizaron inicialmente mediante la secuenciación parcial del gen del ARNr 16S, para confirmar que estaban relacionados con las especies del género *Salinivibrio*.

Los genes *housekeeping* a estudiar han sido seleccionados en base a su utilidad como marcadores moleculares en otros estudios MLSA en el género *Vibrio* y en la familia *Halomonadaceae* (de la Haba et al., 2012). Los genes finalmente utilizados son: *recA* (recombinasa A), *pyrH* (uridilato quinasa), *rpoD* (factor σ 70 de la ARN polimerasa), *gyrB* (subunidad B de la ADN girasa), *rpoA* (cadena α de la ARN polimerasa) y *atpA* (ATP sintasa F1 subunidad α). Los resultados obtenidos en el estudio MLSA se correlacionarán con los datos de hibridación ADN-ADN y con el índice ANI y la frecuencia de tetranucleótidos (en función de los genomas disponibles de cepas del género *Salinivibrio*) para poder de esta forma validar esta técnica.

de la Haba, R. R., Márquez, M. C., Papke, R. T. and Ventosa, A. (2012). Multilocus sequence analysis of the family *Halomonadaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 520-538.

O5. Caracterización de arqueas haloalcalófilas basada en el estudio de la composición de lípidos polares y otros métodos taxonómicos clásicos.

Paulina Corral¹, R. Thane Papke² y Antonio Ventosa¹

¹*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Profesor García González 2. 41012 Sevilla.*

²*Department of Molecular and Cell Biology. University of Connecticut. 06269 Storrs. CT. USA.*

E-mail: pcv@us.es

En el presente trabajo se ha realizado un estudio de la biodiversidad de arqueas haloalcalófilas de diversos ambientes hipersalinos separados geográficamente. Se han aislado y caracterizado nuevas arqueas haloalcalófilas y alcalotolerantes basándose en el estudio de la composición de lípidos polares y en otros métodos taxonómicos clásicos.

En concreto se han estudiado muestras de lagos hipersalinos de Mongolia Interior y del Tibet en China, del lago Aran Bidgol en Irán y de las salinas de Isla Cristina en Huelva. Los estudios de biodiversidad microbiana revelaron el predominio de la familia *Halobacteriaceae*, siendo *Natronorubrum* y *Halorubrum* los género más abundantes en los dos primeros lagos y los géneros *Haloarcula* y *Halorubrum* en el lago Aran Bidgol e Isla Cristina.

Nuestros estudios han permitido la descripción de tres nuevas especies: *Natronorubrum sediminis*, *Halorubrum aquaticum* y *Natronococcus roseus*. Actualmente se está caracterizando la cepa T26 como nueva especie haloalcalófila del género *Halostagnicola*, para la cual se propone el nombre *Halostagnicola bangense* sp. nov.

El presente estudio se ha centrado en la determinación de los patrones lipídicos, obtenidos mediante cromatografía en capa fina (TLC), de las cepas antes mencionadas así como de nuevos aislados del lago Aran Bidgol, caracterizados mediante un estudio de secuenciación multilócica (MLSA), que pertenecen al género *Halorubrum* y que posiblemente constituyen nuevas especies del mismo. Dichos perfiles revelaron la presencia de lípidos de composición desconocida que han sido caracterizados en detalle, complementando su estudio mediante análisis MALDI-TOF. De esta manera se ha estudiado el lipidoma del género *Natronococcus*, donde se evidenció en la membrana de haloarqueas la presencia de una nueva cardiolipina, presente en la membrana de *Natronococcus amylolyticus*, no descrita previamente (Angelini et al., 2012).

Angelini, R., Corral, P., Lopalco, P., Ventosa, A. and Corcelli, A. (2012). Novel ether lipid cardiolipins in archaeal membranes of extreme haloalkaliphiles. *Biochim Biophys Acta*. 5: 1365-1373.

O6. Diversidad clonal en poblaciones procariotas concurrentes. Variabilidad de *Haloquadratum walsbyi*.

Ana Belén Martín-Cuadrado y Francisco Rodríguez-Valera.

Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Universidad Miguel Hernández. San Juan de Alicante. España.

E-mail: amartin@umh.es

El cristalizador de la salina solar de Santa Pola (Alicante) es un hábitat donde la concentración de sal llega a concentraciones de saturación y en el que la biodiversidad de procariotas es tremendamente simple, siendo el archaea cuadrada *Haloquadratum walsbyi* el microorganismo predominante. Hemos secuenciado más de 5 Gb de secuencia genómica mediante pirosecuenciación e Illumina. Además, se secuenciaron varios fósidos completos de una librería realizada con muestras recogidas en el mismo cristalizador. Estas secuencias se compararon con las procedentes de otros cristalizadores de diferentes puntos geográficos y con los genomas de *H. walsbyi* existentes. Los resultados revelan la existencia de varias decenas de clones presentes en un mismo punto temporal, los cuales permanecen a lo largo del tiempo y, que además, son ubicuos ya que se han aislado clones casi idénticos en muestras recogidas en otros puntos muy distantes geográficamente. Éstos clones estarían sujetos a variaciones en las denominadas “islas genómicas”. En concreto, hemos estudiado varias versiones de la Isla Genómica I (fGI1), que codifica proteínas relacionadas con la envuelta celular. Varios de los genes de esta zona del genoma no tienen homólogos ambientales, lo que indicaría que esa versión de la isla genómica ha desaparecido del medio ambiente, bien porque la versión exacta del clon ha desaparecido o porque su proporción ha disminuido drásticamente. De acuerdo con el modelo “constant-diversity dynamics” (Rodríguez-Valera *et al.*, 2009) el significado ecológico de este hecho sería la evasión de la infección por fagos, presentes en grandes cantidades en las salinas y que continuamente ejercen una presión selectiva sobre la abundancia de cada uno de estos clones.

SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES II

07. Biología de Sistemas en *Chromohalobacter salexigens* para optimizar la producción de ectoínas

Montserrat Argandoña¹, Manuel Salvador¹, Francine Piubeli¹, Rosa García-Valero¹, José M^a Pastor², Vicente Bernal², Joaquín J. Nieto¹, Manuel Cánovas² y Carmen Vargas¹.

¹Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla. España.

²Departamento de Biología Molecular e Inmunología. Universidad de Murcia.

Email: montseab@us.es

Las ectoínas son solutos compatibles que se acumulan en algunas bacterias halófilas y halotorantes en respuesta al estrés osmótico y elevada temperatura. Tienen la capacidad de estabilizar a las proteínas celulares, lo que les confiere un enorme potencial biotecnológico en campos como la dermofarmacia, la biología molecular, agricultura o biomedicina. Uno de los productores naturales de estos compuestos es la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*, que posee un amplio rango salino de crecimiento. Con vistas a generar un amplio conocimiento sobre su metabolismo, especialmente en relación a la síntesis de ectoínas, para así optimizar su ingeniería metabólica y mejorar la producción de las mismas, se ha desarrollado una estrategia basada en la Biología de Sistemas. Mediante la integración de datos experimentales globales obtenidos mediante diferentes técnicas “ómicas” con técnicas bioinformáticas se obtendrá un modelo matemático validado que contendrá todos los datos relevantes sobre el sistema y con el que se realizarán simulaciones y predicciones “in silico” de los fenotipos más favorables para la producción ectoínas

En el caso de *C. salexigens* hemos realizado un estudio del proteoma y del transcriptoma a diferentes salinidades y temperaturas, ya que son factores que afectan a la síntesis de ectoínas, así como diferentes estudios metabólicos. Estos estudios muestran una relación directa de la síntesis de ectoínas con el metabolismo central del C y N, destacando un aumento de la actividad de las rutas anapleróticas o un metabolismo overflow a baja salinidad. Además han puesto de manifiesto la ausencia de glicolisis y la importancia de la ruta de Entner-Doudoroff para el catabolismo de la glucosa (Pastor et al., 2013). Esto nos ha permitido realizar un modelo matemático metabólico esencial o “core” a partir de una reconstrucción metabólica basada en el genoma donde se han incluido las rutas metabólicas relevantes. Actualmente se están realizando estudios del metaboloma en las mismas condiciones e integrando los datos de proteómica y transcriptómica para poder así validar el modelo. De forma paralela se está obteniendo un modelo de regulación transcripcional que se integrará con el modelo metabólico para mejorar el poder predictivo del mismo.

Pastor et al. 2013. Role of central metabolism in the osmoadaptation of the halophilic bacterium *Chromohalobacter salexigens*. **J. Biol. Chem.** (in press).

Los resultados de esta investigación han sido financiados por los proyectos de investigación del MICINN (BIO2011-22833), con Fondos FEDER Europeos, y de la Junta de Andalucía (P08-CVI-03724).

08. Caracterización molecular de una histidina quinasa híbrida implicada en la osmoadaptación de la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*.

Rosa García-Valero, Montserrat Argandoña, Manuel Salvador, Rosa García-Valero, Joaquín J. Nieto y Carmen Vargas.

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla. España.

E-mail: rgarcia5@us.es

Chromohalobacter salexigens es una bacteria halófila moderada capaz de crecer en un amplio rango de salinidades (0,5 a 3 M de NaCl en medio mínimo) y hasta 45°C. Su principal estrategia de osmo- y termoadaptación es la acumulación citoplasmática de los bioestabilizadores ectoína e hidroxiectoína, dos compuestos con gran interés industrial. Con el fin de coordinar sus procesos de osmo- y termoregulación, las células están equipadas con distintos sistemas y mecanismos de detección de estímulos físicos relacionados con los cambios en el medio externo (detección) y rutas que traducen esos estímulos en señales útiles que pueden ser procesadas en la célula (transducción de señales). Estas distintas rutas de transducción de señales aún no han sido descritas con detalle en bacterias halófilas.

Nuestro grupo de investigación ha descrito el primer regulador de respuesta de un sistema de dos componentes, EupR, involucrado en la osmoadaptación de una bacteria halófila (Rodríguez-Moya y col., 2010), ya que además de estar implicado en la regulación transcripcional del transporte de ectoína(s), su interrupción da lugar a un fenotipo osmosensible. Mediante predicción *in silico* se asoció a su posible histidina quinasa, codificada por el gen *csa10869*, siendo una histidina quinasa híbrida con dos dominios sensores, uno transmembranal y otro citoplasmático, lo que sugiere que esta proteína podría detectar tanto estímulos externos como internos así como integrarlos.

En el presente estudio hemos iniciado la caracterización molecular de esta histidina quinasa híbrida. Así, se ha obtenido un mutante en la misma mediante la inserción de un cassette de resistencia a kanamicina (*csa10869::Km*), cuya caracterización fenotípica preliminar presentamos en este estudio. Además se ha realizado un análisis funcional *in silico* de las 21 histidinas quinastas presentes en el genoma de *C. salexigens* y de sus posibles reguladores de respuesta asociados, así como la descripción preliminar de los sistemas de dos componentes presentes. Estos datos serán muy útiles para dilucidar las posibles rutas de transducción de señales involucradas en la respuesta al estrés osmótico en *C. salexigens*.

Rodríguez-Moya, J., Argandoña, M., Reina-Bueno, M., Nieto, J. J., Iglesias-Guerra, F., Jebbar, M. and Vargas, C. (2010). Involvement of EupR, a response regulator of the NarL/FixJ family, in the control of the uptake of the compatible solutes ectoines by the halophilic bacterium *Chromohalobacter salexigens*. ***BMC Microbiol.*** 10: 256.

O9. Identificación de nuevos genes implicados en mecanismos de resistencia a arsénico mediante metagenómica funcional.

Verónica Morgante, Salvador Mirete, Carolina González de Figueras, Marina Postigo y José Eduardo González-Pastor.

Laboratorio de Ecología Molecular. Centro de Astrobiología (CSIC-INTA). Carretera de Ajalvir. km 4. Torrejón de Ardoz (28850). Madrid. España.

E-mail: gonzalezpje@cab.inta-csic.es

El arsénico (As) es un metaloide, ampliamente distribuido en el ambiente y tóxico para los seres vivos, siendo el arsenito (As III) y arseniato (As V) las formas inorgánicas más abundantes. Los microorganismos son los principales responsables de la biotransformación y movilización del arsénico en el ambiente. Los genes implicados en la transformación y detoxificación de arsénico se han identificado principalmente en microorganismos cultivados. Sin embargo, nuevos genes y mecanismos de resistencia permanecen desconocidos en la fracción no cultivable de los microorganismos ambientales.

Nuestro principal objetivo fue explorar mediante metagenómica funcional la comunidad microbiana de un ambiente extremo ácido (río Tinto, España) para identificar nuevos genes de resistencia a arsénico. El ADN metagenómico se extrajo desde muestras de agua del río ($\text{pH} \leq 3$) y se construyeron bibliotecas empleando el vector pBluescript SKII⁺, *E. coli* como huésped y un tamaño medio de fragmentos de ADN (inserto) de ~1 a 8 kb. Se seleccionaron 116 clones al azar, que mostraron el fenotipo de resistencia a As en placas de medio mínimo con As (V). El fenotipo fue confirmado también por el método de concentración mínima inhibitoria. El tamaño promedio de los insertos y sus perfiles de restricción se determinaron mediante RFLP utilizando endonucleasas (EcoRI y XbaI). Un total de 24 clones fueron seleccionados para un exhaustivo análisis bioinformático de la secuencia de cada inserto que confería el fenotipo de resistencia a As.

El análisis de dichas secuencias reveló la presencia de numerosos ORFs. Algunos ORFs mostraron similitud con otros genes anteriormente implicados en resistencia a metales pesados en bacterias. Sin embargo, otros ORFs no fueron similares a secuencias depositadas en las bases de datos y, por tanto revelaron posibles nuevos mecanismos de resistencia a arsénico no identificados a la fecha. Adicionalmente, para confirmar la funcionalidad de los nuevos ORFs encontrados se emplearon otras técnicas como sub-clonaje, cuantificación intracelular de metales (ICP-masas) y microscopia electrónica (TEM).

Guazzaroni, M. E., Morgante, V., Mirete, S. and González-Pastor, J. E. 2013. Novel acid resistance genes from the metagenome of an extreme acidic environment. *Environ. Microbiol.* 15: 1088-102.

O10. Regulación de la expresión de genes implicados en la asimilación de nitrógeno en haloarqueas

Lara Mellini, Carmen Pire, Jonathan Regalado, Julia Esclapez y María José Bonete.

División de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante.

E-mail: lara.mellini@gmail.com

El nitrógeno constituye uno de los elementos básicos de los seres vivos. Su ciclo biogeoquímico permite las interconversiones de los compuestos de nitrógeno especialmente gracias a diferentes microorganismos.

Aunque el ciclo del nitrógeno ha sido estudiado ampliamente en *Bacteria*, no hay muchos datos disponibles en *Archaea*.

Haloferax mediterranei es un haloarchaea capaz de crecer en medio mínimo utilizando el nitrato y/o el nitrito como única fuente de nitrógeno.

La asimilación de nitrógeno genera amonio que seguidamente será incorporado en el material celular, mediante la vía GS/GOGAT (ciclo glutamina sintetasa-glutamato sintasa) o gracias a la GDH (glutamato deshidrogenasa). La actividad de una vía respecto a la otra depende de la concentración de amonio, de manera que la GDH opera cuando hay abundancia de amonio, mientras el ciclo GS/GOGAT es operativo cuando su disponibilidad es limitada.

Este proyecto está enmarcado dentro del estudio general que realiza nuestro grupo sobre el metabolismo del nitrógeno en haloarqueas y tiene como finalidad el estudio de los niveles de expresión de enzimas clave en la asimilación del nitrógeno y el estudio del control que se ejerce sobre sus promotores.

Para realizar el análisis del promotor a nivel transcripcional, la región promotora de la GOGAT se ha fusionado con el gen reportero de la β -galactosidasa de *Haloferax lucentensis* (bgaH) y se ha clonado en el vector pVA, llevando a cabo la transformación del vector en *Haloferax mediterranei*.

La caracterización del promotor se ha efectuado mediante medidas de la actividad de la β -galactosidasa en medios de cultivo con diferentes fuentes y concentraciones de nitrógeno, observándose una mayor actividad del enzima en los medios que llevan un limitado aporte de amonio y principalmente en los estadios iniciales de la fase exponencial.

La generación de mutantes en las regiones que regulan la actividad de los promotores (secuencias palindrómicas, secuencias BRE o cajas TATA) darán información sobre la actividad de los promotores.

Mediante ensayos de retardo en gel se están estudiando las posibles interacciones entre los promotores de GOGAT y de GDH con proteínas reguladoras cuya expresión en medios con nitrato o en ausencia de nitrógeno es diferencial respecto a la expresión en amonio.

O11. Estudios sobre la estructura oligomérica de la Glutamina sintetasa de *Haloferax mediterranei* y su interacción con la proteína reguladora PII.

Anna Vegara, Mónica Camacho, Vanesa Bautista, María José Bonete.

División de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Agroquímica y Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante.

E-mail: annavega86@yahoo.com

Haloferax mediterranei es un microorganismo halófilo extremo, perteneciente al Dominio *Archaea*, que fue aislado de las salinas de Santa Pola (Alicante, España) en 1983. Este heterótrofo es capaz de crecer con nitrato o amonio como fuentes de nitrógeno. El NO_3^- lo utiliza reduciéndolo a NH_4^+ , el cual es incorporado a esqueletos carbonados vía glutamato deshidrogenasa en condiciones de exceso de nitrógeno o glutamina sintetasa- glutamato sintasa (GS-GOGAT) bajo condiciones de hambre de nitrógeno. La GS cataliza la síntesis de glutamina dependiente de ATP a partir de glutamato y amonio en presencia de iones metálicos divalentes (actividad biosintética GS). También cataliza la producción de γ -glutamilhidroxamato y amonio libre a partir de hidroxilamina y glutamina en presencia de un nucleótido, arseniato y un ión metálico (actividad transferasa GS).

En el borrador del genoma de *H. mediterranei* (Bonete et al., no publicado) se han identificado tres genes (*glnA*, *glnA-2* y *glnA-3*) con homología con glutamina sintetasa. Se han sobreexpresado heterológamente en *E. coli* (pET3a) los tres genes. Las proteínas se han obtenido como cuerpos de inclusión y se han purificado mediante un único paso cromatográfico utilizando una cromatografía de DEAE-celulosa.

Se han realizado estudios para determinar la estructura oligomérica de la GS (*glnA*) con la utilización de reactivos bifuncionales, como el diimidoéster dimetilsuberimidato y el posterior análisis electroforético de la proteína entrecruzada mediante SDS-PAGE.

Por otro lado, también se han realizado estudios de la interacción entre la PII, una proteína reguladora clave en el metabolismo del nitrógeno, y la GS mediante la técnica de calorimetría isoterma de titulación para confirmar la unión entre ambas moléculas. También se han realizado ensayos con esta misma técnica para comprobar y confirmar la interacción entre la PII y sus ligandos ATP y 2-oxoglutarato.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación BIO2008-00082 de MEC (España).

O12. Análisis transcriptómico de las cepas M8 y M31 de la bacteria halófila extrema *Salinibacter ruber*.

Pedro González-Torres¹, Leszek Pryszcz², Fernando Santos¹, Cristina López¹, Toni Gabaldón² y Josefa Antón¹.

¹*Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología. Universidad de Alicante. Apartado 99. 03080 Alicante. España.*

²*Bioinformatics and Genomics Programme. Center for Genomic Regulation (CRG). Dr Aiguader. 88. Barcelona 08003. España.*

E-mail: pedro.gonzalez@ua.es

Los cristalizadores de las salinas solares albergan un bajo número de especies que, sin embargo, presentan una elevada microdiversidad. Entre la microbiota predominante encontramos a *Salinibacter ruber*, bacteria halófila extrema que llega a representar hasta el 30% de la población procariótica. Estudios de biodiversidad muestran fluctuaciones en la abundancia de especies y cepas dentro de cada una de ellas a lo largo del tiempo. Esto sugiere que cepas genéticamente similares podrían presentar comportamientos diversos en respuesta a cambios ambientales. La interacción entre las mismas podría jugar un papel clave en el mantenimiento de la microdiversidad existente dentro de este equilibrio dinámico, estableciendo un posible escenario de especiación simpátrica.

Actualmente disponemos de los genomas completos anotados de dos cepas coaisladas de *S. ruber*, M8 y M31 DSM13588, los cuales se compararon permitiendo localizar las principales diferencias a nivel genómico. Este hecho permite plantear un análisis transcripcional completo en *S. ruber* mediante técnicas de secuenciación de última generación.

En este estudio empleamos RNAseq (la secuenciación de cDNA total mediante técnicas de las denominadas Next Generation Sequencing) para analizar el transcriptoma de ambas por separado y en cultivo mixto con el objetivo de discernir que efecto tienen estas diferencias genómicas a nivel transcripcional y, por comparación de ambas condiciones, si la presencia de una cepa afecta a los patrones transcripcionales y al crecimiento de la otra. Para ello se crecieron triplicados de cultivos puros y mixtos de ambas cepas, monitorizando el crecimiento (qPCR, DAPI, DO₆₀₀) y la composición iónica del medio (ICP-MS). Se escogió un punto en mitad de la fase exponencial para la secuenciación del transcriptoma (mediante Illumina Genome Analyzer).

Alrededor del 98% de los genes se expresaron en ambas cepas. Los perfiles de expresión mostraron elevados niveles de transcripción en la región conservada (CR) y en la zona hipervariable II (HRV-II). Esta última resulta especialmente interesante al contener gran cantidad de genes específicos de cepa como transposasas, sulfatasas, glicosilasas así como muchos genes de adquisición reciente. Las principales diferencias entre cepas en cultivo puro se detectaron a nivel de transportadores de membrana y sistemas de transducción de dos componentes. Por otra parte, estos perfiles variaron sensiblemente en cultivo mixto, lo que indica que la presencia de otra cepa cercana podría estar induciendo cambios a nivel transcripcional. De nuevo, estos cambios se dieron principalmente a nivel de sistemas de dos componentes y transportadores. En el caso de la cepa M31, se apreció además un incremento notable de expresión de proteínas ribosómicas, factores de elongación, biosíntesis de diversos aminoácidos y maquinaria de replicación en consonancia con el incremento en la tasa de crecimiento en estas condiciones.

En conclusión, los resultados obtenidos muestran como diferencias sutiles a nivel genómico pueden determinar el tipo de interacción entre cepas cercanas así como los perfiles de abundancia de las mismas dentro de una comunidad atendiendo a las condiciones ambientales.

O13. Virus de la bacteria halófila extrema *Salinibacter ruber*.

Judith Villamor, Fernando Santos, Manuel Martínez y Josefa Antón.

*Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología. Universidad de Alicante.
Apartado 99. 03080. Alicante. España.*

E-mail: juditvillamor@ua.es

Los virus ambientales son la mayor reserva de diversidad genética del planeta y es en los ambientes hipersalinos donde se dan las mayores densidades de virus en sistemas planctónicos conocidos hasta la fecha, alcanzando concentraciones de 10^9 VLP/ml. El estudio de los virus de estos ambientes y de cómo actúan modificando las comunidades microbianas es de especial interés, máxime cuando en muchos casos a partir de 20-25% de salinidad no se detecta bacterivoría y por tanto el control de las poblaciones queda principalmente a cargo de los virus.

El estudio de la diversidad vírica de una muestra requiere la unión de diferentes aproximaciones como el estudio morfológico, la determinación de los tamaños de los genomas predominantes y la secuenciación del metaviroma de la misma. Así mismo es necesario el aislamiento de virus que infecten a microorganismos ecológicamente relevantes para determinar funciones concretas de los genomas y su relación con su hospedador.

Salinibacter ruber en ambientes salinos puede constituir hasta un 30% de la comunidad procariótica. En el presente estudio se han aislado virus de diferente procedencia para 3 cepas de *S. ruber*. 8 virus diferentes se han caracterizado y su genoma se ha secuenciado.

La morfología cabeza-cola y el tamaño (de 35 a 53 Kb) de los genomas de los aislados son comunes en los ambientes hipersalinos. La frecuencia de dinucleótidos de los virus se correlaciona con la de su hospedador y la de secuencias víricas ambientales asignadas teóricamente a *S. ruber*. La comparación de los genomas víricos entre sí y con metaviromas ambientales muestra semejanzas y secuencias conservadas que indican funciones relevantes para los virus de halófilos.

O14. Caracterización de un nuevo sistema de conjugación en *Thermus thermophilus*

Alba Blesa, Carolina E. César y José Berenguer.

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. España.

E-mail: ablesa@cbm.uam.es

La transferencia horizontal de genes (LGT) constituye un elemento central en la evolución de los procariontes. Transducción, transformación y conjugación son las tres vías clásicas descritas para la LGT entre las bacterias.

En el género *Thermus*, que posee un sistema de membrana doble tan complejo como el de *Proteobacteria* (Cava *et al.* 2009), ha sido descrita la existencia de un sistema de transformación de alta eficiencia basado en la expresión constitutiva de un aparato de competencia natural peculiar, pues implica entre otros a homólogos de proteínas comúnmente asociadas a sistemas de conjugación (Averhoff 2009). Un fenómeno menos estudiado de LGT en este género es el de conjugación, también muy eficiente y capaz de transferir grandes segmentos de DNA. Sin embargo, en este proceso no parecen estar implicados homólogos de sistemas de conjugación conocidos (César *et al.* 2011). En esta comunicación se presenta una caracterización preliminar de la conjugación en *Thermus thermophilus*.

Empleando técnicas de genética clásica combinadas con el empleo de mutantes de inserción en genes específicos, hemos podido comprobar: i) que este tipo de transferencia implica el contacto íntimo entre células vivas, ii) que el mecanismo de transferencia es reversible, carece de sistema de exclusión de superficie, y es independiente de *recA*, iii) que la transferencia de genes situados en el megaplásmido pTT27 es más frecuente que la de genes asociados al cromosoma, y iv) que el aparato de competencia natural está implicado en la entrada del DNA en la célula receptora durante la conjugación.

Averhoff, B. (2009). Shuffling genes around in hot environments: the unique DNA transporter of *Thermus thermophilus*. ***FEMS Microbiology Reviews***. 33: 611-626.

Cava, F., Hidalgo, A. and Berenguer, J. (2009). *Thermus thermophilus* as biological model. ***Extremophiles***. 13: 213-231.

César, C. E., Alvarez, L., Bricio, C., van Heerden, E., Littauer, D. and Berenguer, J. (2011). Unconventional lateral gene transfer in extreme thermophilic bacteria. ***Int Microbiol***. 14: 187-199.

SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES III

O15. Diversidad microbiana de dos drenajes ácidos de roca en la Antártida.

Elena González-Toril, Bernhard Dold, Manuel J. Gómez, Alejandro Palomo, Ángeles Aguilera, Enrique López-Pamo y Ricardo Amils.

Centro de Astrobiología (CSIC/INTA). Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial. Ctra de Torrejón a Ajalvir. km 4. Torrejón de Ardoz. Madrid. España.

E-mail: gonzalezte@cab.inta-csic.es

Dos son las vías por las que se originan ambientes ácidos en la biosfera: como consecuencia de actividad volcánica y geotermal o por la oxidación de sulfuros metálicos (mayoritariamente pirita). Este último caso, se da cuando los cuerpos de sulfuros mineralizados son expuestos al agua, al oxígeno atmosférico y a la actividad microbiana. Este hecho puede darse por causas naturales o antropogénicas (aguas ácidas de minas). En la mayoría de los casos, las aguas ácidas que se originan por oxidación natural de sulfuros metálicos, se manifiestan como drenajes de tamaño variable y se denominan drenajes ácidos de roca (ARD).

En las Islas Shetland del Sur, en expediciones realizadas entre los años 2009 y 2011, fueron identificadas diversas zonas ricas en sulfuros metálicos. Como consecuencia del aumento generalizado de las temperaturas y de la retirada de los hielo, en dos de estas zonas, se ha detectado la alteración de los sulfuros y la consecuente presencia de drenajes ácidos de rocas. En ambos lugares, situados en la isla Rey Jorge, se encontraron diferentes drenajes ácidos (pH entre 3,2 y 4,5) con altas concentraciones de hierro (1,78 mM).

En este trabajo, se presenta el análisis del proceso biogeoquímico que conduce a la generación de estos drenajes ácidos naturales. Se identificaron aportes ácidos al mar desde la costa, que transcurren tanto superficialmente como de forma subterránea. Dichos drenajes, aportan al océano Antártico, tanto hierro oxidado (llega disuelto en los drenajes superficiales) como hierro reducido (mayoritariamente observado en los aportes subterráneos). A menudo, los aportes de hierro al océano, se evidenciaban por la presencia de schwertmannita sobre en el hielo que flota en el mar. La diversidad microbiana asociada a estos drenajes ácidos fue analizada mediante clonaje y secuenciación de genes de RNA ribosómico 16S y pirosecuenciación de los mismos genes. Se detectaron microorganismos oxidadores de hierro y/o azufre característicos de aguas ácidas de minas situadas en ambientes fríos, como *Acidithiobacillus ferrivorans* o "*Thiobacillus plumbophilus*", pero también otros oxidadores no detectados anteriormente en zonas tan frías, como *Leptospirillum* spp. Estos microorganismos son los responsables de catalizar las reacciones que llevan a la bajada de pH.

Ehrlich, H. L. and Newman, D. K. (2009). Geomicrobiology. Fifth ed., Taylor and Francis Group. Boca Raton, Florida.

O16. Light stress in the extreme acidophilic protist *Euglena mutabilis* as revealed by *in situ* metatranscriptomics.

Fernando Puente¹, Manuel Gómez-Rodríguez¹, Ricardo Amils^{1,2}, Virginia Souza-Egipsy³, María Altamirano⁴ y Ángeles Aguilera¹.

¹Centro de Astrobiología (CSIC-INTA). Ctra. de Torrejón a Ajalvir. km 4 Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid. España.

²Centro de Biología Molecular (UAM-CSIC). Canto Blanco. 28049 Madrid. España.

³Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC). Serrano s/n. 28049 Madrid. España.

⁴Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n. 29071 Málaga. España.

E-mail: aguileraba@cab.inta-csic.es

Within extreme acidophilic protists, *Euglena mutabilis* is one of the most widespread in acidic environments all around the world. Owing to its photosynthetic metabolism, this protist is supposed to have an important role in primary production in these environments, which could influence the composition and the metabolism of the whole microbial community. Photosynthesis is known to be particularly sensitive to stressful environmental conditions, such as salinity, pH or presence of heavy metals. There are relatively few reports regarding photosynthesis in acidic environments, and most have focused on primary productivity measurements in acidic lakes. The photosynthetic performance of natural biofilms of *E. mutabilis* was analyzed *in situ* by two methodologies, Pulse-amplitude Modulation fluorometry (PAM) and massive pirosequencing of the transcriptome during a daily cycle. Results showed a clear photoinhibition of the Photosystem II during the central hours of the day, and a rapid recovery of the activity during the evening.

O17. Relación entre la comunidad microbiana y la biogeoquímica de humedales salinos de la cuenca Mediterránea.

Isabel Reche¹, Gema L. Batanero¹, Ignacio P. Mazuecos¹, Curtis Suttle², Marion Vittecoq³, Juan J. Amat⁴ y Andy J. Green⁴

¹*Departamento de Ecología e Instituto Universitario del Agua. Universidad de Granada. 18071 Granada. España.*

²*Department of Earth and Ocean Sciences. University of British Columbia. Vancouver. BC. V6T 1Z4. Canada.*

³*Tour du Valat. Centre for the Conservation of Mediterranean Wetlands. Le Sambuc - 13200 Arles. France.*

⁴*Departamento de Ecología de Humedales. Estación Biológica de Doñana (CSIC). 41092 Sevilla. España.*

E-mail: ireche@ugr.es

Los humedales salinos (salinidades $>1\text{g l}^{-1}$) representan aproximadamente un quinto del total de la superficie de las aguas continentales en la Tierra y un 75% de éstos se encuentran en cuencas de captación endorreicas. Estas cuencas de drenaje cerradas retienen el agua y acumulan macronutrientes, iones como sulfatos, Ca^{2+} , Mg^{2+} , carbono orgánico e inorgánico y también microorganismos. En estos sistemas, se han encontrado abundancias extraordinarias de cianobacterias, procariontes heterotróficos y virus, sugiriéndose que actúan como sumideros netos de carbono debido a sus elevadas productividades. Sin embargo, a pesar de la prevalencia de este tipo de humedales a escala global, aún existen pocos estudios que relacionen sus peculiaridades biogeoquímicas con su comunidad predominantemente microbiana.

En este estudio hemos seleccionado 103 cuerpos de agua que se localizan en la cuenca Mediterránea desde la Camarga en Francia hasta las Marismas del Odiel en Huelva. En ellos, hemos explorado las relaciones entre las condiciones puramente biogeoquímicas (isótopos estables del agua ($\delta^{18}\text{O}$, D), contenido en sales, nitrógeno, fósforo, carbono orgánico (incluyendo $\delta^{13}\text{C}$), la concentración de exopolímeros) y la comunidad microbiana (cianobacterias, bacterias y arqueas heterotróficas y virus). Los valores de salinidad variaron entre 3,3 y 264 g l^{-1} . La producción bacteriana (medida mediante incorporación de H^3 -leucina) osciló entre valores no detectable y $3007\text{ pmol l}^{-1}\text{h}^{-1}$ con una disminución exponencial al aumentar la salinidad. La producción de arqueas (medida mediante la incorporación de H^3 -leucina y adición de eritromicina) osciló entre 61 y $2290\text{ pmol l}^{-1}\text{h}^{-1}$ y mostró justo el patrón inverso, un aumento exponencial acoplado al incremento de salinidad. La abundancia de virus osciló entre $3,6 \times 10^7$ y $3,1 \times 10^9$ y aumentó exponencialmente con la salinidad. En una exploración preliminar de los datos se apreciaron relaciones negativas y significativas entre la producción de bacterias y la abundancia de virus y la concentración de exopolímeros. Sorprendentemente, se observó una relación positiva y muy significativa ($r=0,76$, $p<0.001^{***}$) entre la abundancia de virus y la concentración de exopolímeros en el medio. Estos resultados sugieren una conexión estrecha entre la mortalidad bacteriana bajo un aumento de estrés salino, la producción de exopolímeros y los virus que esperamos podamos dilucidar durante el transcurso del proyecto que tenemos en marcha.

O18. Análisis de la diversidad de arqueas en As Burgas (Ourense) mediante DGGE y una estrategia eficiente de screening de bibliotecas de secuencias ADNr 16S.

Roberto González, Pablo Fuciños, Clara Fuciños, Natalia Estévez, Martín Míguez, Isabel R. Amado y M. Luisa Rúa.

Laboratorio de Bioquímica. Departamento de Química Analítica y Alimentaria. Facultad de Ciencias de Ourense (Universidad de Vigo). As Lagoas s/n. 32004. Ourense. España.

E-mail: robergg_83@hotmail.com

Ourense es una región rica en fuentes geotermales con una valiosa diversidad de microorganismos termófilos potencialmente productores de enzimas de interés biotecnológico.

En este trabajo se ha estudiado la diversidad de arqueas existente en As Burgas (pH 7.5, 68°C). A partir de muestras de agua, tomadas en octubre de 2012, se aisló el ADN metagenómico y se amplificaron regiones del ADNr 16S con primers de arquea específicos para DGGE (344F-GC y Univ522R) (Akarsubasi et al., 2005). Una vez obtenido el perfil de la comunidad de arqueas mediante DGGE, se procedió a la identificación de las bandas visualizadas siguiendo una estrategia propuesta por González et al. (2003). Así, a partir del metagenoma, se amplificó una región mayor del ADNr 16S con los primers A20F y Univ1492R (Orphan et al., 2001). Los productos de PCR (~1500 pb) se clonaron y los transformantes obtenidos fueron divididos en 4 sets de 12 clones cada uno. El ADN plasmídico de cada set se amplificó con los primers 344F-GC y Univ522R y se analizó mediante DGGE. Por comparación con el perfil original, se seleccionaron los sets con mayor diversidad. En los sets seleccionados, se amplificaron por separado las regiones de ADNr 16S de cada clon y se compararon mediante DGGE con los perfiles de sus respectivos sets y el perfil obtenido inicialmente.

Este cribado permitió identificar 9 clones distintos, minimizando el coste y tiempo de análisis de la biblioteca de ADNr 16S. Además, las secuencias obtenidas, de longitud superior a las de bandas recortadas en geles de DGGE, ofrecen una información filogenética mayor.

Akarsubasi, A. T., Ince, O., Kirdar, B. et al. (2005). Effect of wastewater composition on archaeal population diversity. *Water research*. 39: 1576–1584.

González, J. M., Ortiz-Martínez, A., González-delValle, M. A. et al. (2003). An efficient strategy for screening large cloned libraries of amplified 16S rDNA sequences from complex environmental communities. *J. Microbiol. Methods*. 55: 459–463.

Orphan, V. J., Hinrichs, K. U., Ussler, W. et al. (2001). Comparative analysis of methane-oxidizing *Archaea* and sulfate-reducing Bacteria in anoxic marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 1922-1934.

O19. Diversidad de microorganismos aerobios y cultivables en ambientes hipersalinos mediante el uso de MALDI-TOF/MS y filogenia basada en rRNA 16S.

Bartomeu A. Viver, Ana Cifuentes y Ramón Rosselló-Mora.

Grupo de Microbiología Marina. Institut Mediterrani d'Estudis Avançats (IMEDEA). Esporles. Islas Baleares.

E-mail: tviver@imedea.uib-csic.es

El trabajo que se presenta consistió en el estudio y comparación de la diversidad de microorganismos halófilos cultivables de las salinas solares de la Trinidad (Delta del Ebro) y de Boyeruca (Chile) obtenidos a partir de salmueras y sedimentos.

En total se obtuvieron 707 aislados de las salinas de la Trinidad y 731 de Boyeruca a partir de siembra directa sobre medio SW al 20% y 30% p/v de sales. Todos los aislados se analizaron mediante la técnica de MALDI-TOF/MS (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight MassSpectrometry*) utilizando biomasa celular intacta. Del total de muestras analizadas se seleccionaron 572 perfiles válidos procedentes de la colección de microorganismos de las salinas de la Trinidad y 677 de la de Boyeruca.

Se compararon los perfiles espectrométricos de los aislados con el software BioTyper (*Bruker Daltonics*). Estos perfiles se emplearon para construir dendrogramas basados en porcentajes de similitud. De los grupos generados en el dendrograma se eligieron varios representantes para llevar a cabo su identificación por secuenciación del gen codificante del rRNA 16S.

Mediante la reconstrucción filogenética de las secuencias se comprobó que la mayoría de aislados del dominio *Bacteria* recuperados de las salinas de la Trinidad se correspondían con *Salinibacter ruber*. Por otra parte, los aislados del dominio *Archaea* se correspondieron con *Halorubrum*, *Haloarcula*, *Halobellus*, *Halovibrio*, *Natronomonas*, *Halomicrobium* y *Halorhabdus*. De las muestras de Boyeruca no se ha conseguido aislar ningún miembro del dominio *Bacteria*. Todos los aislados de estas muestras se afiliaron a la familia *Halobacteriaceae* (géneros *Halosarcina*, *Haloarcula*, *Halorubrum*, *Haloterrigena*, *Halolamina*, *Haloferax*, *Halobacterium* y *Natronoarchaeum*). Tanto en las salinas de la Trinidad como Boyeruca, los géneros más recuperados para el dominio *Archaea* fueron *Halorubrum* y *Haloarcula*. Además, se observó que en ambas localizaciones la diversidad de *Archaea* en sedimentos es mayor que en salmueras.

O20. Caracterización filogenética de la comunidad microbiana de ambientes hipersalinos mediante análisis de clonación y secuenciación del 16S rDNA y pirosecuenciación 454.

Ana Cifuentes y Ramón Rosselló-Mora.

Grupo de Microbiología Marina. Institut Mediterrani d'Estudis Avançats (IMEDEA). Esporles. Islas Baleares.

E-mail: ana.cifuentes@imedea.uib-csic.es

En este trabajo se ha estudiado la diversidad procariótica de las salinas de Boyeruca (Lo Valdivia, Chile) mediante el análisis de secuencias del gen del ARNr 16S. Para ello, se tomaron muestras de salmueras y de sedimentos en dos puntos diferentes. Se extrajeron los ADNs y se emplearon tanto para la generación de genotecas y posterior secuenciación Sanger como para pirosecuenciación 454 *long read* GS FLX Titanium (Roche). Esta nueva química logra que la media de las lecturas sea de aproximadamente 700 bp.

Para cada una de las dos salinas estudiadas se generaron genotecas y pirosecuencias para los Dominios *Archaea* y *Bacteria*, tanto para sedimentos como salmueras. En total, tras eliminar las secuencias que no superaban los controles de calidad, se obtuvieron 278 secuencias de clones y alrededor de 800.000 pirosecuencias.

Como cabría esperar, la diversidad encontrada con pirosecuenciación es mucho más alta que la que se puede observar con secuenciación tradicional. La pirosecuenciación nos ha permitido detectar numerosos grupos minoritarios que de otra manera permanecerían indetectables. En sedimentos se han recuperado secuencias de 16 filos diferentes del dominio *Bacteria*, aunque cerca del 50% de las secuencias no han podido ser todavía clasificadas, mientras que por secuenciación tradicional tan sólo obtenemos secuencias de 5 filos distintos. Para las muestras de salmuera, con la pirosecuenciación obtenemos secuencias de 12 filos diferentes (por 5 de la secuenciación Sanger), habiendo menos de un 8% de secuencias no clasificables.

La diversidad encontrada en *Archaea* es mucho menor que para *Bacteria*, siendo en sedimentos más alta que en salmueras. La mayor parte de las secuencias se clasifican como Halobacterias, pero también se detectan otros grupos como *Methanomicrobia*, *Archeoglobi* y *Thermoprotei*, aunque un gran número de secuencias no han podido ser clasificadas correctamente. En salmueras, prácticamente todas las secuencias pertenecen a la familia *Halobacteriaceae*, excepto un pequeño número que estamos en proceso de clasificar.

O21. Estudio de la diversidad microbiana en zonas recientemente deglaciadas de Tierra del Fuego, Chile

Miguel Ángel Fernández-Martínez, Sergio Pérez-Ortega y Asunción de los Ríos.

Grupo de Ecología Microbiana y Geomicrobiología, Departamento de Biología Ambiental. Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC.

E-mail: ma.fernandez@mncn.csic.es

En las primeras fases de colonización biológica tras el retroceso glacial son de especial importancia los microorganismos del suelo, por su capacidad de introducir nutrientes esenciales (C y N entre ellos) en el medio. Estos microorganismos están adaptados a vivir en medios muy oligotróficos y con bajas temperaturas. En este estudio se analiza la diversidad de las comunidades pioneras de bacterias y hongos de zonas próximas al frente de dos glaciares del sur de Chile. Este análisis se ha realizado mediante secuenciación masiva *454* de amplicones de la región *16S* de las bacterias y de la región ITS de los hongos.

En los primeros estadios de colonización del suelo es posible encontrar una gran diversidad de microorganismos. Dentro de las bacterias, las cianobacterias son el componente más representado (43 y 21%), mientras que en los hongos lo son los órdenes *Rhizophydiales* y *Atheliales* (24 y 34%). La abundante presencia de este tipo de bacterias podría relacionarse con la ventaja adaptativa que le proporciona su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en un medio tan oligotrófico. Por su parte, los grupos de hongos encontrados se caracterizan por ser capaces de desarrollarse en ambientes con concentraciones de nitrógeno extremadamente bajas, lo que concuerda con el medio que colonizan. Estos resultados apuntan a que la colonización primaria es llevada a cabo por microorganismos especializados. Lo mismo sucede en la colonización del sustrato lítico de estas áreas. El hecho de que en áreas más alejadas del frente glaciar, donde el suelo es más rico, estos grupos van siendo sustituidos por otros más generalistas apoya también esta hipótesis.

O22. Filogeografía de cianobacterias liquenizadas en ambientes extremos costeros en un gradiente latitudinal.

Rüdiger Ortiz-Álvarez, Asunción de los Ríos y Sergio Pérez-Ortega.

Grupo de Ecología Microbiana y Geomicrobiología. Departamento de Biología Ambiental. Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). Serrano 115-bis. Madrid. España.

E-mail: rudigerortiz@gmail.com

Las zonas supra- e intermareal se caracterizan por extremas variaciones diarias en cuanto a la salinidad, temperatura e insolación, así como por una dura competencia interespecífica, lo que en general provoca la colonización de nichos muy concretos. Pese a la cercanía de ambas zonas, las condiciones ambientales que soporta cada una son muy distintas principalmente debido a la influencia de las mareas que cubren la zona intermareal dos veces al día. En regiones templadas y boreales de ambos hemisferios es frecuente la presencia de asociaciones simbióticas liquénicas en estos dos ambientes costeros. En nuestro estudio, hemos analizado los patrones de distribución de las cianobacterias simbiotes de dos cianolíquenes del mismo género: *Lichina confinis* (asociada a la región supralitoral) y *L. pygmaea* (asociada a la región intermareal) a lo largo de un amplio gradiente latitudinal (28°-57° N) que incluye la (Cornisa Cantábrica, Galicia y Portugal; así como Escocia, Gales, Francia, Azores y localidades de las Islas Canarias. El principal objetivo ha sido comprender por un lado el grado de selectividad de ambas especies de líquenes hacia sus fotobiontes teniendo en cuenta su diferente nicho ecológico y por otro lado estudiar el efecto que ejerce la latitud en la distribución de estas cianobacterias.

Se han analizado las diferencias en la región del operón de la ficocianina de las cianobacterias simbiotes muestreadas. A partir del alineamiento de estas secuencias, se colapsó para obtener haplotipos únicos. Éstos fueron analizados mediante el algoritmo GMYC para obtener unidades taxonómicas operativas (OTUs). La filogenia de estos haplotipos únicos fue inferida mediante máxima verosimilitud (RAxML) e inferencia bayesiana (MrBayes). Se calcularon medidas de diversidad haplotípica (Hd) y nucleotídica (π) para cada OTU mediante el programa DNAsp.

Los resultados muestran que las cianobacterias simbiotes con el género *Lichina* en ambientes costeros pertenecen al género *Rivularia*. Se han detectado un total de 67 haplotipos en 206 muestras. El análisis mediante el algoritmo GMYC resultó en un total de 22 OTUs. Cada OTU está asociada a una sola especie de *Lichina*, con una excepción. A diferencia de lo que era esperable, los OTUs encontrados no se agrupan por nicho ecológico, sino que existe un patrón geográfico preponderante. Estos resultados preliminares nos hacen pensar en que al igual que ocurre en otros organismos del litoral, es posible que se haya producido una especiación ecológica replicada en *Rivularia*.

SESIÓN DE COMUNICACIONES ORALES IV

O23. Nuevas estrategias para el cultivo y caracterización de la bacterias que pueblan Rambla Salada (Murcia) y no han podido ser aun cultivadas por métodos clásicos.

M^a Dolores Ramos¹, Emilia Quesada^{1,2}, Victoria Béjar^{1,2} y Fernando Martínez-Checa^{1,2}.

¹*Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada. España.*

²*Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Granada. España.*

Email: ramosloles@gmail.com

En la actualidad el conocimiento sobre la diversidad microbiana es muy limitado debido a la imposibilidad de aislar en el laboratorio a gran parte de los microorganismos. El propósito de este trabajo es poner a punto nuevos métodos para el aislamiento de microorganismos que se han detectado por métodos moleculares pero que hasta el momento no se han podido aislar.

En este sentido, se han llevado a cabo distintos muestreos en un ambiente hipersalino "Rambla Salada" en Murcia, ambiente que ha sido profundamente estudiado por nuestro grupo de investigación utilizando tanto métodos clásicos como moleculares.

Para el aislamiento de estos microorganismos, nunca aislados hasta el momento, estamos empleando medios de cultivo mínimos, con fuentes de carbono inusuales y tratando de adaptarlos a las condiciones naturales de los microorganismos a estudiar. Los resultados que aquí presentamos se basan en tres medios de cultivo distintos, modificando en cada uno de ellos tanto pH, salinidad, temperatura como tiempo de incubación.

Con periodos de incubación prolongados, en algunas ocasiones de hasta 90 días, se han conseguido aislar una amplia gama de microorganismos; en total una colección de alrededor de 900 colonias. Para una primera aproximación taxonómica se ha amplificado el gen del ARNr 16S de aquellas colonias que presentaron características interesantes como pigmentación, morfología o tiempo de aparición prolongados. Las secuencias se compararon con las depositadas en las bases de datos.

Las secuencias del gen del gen ARNs 16S de algunas de las colonias analizadas presentaron homología con bacterias que ya se habían detectado previamente por métodos clásicos. Lo más interesantes de este estudio hasta la fecha es que las secuencias del gen ribosomal 16S de algunas colonias no mostró homología alguna con las secuencias depositadas en las bases de datos, por lo que pensamos podrían tratarse de nuevas bacterias desconocidas hasta el momento.

En cuanto a posibles aplicaciones biotecnológicas, estamos realizando una colección de microorganismos productores de exopolisacáridos. Igualmente, estamos analizando todas las colonias obtenidos con el objeto de encontrar microorganismos productores de nuevas sustancias antimicrobianas, hecho que se está llevando a cabo en la Fundación MEDINA.

O24. Puesta a punto de nuevos métodos para el cultivo de los procariontas que pueblan Rambla Salada (Murcia).

David Castro¹, Emilia Quesada^{1,2}, Victoria Béjar^{1,2}, Inmaculada Llamas^{1,2} y Fernando Martínez-Checa^{1,2}.

¹*Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada. España.*

²*Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Granada. España.*

Email: castrod@correo.ugr.es

Durante más de un siglo, los microbiólogos han tratado de determinar la riqueza de especies bacterianas en el suelo, pero la extrema complejidad y la desconocida estructura de las comunidades microbianas han ocultado la respuesta. La estimación de la diversidad es un desafío constante en la biología. Diversos estudios han demostrado que existen al menos 50 phyla bacterianos, la mitad de ellos compuestos en su totalidad de bacterias no cultivadas, adicionalmente tres phyla con menos del 10% de sus miembros cultivados y solo seis phyla que contienen más del 90% de sus miembros cultivados. Esta situación ha llevado al desarrollo y mejora de los métodos de cultivo que permitan aislar microorganismos hasta ahora no cultivados.

En este sentido, las metodologías de cultivo bacteriano de "alto rendimiento" han incrementado la recuperación de bacterias de crecimiento lento y no cultivadas anteriormente. Entre estas metodologías alternativas, la técnica de "dilución a extinción" es una de las más robustas y explota el hecho de que el número de especies cultivables típicamente aumenta a medida que disminuye la densidad del inóculo. Utilizando este enfoque, junto a un dispositivo de aislamiento en paralelo compuesto por varios cientos de cámaras de difusión en miniatura (ichip), se ha demostrado una mayor recuperación microbiana, probablemente debido a la difusión de factores de crecimiento presentes en la naturaleza a las células que están inmovilizadas en el interior de la cámara.

El propósito de nuestro trabajo es estandarizar el método de "dilución a extinción" para micro cultivos en placa de 96 pocillos y el dispositivo "ichip", para el aislamiento de microorganismos que se han detectado en Rambla Salada por métodos moleculares en trabajos previos, pero que hasta el momento no se han podido aislar.

Utilizando medios de cultivo con pocos nutrientes, fuentes de carbono inusuales y modificando en cada uno de ellos tanto pH, salinidad, temperatura y con tiempos de incubación prolongados se han conseguido obtener preliminarmente cultivos puros en el 13% de los inóculos. La secuenciación del gen del ARNr 16S de cada uno de los cultivos nos dará una aproximación taxonómica. Con la puesta a punto de estas metodologías de cultivo esperamos obtener una abundancia numérica de nuevos microorganismos con fines biotecnológicos tales como producción de nuevas sustancias con actividad antimicrobiana y exopolisacáridos de interés.

O25. Alternativa para combatir enfermedades infecciosas en la acuicultura basada en la interrupción de la comunicación celular.

Marta Torres^{1,2}, Susana Prado³, Manuel Romero³, Javier Dubert³, Ali Tahrioui^{1,2}, Emilia Quesada^{1,2} e Inmaculada Llamas^{1,2}.

¹*Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada. España.*

²*Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Granada. España.*

³*Dpto. Microbiología y Parasitología. CIBUS - Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela.*

Email: mtorres@ugr.es

Los agentes responsables de las mortalidades masivas en los criaderos de peces y moluscos son en su mayoría pertenecientes a los géneros *Vibrio*, *Aeromonas*, *Yersinia* y *Edwardsiella*. Recientemente se ha demostrado que la producción de ciertos factores de virulencia tiene lugar cuando se alcanza una elevada densidad celular ya que su síntesis depende de sistemas de comunicación intercelular tipo *quorum sensing* (QS). Los sistemas QS de estas bacterias Gram negativas se basan en la acumulación en el medio extracelular de moléculas señal o autoinductores del tipo *N*-acilhomoserin lactonas (AHLs) que, al alcanzar un valor crítico, controlan la expresión de numerosos genes (González & Keshavan, 2006). Debido a ello, muchos de los organismos competidores han desarrollado diferentes estrategias con el fin de interrumpir los sistemas QS, entre las que destaca la degradación enzimática de AHLs, lo que es conocido como *quorum quenching* (QQ). (Defoirdt et al., 2011).

El grupo de investigación Exopolisacáridos Microbianos BIO-188 (<http://www.ugr.es/~eps/es/index.html>) trabaja en el desarrollo de una alternativa para combatir las enfermedades infecciosas que afectan a los peces y moluscos en acuicultura basada en la búsqueda de bacterias capaces de interferir los sistemas de QS de patógenos marinos. A partir de una colección de más de 500 aislados bacterianos, obtenidos de diferentes criaderos de moluscos situados en Galicia, se han seleccionado 4 cepas con actividad QQ. La degradación de moléculas tipo AHL tanto sintéticas como de origen microbiano se ha determinado en primer lugar mediante un ensayo de difusión en placa utilizando bacterias biosensoras y posteriormente se ha confirmado por cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masas (HPLC-MS). La cepa PP2-459, perteneciente al género *Thalassomonas*, ha sido elegida por tener mayor actividad QQ para ser utilizada en ensayos de cocultivo con la especie patógena *Vibrio anguillarum* en los que se han obtenido resultados positivos.

Defoirdt, T., Sorgeloos, P. and Bossier, P. (2011). Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Curr. Opin. Microbiol.* 14: 251-258.

González, J. E. and Keshavan, N. (2006). Messing with bacterial quorum sensing. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70: 859-875.

O26. Desarrollo de activos cosméticos a partir de los productos de microorganismos extremófilos

Albert Soley.

Lipotec S.A.U. (Lubrizol Group). C/ Isaac Peral 17. Gavà (Barcelona). España.
www.lipotec.com

E-mail: asoley@lipotec.com

Proveer a la industria cosmética con ingredientes de origen natural es uno de los retos existentes para los proveedores de materias primas de esta industria, donde certificamos productos de tipo natural y ecológico, cada vez con un menor número de conservantes sintéticos y con grandes reticencias a los microorganismos modificados genéticamente, están cada vez más en el orden del día.

Lipotec es una empresa con 25 años de historia, centrada básicamente en el desarrollo de activos cosméticos y de sistemas de liberación para encapsular y mantener la actividad de los productos hasta que éstos llegan a la capa de la piel donde se pondrá de manifiesto su actividad. Básicamente durante todos estos años, el trabajo referido al descubrimiento y desarrollo de activos ha pivotado alrededor de moléculas sintéticas, fundamentalmente péptidos, si bien en los últimos años se han empezado proyectos de desarrollo de activos de origen biotecnológico.

La aproximación de Lipotec para el desarrollo de activos biotecnológicos se fundamenta en la colaboración con grupos de investigación, instituciones públicas y empresas privadas que hayan aislado microorganismos de distintos orígenes geográficos y ecológicos, en muchos casos extremófilos. A partir de estas colaboraciones se construye una librería de microorganismos, extractos y/o moléculas producidas por éstos que entra en un proceso de cribado con la finalidad de identificar la potencial actividad cosmética. Una vez identificadas tales actividades, los microorganismos entran en una fase de desarrollo de proceso para asegurar que será escalable en el ámbito industrial, y que durante todo el desarrollo del producto los perfiles toxicológicos y de actividad serán mantenidos. Seguidamente, se completan tales tareas de desarrollo de producto hasta llegar a pruebas in-vivo, a partir de las cuales empieza el lanzamiento y comercialización de los activos.

La empresa dispone de varios productos en el mercado de origen microbiano como son Antarcticine[®], Hyadisine[™] y Hyanify[™] y está trabajando para ampliar el portafolio de esta categoría de productos.

O27. Búsqueda de nuevos antimicrobianos en procariontes que habitan ambientes salinos de Andalucía.

Rocío Luque¹, Inmaculada Llamas², Emilia Quesada², Ignacio González¹, Sara Palomo¹, Rubén Tormo¹, Noureddine Aouad¹, Mercedes de la Cruz¹, Gerald Bills¹ y Olga Genilloud¹.

¹Fundación MEDINA. Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía. Avda. Conocimiento 3. Parque Tecnológico Ciencias de la Salud. 18016 Granada. España.

²Grupo de Investigación BIO-188. Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja s/n. Granada. España.

E-mail: rocio.luque@medinaandalucia.es

La Fundación MEDINA en colaboración con el grupo Exopolisacáridos Microbianos de la UGR (BIO-188) está llevando a cabo un estudio que permita el acceso a bacterias previamente no estudiadas con capacidad de producir metabolitos bioactivos, especialmente nuevos antimicrobianos que supongan una alternativa para combatir las resistencias a los compuestos ya existentes y que respondan a enfermedades infecciosas emergentes.

Para tal fin, se han escogido diferentes hábitats salinos de Andalucía. A partir de 16 muestras de suelo, agua y sedimento sembradas en medios oligotróficos y tras largos periodos de incubación, se aisló una colección de 2500 cepas halófilas y halotolerantes. El ensayo de bioactividad se realizó en condiciones miniaturizadas, con cuatro medios de cultivo diferentes para favorecer la producción de metabolitos secundarios, los cuales se obtuvieron mediante un proceso de extracción con acetona/DMSO. Posteriormente, los extractos fueron enfrentados a un panel de cepas indicadoras Gram positivas, Gram negativas y levaduras mediante un sistema de screening en medio sólido, seleccionándose aquellos extractos que generan un halo de inhibición en la cepa indicadora. De los 10.000 extractos ensayados 241 mostraron halo de inhibición, concretamente 133 frente a *Bacillus*, 88 frente a *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA), 11 frente a *Pseudomonas*, 6 frente a *Acinetobacter* y 3 frente a *Candida*, lo que supone un total de 139 cepas capaces de inhibir el crecimiento de una o más cepas indicadoras y en uno o diferentes medios de cultivo.

Estas cepas han sido posteriormente identificadas mediante la secuenciación parcial del gen del ARNr 16S, lo que nos ha permitido agruparlas en 4 grupos taxonómicos a nivel de phylum: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes* con 42, 45, 38 y 14 aislados respectivamente. Entre ellas además hemos identificado a la cepa *Candidatus Rhizobium massiliae* 90A^T (AF531767) aislada en La Malahá y que muestra actividad frente a *Bacillus*, *Acinetobacter* y MRSA en diferentes medios de cultivo.

O28. Un nuevo reto para el investigador: desarrollar su propia spin-off.

Ana del Moral^{1,2,3}, Borja Torres³, Emilia Quesada^{1,2,3}, Inmaculada Llamas^{1,2,3}, Fernando Martínez- Checa^{1,2} y Victoria Béjar^{1,2}.

¹*Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada. España.*

²*Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Granada. España.*

³*Xtrem Biotech. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Granada.*

E-mail: admoral@ugr.es

El grupo de investigación Exopolisáridos Microbianos de la Junta de Andalucía (BIO 188 <http://www.ugr.es/~eps/es/index.html>) desde hace más de veinte años viene trabajando en las aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos halófilos. Como fruto de esta investigación se han realizado numerosas publicaciones, se han obtenido patentes y se han alcanzado relevantes objetivos científicos. Pero aunque el trabajo de estos años ha sido realmente satisfactorio y ha servido para nuestra formación y la de nuestros alumnos creemos que un nuevo reto para un científico es la creación de una empresa para transferir los numerosos años de estudio al sector productivo, lo que hoy día se conoce como I+D+i.

Como todos sabemos, una spin-off es una empresa formada por miembros de un grupo de investigación que tiene como finalidad la transferencia del conocimiento al sector I+D+i. Gracias a esto ofrece a los investigadores la posibilidad de llevar a la práctica empresarial sus proyectos y resultados de investigación. La creación de una spin-off no solo satisface al investigador, al ver su trabajo al servicio de la sociedad, sino que además es un medio de crear empleo, algo absolutamente necesario en estos momentos.

Por estas razones hemos considerado interesante como objetivo de esta comunicación dar unas directrices básicas, consejos y claves para animar a los investigadores a abordar la creación de su propia spin-off. Para conseguir nuestro propósito hemos utilizando como ejemplo la que nuestro grupo ha creado: Xtrem Biotech (www.xtrembiotech.com).

Xtrem Biotech se desarrolla para ofrecer diferentes productos y servicios para distintos ámbitos industriales. Ofrece análisis microbiológico y control de calidad de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos, servicios de identificación microbiana, así como desarrollo de polímeros extraídos de microorganismos extremófilos, con actividad biosurfactante, floculante, espesante y emulsionante, con potencial utilización en distintos ámbitos industriales del sector alimentario, cosmético, del sector del petróleo y en biorremediación.

SESIÓN DE COMUNICACIONES EN
PANELES I

P1. Cambio de preferencia aparente de coenzima en Deshidrogenasas halofílicas.

Jéssica Domenech, Julia Esclapez y Juan Ferrer.

División de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Agroquímica y Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante.

E-mail: jessica.domenech@ua.es

Uno de los mayores problemas cuando se aplican deshidrogenasas en la industria química para la obtención de productos con alto valor añadido, es la preferencia de coenzima que posee dicha deshidrogenasa, debido fundamentalmente a la diferencia de coste del coenzima usado, siendo prohibitivo el precio del NADPH frente al del NADH. Por este motivo, existen varios estudios dirigidos al cambio de la preferencia de coenzima, tanto en el sentido de NADP⁺ a NAD⁺ como en sentido contrario. Dado que la zona de unión del coenzima está altamente conservada, estos estudios normalmente se han realizado mediante mutagénesis. En la alanina deshidrogenasa del psicrófilo *Shewanella* sp. la simple sustitución de Arg199 por Leu, cambia la especificidad de coenzima de NADP⁺ a NAD⁺ (Ashida et al., 2004). En la glucosa deshidrogenasa de *Haloferax mediterranei* la producción de un doble mutante Gly206 y Arg207 muestra un cambio de especificidad de NADP⁺ a NAD⁺ ya que la enzima deja de ser capaz de utilizar el NADP⁺ (Pire et al., 2009). La D-2-hidroxiácido deshidrogenasa de *Haloferax mediterranei* presenta preferencia por NADP⁺ sobre NAD⁺. La resolución de su estructura a 1,3 Å en presencia de NAD⁺ ha puesto de manifiesto un hecho relevante. En la posición donde debía encontrarse el fosfato del NADP⁺, se ha identificado una molécula de sulfato con la misma orientación relativa que si hubiese sido el fosfato del NADP⁺, y con similar patrón de interacción con Arg166 y Arg165. En base a estas observaciones, se planteó la siguiente hipótesis de trabajo: “la adición del anión sulfato en las medidas de actividad enzimática junto con el NAD⁺ son suficientes para imitar al NADP⁺”, ya que el anión aparentemente establece el mismo patrón de interacciones que el fosfato del NADP⁺ con la enzima, por lo que se podría obtener un cambio de preferencia aparente de coenzima con el simple hecho de añadir dicho anión en la medida de actividad. Esto supondría que en presencia del anión y NADP⁺ como coenzima se produciría una inhibición competitiva. Y en presencia de NAD⁺ una activación no esencial. En esta comunicación se presentan los resultados obtenidos confirmando la hipótesis de trabajo sugerida, tanto para la D-2-hidroxiácido deshidrogenasa como para la glucosa deshidrogenasa de *Haloferax mediterranei*.

Ashida, H., Galkin, A., Kulakova, L., Sawa, Y., Nakajima, N., Esaki, N. 2004. Conversion of cofactor specificities of alanine dehydrogenases by site-directed mutagenesis. **J. Mol. Cat. B: Enzymatic** 30: 173-176.

Pire, C., Esclapez, J., Díaz, S., Pérez-Pomares, F. Ferrer, J. and Bonete, M. J. 2009. Alteration of coenzyme specificity in halophilic NAD(P)⁺ glucose dehydrogenase by site-directed mutagenesis. **J. Mol. Cat. B: Enzymatic**. 59: 261-265.

P2. Caracterización molecular de dos sintasas de ácidos grasos ciclopropánicos implicadas en la osmoadaptación de la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*.

Joaquín J. Nieto¹, Francine Piubeli¹, Aggeliki Katsifa², Montserrat Argandoña¹, Manuel Salvador¹, Rosa García-Valero¹, Anna I. Koukkou³ y Carmen Vargas¹.

¹Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.

²Institute of Immunology. Biological Sciences Research Center 'Alexander Fleming'. Athens. Greece.

³Sector of Organic Chemistry and Biochemistry. Department of Chemistry. University of Ioannina. Greece.

Email: piubeli@us.es

Chromohalobacter salexigens es una bacteria halófila que posee uno de los mayores rangos salinos de crecimiento conocidos. Esta bacteria posee dos mecanismos principales de osmoadaptación, la síntesis de solutos compatibles (ectoína e hidroxiectoína) y los cambios en la composición de su membrana. En relación a éste último, nuestro grupo de investigación ha demostrado que, bajo condiciones de elevada salinidad, los lípidos de membrana de *C. salexigens* contienen un elevado porcentaje de ácidos grasos de tipo ciclopropánico (CFA), cuya síntesis está mediada por la enzima CFA sintasa. Por otro lado, se ha comprobado que el contenido en CFA es menor en un mutante deficiente en la síntesis de ectoínas, pero cuando se adiciona ectoína en el medio, los niveles de CFA en el mutante aumentan hasta alcanzar valores normales. Estos resultados sugieren una conexión entre los dos mecanismos de osmoadaptación en dicha bacteria (Vargas et al., 2008).

En la presente comunicación se presenta el estudio de la regulación transcripcional de la síntesis de CFA en *C. salexigens*. Por un lado, el análisis *in silico* del genoma indicó la presencia de dos posibles genes codificantes de CFA sintasas (*cfa1* y *cfa2*), que presentan ciertas diferencias en sus dominios y filogenia. Por otro, se realizaron fusiones transcripcionales de las regiones promotoras que regulan ambos genes (*Pcfa1* y *Pcfa2*) con el gen *gfp*, determinándose la actividad de ambos promotores en distintas condiciones de salinidad, y en presencia o ausencia de ectoína. Estos ensayos se realizaron tanto en la cepa silvestre como en un mutante *rpoS*. De forma adicional, se construyeron mutantes simples en los genes *cfa1* y *cfa2* (*cfa1::Ω* y *cfa2::Km*) y también un mutante doble *cfa1* y *cfa2*, analizándose la actividad CFA sintasa de los mismos en diferentes condiciones de salinidad. Los resultados indican diferencias en la regulación de ambos genes y que dicha regulación es dependiente de la salinidad, del regulador *rpoS* y de la presencia de ectoína.

Vargas, C., Kallimanis, A., Koukkou, A. I., Calderon, M. I., Canovas, D., Iglesias-Guerra, F., Drainas, C., Ventosa, A. and Nieto, J. J. 2005. Contribution of chemical changes in membrane lipids to the osmoadaptation of the halophilic bacterium *Chromohalobacter salexigens*. **Syst. Appl. Microbiol.** 28: 571-581.

P3. Modelo metabólico refinado de *Chromalobacter salexigens* DSM3043 para la producción de ectoínas.

Francine Piubeli, Montserrat Argandoña, Manuel Salvador, Rosa García-Valero, Carmen Vargas y Joaquín J. Nieto.

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.

Email: piubeli@us.es

Las ectoínas (ectoína e hidroxiectoína) son solutos compatibles que acumulan algunas bacterias halófilas en respuesta al estrés osmótico o térmico y que, debido a su naturaleza estabilizadora, poseen un gran potencial biotecnológico, en dermofarmacia, industria cosmética, biología molecular y biomedicina. *Chromohalobacter salexigens* es una bacteria halófila que produce de forma natural dichos solutos compatibles. Basándonos en nuestros resultados previos de estudios metabólicos y de proteómica, se han localizado aquellas rutas del metabolismo central relacionadas con la síntesis de ectoínas y la osmoadaptación, lo que nos ha permitido realizar una reconstrucción metabólica parcial refinada con el fin de desarrollar un modelo metabólico esencial para la optimización de la producción industrial de ectoínas. De forma paralela, se han revisado las rutas de síntesis de los principales metabolitos que componen la fórmula de la biomasa con el fin de incluirlas también en la reconstrucción metabólica

El gran desafío para la obtención de un modelo metabólico robusto y con un gran poder predictivo es inferir a partir del genoma un correcto mapa metabólico y, por tanto, un modelo fiable. Sin embargo, la gran cantidad de genes metabólicos y de isoenzimas mal anotados, además de la ausencia de datos en rutas esenciales para la producción de compuestos de interés dificultan en gran medida esta tarea, por lo que la reanotación refinada y manual puede minimizar los posibles errores anteriores. Así, teniendo como base una reconstrucción metabólica anterior realizada de forma semiautomática hemos realizado una extensa revisión y análisis del genoma de *C. salexigens* centrándonos en los metabolitos y rutas de interés utilizando herramientas bioinformáticas como KEGG, Pathway Tools, BIOCYC, BLAST, CDD, BRENDA, análisis de dominios conservados y filogenético, así como una amplia revisión bibliográfica. De esta forma, hemos obtenido un modelo metabólico "core" o esencial refinado de *C. salexigens* que posee 405 reacciones asociadas a 366 metabolitos. En comparación con la reconstrucción metabólica automatizada anterior, se han incluido 52 nuevas reacciones y 37 nuevos genes, distribuidos por 20 rutas distintas, entre ellas las rutas de síntesis y degradación de ectoínas. Los estudios "in silico" del modelo como la topología (numero de nodos, "dead ends", y grado de distribución), modelo gráfico y análisis de balance de flujos (FBA) están en proceso y están siendo llevados a cabo mediante las herramientas bioinformáticas COBRA TOOL BOX 2.0 y OMIX.

P4. A unique pool of compatible solutes on *Rhodopirellula baltica*, member of the deep-branching phylum *Planctomycetes*.

Ana Filipa d'Avó¹, Sofia Cunha¹, Ana Mingote², Pedro Lamosa³, Milton S. da Costa^{1,4} y Joana Costa^{1,4}

¹Center for Neurosciences and Cellular Biology. University of Coimbra. 3004-517 Coimbra. Portugal.

²Instituto de Tecnologia Química e Biológica. Universidade Nova de Lisboa. 2780-156 Oeiras. Portugal.

³Centro de Ressonância Magnética António Xavier. Instituto de Tecnologia Química e Biológica. Universidade Nova de Lisboa. 2781-901 Oeiras. Portugal.

⁴Department of Life Sciences. University of Coimbra. Apartado 3046. 3001-401 Coimbra. Portugal.

E-mail: filipa_avo@hotmail.com

The intracellular accumulation of small organic solutes was described in the marine bacterium *Rhodopirellula baltica*, which belongs to the globally distributed phylum *Planctomycetes* whose members exhibit an intriguing lifestyle and cell morphology.

Sucrose, α -glutamate, trehalose, mannosylglucosylglycerate (MGG), and succinic acid are the main solutes involved in the osmoadaptation of *R. baltica*. Sucrose and, to a lesser extent, α -glutamate, played a major role under osmotic stress, while trehalose was the primary compatible solute only at the lowest salinity for growth. Undeniably, the switch between the accumulation of trehalose and sucrose was by far the most significant effect caused by increasing the salt levels of the medium. Moreover, α -glutamate was the major organic solute under most conditions examined but the levels remained comparatively constant indicating that *R. baltica* constitutively accumulates this amino acid under several conditions. Additionally, MGG accumulation was found to be salt- as well as nitrogen-dependent. MGG accumulation was regulated by nitrogen levels replacing α -glutamate as a K^+ counterion in nitrogen-poor environments.

This is the first report of the accumulation of compatible solutes in the phylum *Planctomycetes* and of the MGG accumulation in a mesophilic organism.

P5. Isolation, characterization and phylogenetic analysis of new slightly thermophilic bacteria from hot springs in the Azores.

Luciana Albuquerque¹ and Milton S. da Costa²

¹Center for Neuroscience and Cell Biology. University of Coimbra. 3004-517 Coimbra. Portugal.

²Department of Life Sciences. University of Coimbra. 3001-401 Coimbra. Portugal.

Email: luciana@cnc.uc.pt

In the last years we isolated, characterized and described a large variety of slightly thermophilic organisms from hot springs in the Furnas area of the Island of São Miguel in the Azores. All the isolates had optimum growth temperatures between 45 and 50°C. Some organisms belong to the phylum *Bacteroidetes*, namely the species *Schleiferia thermophila* (Albuquerque et al., 2011), *Hydrotalea sandarakina* (Albuquerque et al., 2012) and *Cecembia calidifontis* (Albuquerque et al., 2013); other species belong to the phylum *Proteobacteria*, namely the species *Tepidicella xavieri* (França et al., 2006), *Tepidamorphus gemmatus* (Albuquerque et al., 2010) and *Elioraea tepidiphila* (Albuquerque et al., 2008); and others belong to the phylum “*Deinococcus/Thermus*”, namely the species *Truepera radiovitrix* (Albuquerque et al., 2005), *Meiothermus timidus* (Pires et al., 2005) and *Meiothermus granaticius* (Albuquerque et al., 2010), of which only *T. radiovitrix* is extremely-radiation resistant. All of these organisms were isolated by a filtration method with filters pore size 0.45 µm. The medium utilized for the isolation of the organisms was *Thermus* medium (Williams & da Costa, 1992) and the temperature of incubation was 50 °C. All of these organisms were characterized on the basis of phenotypic, quimiotaxonomic and phylogenetic parameters that led to their description. Some of the most commonly used methods for the molecular identification and description of new organisms involves the sequencing of the 16S rRNA gene and its phylogenetic analysis. Phylogenetic tree construction based on three topological methods were performed, although the neighbour joining method was the most common for the phylogenetic analysis of these organisms.

Albuquerque, L., Tiago, I., Nobre, M.F., Verissimo, A., da Costa, M.S. (2013). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63: 1431-1436.

Albuquerque, L., Rainey, F.A., Nobre, M.F., da Costa, M.S. (2012). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 1603-1608.

Albuquerque, L., Rainey, F.A., Nobre, M.F., da Costa, M.S. (2011). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61: 2450-2455.

Albuquerque, L., Rainey, F.A., Pena, A., Tiago, I., Verissimo, A., Nobre, M.F., da Costa, M.S. (2010). *Syst. Appl. Microbiol.* 33: 60-65.

Albuquerque, L., Rainey, F.A., Nobre, M.F., da Costa, M.S. (2010). *Syst. Appl. Microbiol.* 33: 243-246.

Albuquerque, L., Rainey, F.A., Nobre, M.F., da Costa, M.S. (2008). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 773-778.

Albuquerque, L., Simões, C., Nobre, M.F., Pino, N.M., Battista, J.R., Silva, M.T., Rainey, F.A., da Costa, M.S. (2005). *FEMS Microbiol. Lett.* 247: 161-169.

França, L., Rainey, F.A., Nobre, M.F., da Costa, M.S. (2006). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56: 907-912.

Pires, A.L., Albuquerque, L., Tiago, I., Nobre, M.F., Empadinhas, N., Verissimo, A., da Costa, M.S. (2005). *FEMS Microbiol. Lett.* 245: 39-45.

Williams, R.A., da Costa, M.S. (1992). *The prokaryotes* pp. 3745-3753.

P6. Viscosity as a factor controlling thermostability of low-molecular weight biomolecules at elevated temperatures.

Alba Cuecas, Jorge Cruces, M^a Carmen Portillo y Juan M. González.

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Avda. Reina Mercedes 10. 41012 Sevilla.

E-mail: albaqm2@hotmail.com

Low-molecular weight biomolecules such as nicotinamide nucleotides among others are essential for cell functioning. These molecules are known to be unstable at high temperatures, that could be a limiting factor affecting growth of thermophiles at elevated temperatures (Rothschild & Mancinelli, 2001; Cowan, 2004). Viscosity has been proposed to influence the kinetic energy of biomolecules and so influence their thermostability. In this study, NADH stability at different temperatures and viscosities was studied. To obtain different viscosities, the medium was supplemented with ethylene glycol or ectoine. NADH was quantified spectrophotometrically. NADH decay over time was analyzed at different viscosities and temperatures showing steeper decays at increasing temperatures. Experiments performed at a constant temperature showed that the decay of NADH was more pronounced at decreasing viscosities. At increasing viscosities the NADH decay rate decreased showing a trend towards stability or minimum decay rates. The results suggest that increasing viscosity could be a strategy to increase thermal stability of low molecular weight biomolecules (i.e., NADH) in solution. Assuming the cellular cytoplasm is a complex, highly crowded mixture of molecules (Zimmerman & Minton, 1993), the cell interior could support a higher thermal stability for low-molecular weight biomolecules that previously envisioned on water (Daniel & Cowan, 2000) and a potential increase of viscosity-conferring molecules within the cytoplasm either by synthesis or uptake could be a simple mechanism to induce further stability in hyperthermophilic cells. These results could be a major piece of evidence explaining the universality of most low-molecular weight biomolecules by living beings.

Cowan, D. A. 2004. The upper temperature for life – where do we draw the line?. **Trends. Microbiol.** 12: 58-60.

Daniel, R. M. and Cowan, D. A. 2000. Biomolecular stability and life at high temperatures. **Cell. Mol. Life Sci.** 57: 250-264.

Rothschild, L. J., and Mancinelli, R. L. 2001. Life in extreme environments. **Nature.** 409: 1092-1101.

Zimmerman, S. B. and Minton, A. P. 1993. Macromolecular crowding: Biochemical, Biophysical, and Physiological Consequences. **Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.** 22: 27-65.

P7. La producción de moléculas señal del sistema quorum sensing en *Halomonas anticariensis* FP35^T es sensible a la salinidad.

Ali Tahrioui¹, Emilia Quesada^{1,2} e Inmaculada Llamas^{1,2}.

¹*Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada. España.*

²*Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Granada. España.*

E-mail: atahrioui@ugr.es

Las bacterias coordinan la expresión génica de forma dependiente de la densidad celular mediante la producción de moléculas señal. Este sistema de regulación conocido como quorum sensing (QS) o comunicación intercelular, en bacterias Gram negativas implica la acumulación de moléculas señal tipo *N*-acil homoserín lactonas (AHLs) y controla una variedad de fenotipos incluyendo la formación de biofilm, producción de exopolisacáridos, etc. (Ng & Bassler, 2009).

La bacteria halófila moderada *Halomonas anticariensis* contiene los genes QS *hanI/hanR* homologos a *luxI/luxR* responsables de la producción de una variedad de moléculas señal AHLs (Tahrioui et al., 2011). En este trabajo mediante ensayos de difusión en placa utilizando bacterias biosensoras hemos demostrado que la producción de AHLs en *H. anticariensis* aumenta con la concentración de NaCl del medio (0,5%; 7,5% y 12,5%; p/v). Además, mediante RT-PCR y qRT-PCR hemos puesto de manifiesto que la expresión del gen sintasa (*hanI*) es dependiente de la concentración de NaCl. En definitiva, nuestros resultados indican que la producción de moléculas señal AHLs es sensible a la salinidad y con ello podrían participar en la regulación de la respuesta celular a elevadas salinidades en los ambientes salinos.

Ng, W. L. and Bassler, L. 2009. Bacterial quorum-sensing network architectures. ***Annu. Rev. Genet.*** 43: 197-222.

Tahrioui, A., Quesada, E. and Llamas, I. (2011). The *hanR/hanI* quorum-sensing system of *Halomonas anticariensis*, a moderately halophilic bacterium. ***Microbiology***, 157: 3378-3387.

P8. Propiedades químicas, funcionales y biológicas del exopolisacárido producido por *Halomonas stenophila* HK30.

Hakima Amjres^{1,3}, **Victoria Béjar**^{1,2}, **Emilia Quesada**^{1,2}, **Jamal Abrini**³, **Corinne Sinquin**⁴, **Jacqueline Ratiskol**⁴, **Sylvia Colliec-Jouault**⁴ e **Inmaculada Llamas**^{1,2}.

¹Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada. España.

²Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Granada. España.

³Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Abdelmalek Essaâdi. BP 2121. 93002. Tetuán. Marruecos.

⁴IFREMER, Laboratorio de Biotecnología y Moléculas Marinas. BP 21105. 44311. Nantes. Francia.

E-mail: amjreshak@hotmail.com

El grupo de investigación Exopolisacáridos Microbianos (BIO-188) (<http://www.ugr.es/~eps/es/index.html>) viene realizando desde hace más de dos décadas una búsqueda de nuevas bacterias productoras de exopolisacáridos en ambientes hipersalinos de España, Chile y Marruecos. Entre las bacterias Gram negativas productoras de EPS, el género *Halomonas* está ampliamente representado en los ambientes hipersalinos (Ventosa et al., 2008).

El objetivo de este trabajo es el estudio del exopolisacárido producido por la cepa HK30, una bacteria halófila moderada pertenece a la especie *Halomonas stenophila* (Llamas et al., 2011). La bacteria sintetiza su EPS principalmente durante la fase exponencial de crecimiento aunque continúa su producción, en menor medida, durante la fase estacionaria. Al igual que ocurre en otras especies de *Halomonas*, las condiciones nutricionales y ambientales afectan tanto al crecimiento como a la producción del EPS. De hecho, la productividad siempre ha resultado estar ligada con la biomasa que alcanza el cultivo. El estudio químico del polímero indica que es un heteropolisacárido sulfatado compuesto principalmente por glucosa y manosa. Además, contiene un azúcar poco común entre los polímeros bacterianos, la fucosa, que le confiere interesantes propiedades biotecnológicas por sus posibles aplicaciones en el campo de la medicina y de la cosmética. El EPS tiene dos fracciones de masas moleculares diferentes y produce soluciones de alta viscosidad con comportamiento pseudoplástico y muestra interesantes actividades floculantes y emulsionantes.

Llamas, I., Béjar, V., Martínez-Checa, F., Martínez-Canovas, M.J., Molina, I. and Quesada, E. (2011). *Halomonas stenophila* sp. nov., a halophilic bacterium that produces sulphate exopolysaccharides with biological activity. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61: 2508-2514.

Ventosa, A., Mellado, E., Sánchez-Porro, C. and Márquez, M. C. (2008). Halophilic and halotolerant micro-organisms from soils. *In: Microbiology of Extreme Soils.* pp: 87-115. Edited by Dion, P. and Nautiyal, C. S. Springer, NY.

P9. Producción de nanopartículas de plata por bacterias psicrófilas aisladas de aguas de deshielo de la Antártida.

Irma Marín, Siamack Javani, Ricardo Amils y José P. Abad.

Departamento de Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Edificio de Biología. Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco. 28049 Madrid.

E-mail: irma.marin@uam.es

Los sistemas biológicos extremos no solo tienen interés desde el punto de vista puramente académico sino que también se consideran como posibles fuentes de nuevos productos y procesos de interés industrial. Uno de estos tipos de ambientes, los ambientes de muy bajas temperaturas, podrían contener una biodiversidad con aplicaciones interesantes en distintos campos como por ejemplo el uso de enzimas a baja temperatura, que no han sido suficientemente explotados hasta el momento. Por otro lado, en los últimos años se ha venido estudiando la utilización de nanopartículas metálicas, particularmente las de plata, como posibles agentes antibacterianos que pudieran ayudar en la lucha contra bacterias, que cada vez son más resistentes a los antibióticos. La producción de nanopartículas de plata se ha realizado tradicionalmente mediante el empleo de métodos químicos, sin embargo estos métodos emplean reactivos que pueden ser contaminantes. Por esta razón se están buscando métodos biológicos, o de química verde, para conseguir la producción de nanopartículas con menor impacto contaminante.

Aunque ya se conocen bacterias capaces de producir nanopartículas a temperaturas relativamente elevadas (30-37°C) el uso de bacterias psicrófilas podría ser una alternativa energéticamente más eficiente. De este modo, sería posible que el empleo de distintas bacterias pudiera dar lugar a nanopartículas con distintas características y quizás con distintas propiedades. Por estas razones nuestro grupo ha iniciado un proyecto de búsqueda de bacterias y otro tipo de microorganismos, de ambientes extremos, que tengan la capacidad de generar nanopartículas. En esta comunicación presentaremos los resultados obtenidos en el rastreo de la capacidad de producción de nanopartículas de plata por bacterias psicrófilas procedentes de aguas de deshielo de la Antártida, así como la metodología desarrollada para su producción tanto a 4°C como a 30°C. Igualmente se describirán las características estructurales de las nanopartículas producidas por cuatro de las especies productoras encontradas tales como su tamaño, carga y radio hidrodinámico, y la actividad antibiótica de las mismas frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.

P10. Aislamiento y caracterización de bacterias resistentes a níquel procedentes de aguas contaminadas con éste metal.

Irma Marín¹, Khaoula Ferraga¹, Mohammed Merzouki², Moustafa Malki¹ y José P. Abad¹.

¹*Dpto. de Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Edificio de Biología. Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco. 28049 Madrid.*

²*Département de Biologie. Faculté des Sciences. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fez (Marruecos).*

E-mail: irma.marin@uam.es

La presencia de metales pesados en aguas de ríos en Marruecos es común ya que muchas de sus industrias de curtidos de pieles, que emplean sales de cromo, y de fabricación de objetos metálicos de uso utilitario u ornamental, que emplean cromo, níquel, cobre y plata, vierten sus efluentes a estos ríos, prácticamente sin ningún tipo de depuración previa. Aunque en los últimos tiempos se están haciendo esfuerzos para evitar esta situación, los niveles de contaminación de los ríos es aun importante, particularmente en regiones con un nivel elevado de industrias de este tipo como la región en torno a la ciudad de Fez. Algunos estudios previos han señalado que la contaminación de medios acuáticos con metales pesados puede llevar a cambios notables en las poblaciones bacterianas de esos sistemas y en particular la selección de bacterias resistentes a metales y, asociado a ello, también a antibióticos. En el camino de estudiar como la contaminación por Ni puede afectar a las poblaciones de bacterias y en particular a la acumulación de resistencias a antibióticos de estas bacterias, nuestro grupo ha desarrollado un estudio de la diversidad de bacterias resistentes a antibióticos en varias etapas del proceso de fabricación de objetos metálicos niquelados en una fábrica de Fez. Se han analizado las aguas que entran a la fábrica, aguas de tres etapas del proceso de fabricación y las aguas del río al que se vierten los efluentes. Para ello se han aislado bacterias resistentes a Ni y se ha determinado su resistencia a 11 antibióticos de uso común. Aquellas bacterias que presentaban perfiles de resistencia diferentes se han asignado filogenéticamente en base a la secuencia del gen del ARNr 16S. Los resultados obtenidos en cuanto a la diversidad de los aislados resistentes a níquel indican una disminución de las bacterias de los phyla *Proteobacteria* y *Bacteroidetes* y un aumento de los *Actinobacteria* y *Firmicutes* entre las aguas que entran a la fábrica y las aguas del río en el punto de vertido de los efluentes. Estos resultados se describirán más ampliamente en la comunicación, incluyendo también el estudio de la diversidad de perfiles de resistencia a antibióticos observados en las distintas muestras.

P11. Biodegradación de surfactantes no iónicos polietoxilados en agua marina artificial por bacterias aisladas del lago Roumi (Marruecos).

Irma Marín¹, Fernando Catalina², Teresa Corrales², Ana Morro¹, Ana Isabel Morato¹ y Concepción Abrusci¹.

¹*Departamento de Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco. 28049 Madrid.*

²*Departamento de Química Macromolecular Aplicada. Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros. CSIC. Juan de la Cierva 3. 28006 Madrid.*

E-mail: irma.marin@uam.es

Actualmente, el incremento de actividades antrópicas en los ambientes lacustres está causando un fuerte impacto en el medio ambiente como la deforestación, la erosión edáfica o la eutrofización de las aguas debido a la acumulación de surfactantes, nutrientes y fertilizantes. Los surfactantes son compuestos muy utilizados a escala mundial, tanto en el ámbito doméstico como en la industria (textil, cuero, papel, detergentes) por su utilidad y bajo coste. Por este motivo, el objetivo de este trabajo fue aislar cepas bacterianas presentes en el lago salino Roumi (Marruecos) que fuesen capaces de biodegradar estos compuestos, siendo así herramienta de biorremediación en la descontaminación del ecosistema.

Dieciséis cepas bacterianas fueron aisladas del lago Roumi e identificadas por técnicas de biología molecular. Las cepas se clasificaron en diez géneros en base a la secuencia del 16S ARNr 16S: *Rheinheimera*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Pseudidiomarina*, *Advenella*, *Bacillus*, *Halobacillus*, *Thalassobacillus*, *Microcella* y *Arthrobacter*. Trece de los aislados fueron capaces de crecer en presencia de surfactantes polietoxilados comerciales (1 g/l) en medio marino.

Su efectividad de biodegradación fue evaluada en Triton X-100, Tergitol NP-10 y Tween-80 y en cuatro controles (ácido oleico y polietilenglicol PEG-200, PEG-400, PEG-950) utilizando la técnica de medida indirecta de impedancia durante 10 días. Tres de los aislados (*Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp y *Bacillus mojavensis*) mineralizaron exclusivamente el Tween 80 mientras que *R. perlucida*, *B. amyloliquefaciens*, *R. aquimaris* y *Arthrobacter* sp. fueron capaces de mineralizar tanto los surfactantes como los controles.

Bautista LF, Sanz R, Molina M.C, González N, and Sánchez D (2009). Effect of different non-ionic surfactants on the biodegradation of PAHs by diverse aerobic bacteria. *Int. Biodeterioration and Biodegradation*. 63: 913-922.

Marcon R, Bestetti G, Frati F, Pepi M. and Baldi F. (2007). Naphtalene and biphenyl oxidation by two marine *Pseudomonas* strains isolated from Venice Lagoon sediment. *Int. Biodeterioration and Biodegradation*. 59: 25-31.

Liu X, Tani A, Kimbara K and Kawai F. (2006). Metabolic pathway of xenoestrogenic short ethoxy chain-nonylphenol to nonylphenol by aerobic bacteria, *Ensifer* sp strain AS08 and *Pseudomonas* sp strain AS90. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72: 552-559.

SESIÓN DE COMUNICACIONES EN
PANELES II

P12. ¿Cómo están organizados los genes relacionados con la desnitrificación en haloarqueas desnitrificantes?

María José García-Bonete, R. M. Martínez-Espinosa y María José Bonete.

División de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Agroquímica y Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante.

E-mail: mjbonete@ua.es

Varias especies pertenecientes a la familia *Halobacteriaceae* del dominio *Archaea* fueron descritas como microorganismos desnitrificantes durante la segunda mitad del siglo XX. No obstante, la descripción general de la desnitrificación en haloarqueas es escasa debido a:

- No existen muchos estudios multidisciplinares que permitan analizar la eficiencia de esta ruta metabólica en haloarqueas en particular, y en general en todo el dominio *Archaea*.
- Las técnicas de purificación y caracterización de metaloenzimas halófilas implicadas en la desnitrificación son complejas y los protocolos a utilizar son arduos en tanto que las concentraciones de sal con las que se ha de trabajar provocan infinidad de efectos adversos para el manejo y conservación de las enzimas.
- La disponibilidad de genomas de especies de la familia en estudio es limitada lo que dificulta los estudios de genómica comparativa y complica el desarrollo de experimentos de biología molecular.
- La naturaleza de las envolturas celulares de buena parte de las haloarqueas desnitrificantes limita el uso de las técnicas convencionales de transformación, clonaje, etc.

Partiendo de todas las premisas anteriores, el presente estudio es un análisis integrado cuyo objetivo es determinar si la organización y localización de los genes implicados en la desnitrificación se conserva o no entre las distintas especies desnitrificantes de haloarqueas cuyos genomas han sido publicados recientemente. Este análisis bioinformático se complementa con datos bioquímicos obtenidos en nuestro laboratorio que apuntan que, al contrario de lo que se publicó en la segunda mitad del siglo pasado, especies como *Haloferax mediterranei* sí son capaces de desarrollar al completo la ruta de la desnitrificación, y además de forma muy eficiente.

Los primeros resultados obtenidos a partir del análisis bioinformático muestran que la localización de los genes que codifican las enzimas clave de la desnitrificación (NarGH, NirK, Nos y Nor) no se conserva entre haloarqueas desnitrificantes y a su vez es también diferente a la considerada como patrón estándar en bacterias desnitrificantes. Este dato, así como otros similares obtenidos por otros grupos de investigación suponen la base para el estudio de la divergencia de especies y la deriva de rutas metabólicas.

P13. Caracterización de nuevas especies del género *Halorubrum* basada en estudios de secuenciación multilócica (MLSA).

Joaquín Vera¹, Paulina Corral¹, Cristina Sánchez-Porro¹, Rafael R. de la Haba¹, R. Thane Papke² y Antonio Ventosa¹.

¹*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Profesor García González 2. 41012 Sevilla.*

²*Department of Molecular and Cell Biology. University of Connecticut. 06269 Storrs. CT. USA*

E-mail: joaquinveragargallo@gmail.com

El género *Halorubrum* fue establecido por McGenity y Grant en 1995 y pertenece a la familia *Halobacteriaceae*, orden *Halobacteriales*. Actualmente incluye 25 especies, cuatro de ellas especies haloalcalófilas: *H. alkaliphilum*, *H. luteum*, *H. tibetense* y *H. vacuolatum* y 21 especies que crecen óptimamente a pH neutro: *H. aidingense*, *H. arcis*, *H. aquaticum*, *H. californiense*, *H. chaoviator*, *H. cibi*, *H. coriense*, *H. distributum*, *H. ejinorense*, *H. ezzemoulense*, *H. kocurii*, *H. lacusprofundi*, *H. lipolyticum*, *H. litoreum*, *H. orientale*, *H. saccharovorum*, *H. sodomense*, *H. tebenquichense*, *H. terrestre*, *H. trapanicum* y *H. xinjiangense*. Las especies de este género representan un porcentaje elevado de la microbiota de los ambientes hipersalinos y se aíslan muy frecuentemente a partir de alimentos en salazón y otros productos tratados con sal.

La clasificación de las arqueas actualmente se basa en un enfoque polifásico, que integra la caracterización fenotípica, genotípica y quimiotaxonómica. El objetivo de este estudio es la caracterización de posibles nuevas especies pertenecientes al género *Halorubrum*, basada en estudios previos de secuenciación multilócica (MLSA) a partir de muestras procedentes del lago Aran Bidgol en Irán.

En este estudio se ha realizado el análisis de la composición de lípidos polares por cromatografía en capa fina (TLC) de un conjunto de 15 cepas que han sido clasificadas en cuatro grupos de posibles nuevas especies del género *Halorubrum* identificados mediante MLSA. Los perfiles lipídicos obtenidos están estrechamente relacionados con el patrón del género *Halorubrum* y se correlacionan con los resultados por MLSA; éstos perfiles a su vez son distintos a los de las especies más semejantes según el análisis comparativo del gen del rRNA 16S.

El análisis de lípidos polares reveló que las cepas de los cuatro grupos contienen: fosfatidil glicerol (PG) y fosfatidil glicerol fosfato metil éster (PGP-Me) como lípidos mayoritarios. En este estudio se incluyó una especie haloalcalófila, *H. tibetense*, a fin de mostrar la presencia de derivados de PG de cadenas C₂₀C₂₀ y C₂₀C₂₅, derivados de PG no presentes en especies neutrófilas. La presencia y/o ausencia de glicolípidos y de bandas comigratorias determinan la diferencia entre las demás especies analizadas cuya diferencia se evidencia en los cromatogramas. En base a sus patrones de lípidos polares, las cepas estudiadas podrían constituir cuatro nuevas especies del género *Halorubrum*. Esta propuesta deberá ser confirmada mediante hibridación ADN-ADN y datos fenotípicos.

P14. Genómica comparativa de *Halomonas titanicae*.

Inmaculada Ibáñez, Rafael R. de la Haba, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa.

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.

E-mail: inibana.87@gmail.com

Halomonas titanicae es una bacteria halófila aislada a partir de los restos del trasatlántico británico RMS Titanic, hundido en 1912. El pecio del Titanic fue descubierto en el fondo del Atlántico Norte en septiembre de 1985 por un equipo de la Institución Oceanográfica de Woods Hole (USA). Los restos del Titanic se encuentran partidos en dos secciones y la corrosión marina ha propiciado la formación de "rusticles" por lo que está muy oxidado y degradado. En una de las expediciones, un equipo de la Universidad de Halifax (Canadá) aisló una bacteria a partir de muestras del casco del Titanic que, más tarde, fue descrita como una nueva especie, *Halomonas titanicae* (Sánchez-Porro et al., 2010). Este microorganismo pertenece a la familia *Halomonadaceae*, dentro de la clase *Gammaproteobacteria*. Se trata de un bacilo Gram-negativo, heterótrofo, aerobio y móvil mediante flagelos peritricos. Es capaz de crecer en medios de cultivo con una concentración de 0,5 hasta 25% p/v de NaCl (con un óptimo al 2-8% p/v de NaCl).

Nuestro grupo de investigación ha secuenciado el genoma de *H. titanicae* BH1^T mediante el sistema 454 GS FLX Titanium (Roche), obteniendo un total de 66.683 lecturas (34,1 Mb), que se ensamblaron en 48 contigs (con una longitud superior a 603 pb) mediante GS *de novo* assembler 2.3 (454 Life Sciences). El genoma consta de 5.339.792 pb con un contenido en G+C de 55,3 % y un total de 3.314 genes codificadores de proteínas o marcos abiertos de lectura (ORFs) (Sánchez-Porro et al., 2013).

Actualmente, estamos llevando a cabo un estudio más detallado de dicho genoma, haciendo un especial hincapié en aquellos genes relacionados con el metabolismo del hierro, arsénico y nitrógeno, transporte y síntesis de solutos compatibles y producción de polímeros. Por otro lado, se está realizando un análisis genómico comparativo del genoma de *H. titanicae* con otros genomas disponibles en las bases de datos públicas de cepas de la familia *Halomonadaceae*.

Sánchez-Porro, C., de la Haba, R. R., Cruz-Hernández, N., González, J. M., Reyes-Guirao, C., Navarro-Sampedro, L., Carballo, M. and Ventosa, A. (2013). Draft genome of the marine gammaproteobacterium *Halomonas titanicae* **Genome Announc.** 1: e00083-13.

Sánchez-Porro, C., Kaur, B., Mann, H. and Ventosa, A. (2010). *Halomonas titanicae* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from RMS Titanic. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 60: 2768-2774.

P15. Metagenómica comparativa de dos ambientes hipersalinos acuáticos: diversidad filogenómica de procariotas.

Blanca Vera, Ana Beatriz Fernández, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa.

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.

E-mail: blavergar@alum.us.es

Las salinas son ambientes extremos tradicionalmente considerados como ecosistemas con una escasa biodiversidad de especies. En la actualidad se sabe que la biodiversidad taxonómica presente en estos ambientes es más amplia de lo que se pensaba. Los métodos de cultivo solo permiten el aislamiento de menos del 1% de los organismos existentes en un determinado ambiente, y en proporciones distintas a las encontradas en la naturaleza. Los estudios metagenómicos son una buena alternativa para solventar muchas de las carencias de los métodos tradicionales.

Ghai et al. (2011) y Fernández (2012) realizaron estudios detallados de varios metagenomas de la salina "Bras del Port" de Santa Pola (Alicante) a partir de estanques con concentraciones totales de NaCl de 13, 19, 33 y 37% p/v (designados como SS13, SS19, SS33 y SS37, respectivamente). Recientemente hemos obtenido un nuevo metagenoma de un estanque con una concentración salina del 21% p/v de una salina situada en Isla Cristina, Huelva (designado como IC21). El objetivo de este estudio es realizar un análisis metagenómico comparativo de la diversidad filogenómica presente en el estanque IC21 y en los estanques de la salina "Bras del Port".

El contenido en G+C del metagenoma de IC21 muestra una distribución bimodal más parecida a la de SS19 que a la de SS33, dado que el pico predominante se encuentra alrededor del 65%. Este valor se corresponde con el alto contenido en G+C asociado a la mayoría de bacterias y arqueas halófilas descritas hasta el momento. El segundo pico del metagenoma de IC21, con un contenido en G+C más bajo, se encuentra ligeramente desplazado hacia valores superiores con respecto al observado en los metagenomas de la salina "Bras del Port", en los cuales se asocia con la arquea halófila *Haloquadratum walsbyi*.

Con respecto al análisis del punto isoeléctrico de IC21, éste muestra un aumento de la proporción de proteínas con aminoácidos ácidos, una adaptación hipersalina bien conocida en los microorganismos halófilos.

En la actualidad estamos realizando el análisis comparativo del metagenoma del estanque IC21 de la salina de Isla Cristina con los metagenomas de referencia. Estudios preliminares indican que existen semejanzas, pero también algunas diferencias en los resultados con respecto al estanque SS19 de la salina de Santa Pola.

P16. Diversidad de procariotas en pieles tratadas con sal.

Can Akpolat^{1,2}, Cristina Sánchez-Porro¹, Pinar Caglayan³, Meral Birbir³ y Antonio Ventosa¹

¹*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.*

²*Instituto de Ciencias Puras y Aplicadas. Departamento de Biología. Universidad Marmara. 34722 Estambul. Turquía.*

³*Departamento de Biología. Facultad de Artes y Ciencias. Universidad Marmara. 34722 Estambul. Turquía.*

E-mail: akpolatcan@gmail.com

Los ambientes hipersalinos están representados principalmente por sistemas acuáticos y suelos, aunque también se engloban en esta categoría los depósitos de sal, algunas plantas del desierto, salmueras de yacimientos petrolíferos y una gran variedad de productos en salazón. En el proceso del curtido de pieles también se utiliza sal para el secado de las mismas y constituyen por tanto un ambiente en el cual se desarrollan microorganismos que pueden producir un deterioro de las pieles.

En el presente trabajo estamos estudiando la diversidad procariota presente en diversas muestras de pieles tratadas con sal procedentes de una industria peletera de Valencia, concretamente contamos con 8 muestras provenientes de ganado ovino en cuya superficie existen diferentes tipos de deterioro producidos posiblemente por microorganismos.

A partir de diluciones de dichas muestras en solución salina estamos aislando bacterias y arqueas utilizando diferentes medios de cultivo. Una vez obtenidos los aislados seleccionamos algunas colonias al azar para realizar una amplificación parcial del gen que codifica el ARNr 16S y su posterior secuenciación y análisis. Hasta la fecha (continuamos con el estudio) tenemos un total de 101 bacterias y 48 arqueas en cultivo puro. Las bacterias aisladas están relacionadas fundamentalmente con distintas especies de los géneros *Bacillus*, *Alkalibacillus* y otros géneros relacionados productores de endosporas. Los grupos más abundantes de arqueas están relacionados con distintas especies de los géneros *Halorubrum* y *Natrinema*.

También estamos estudiando diversas actividades enzimáticas de los microorganismos presentes en dichas muestras, principalmente actividades proteolíticas y lipolíticas. De todas las cepas aisladas un 20% presenta actividad proteolítica y un 24% actividad lipolítica.

P17. Aplicación del análisis de secuenciación multilócica (MLSA) en la descripción de nuevas especies del género *Halorubrum*.

Rafael R. de la Haba¹, Paulina Corral¹, Cristina Sánchez-Porro¹, Andrea Makkay², R. Thane Papke² y Antonio Ventosa¹.

¹*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.*

²*Department of Molecular and Cell Biology. University of Connecticut. 06269 Storrs. CT. USA.*

E-mail: ventosa@us.es

El género *Halorubrum*, perteneciente al orden *Halobacteriales* en el phylum *Euryarchaeota*, incluye actualmente un total de 25 especies, todas ellas halófilas extremas. Hasta el momento, la descripción de nuevas especies dentro de este género se realiza en base a una aproximación polifásica, que engloba una caracterización fenotípica, genotípica y filogenética, utilizándose únicamente el gen ARNr 16S como marcador molecular. Sin embargo, este gen presenta múltiples limitaciones para su uso en el género *Halorubrum*, como su baja tasa de evolución como para discriminar de manera fiable a nivel de especie o su frecuente recombinación entre especies estrechamente relacionadas. En 2011, Papke y colaboradores demostraron que el análisis por secuenciación multilócica (MLSA) es una herramienta rápida y eficaz para diferenciar cepas individuales y clasificarlas correctamente a nivel taxonómico dentro del orden *Halobacteriales*.

A partir del lago hipersalino Aran-Bigdol (Irán) se han aislado un total de 40 cepas pertenecientes al género *Halorubrum*, llevándose a cabo con ellas un estudio MLSA utilizando 6 genes *housekeeping*: *atpB*, *EF-2*, *glnA*, *ppsA*, *radA* y *rpoB*. Los resultados de los árboles filogenéticos muestran que varias de esas cepas se agrupan con especies existentes del género, pero se aprecia también la existencia de cuatro grupos monofiléticos e independientes que podrían constituir cuatro nuevas especies dentro del género *Halorubrum*.

Con el fin de describir estas posibles nuevas especies, se están contrastando los resultados obtenidos por MLSA con los datos fenotípicos, quimiotaxonómicos y de hibridación ADN-ADN, así como de comparación de los genomas de cepas seleccionadas.

Papke, R. T., White, E., Reddy, P., Weigel, G., Kamekura, M., Minegishi, H., Usami, R. and Ventosa, A. (2011). A multilocus sequence analysis approach to the phylogeny and taxonomy of the *Halobacteriales*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61: 2984-2995.

P18. *Marinobacter persicus* sp. nov., una bacteria halófila moderada aislada de un lago salino de Irán.

Cristina Sánchez-Porro¹, Maryam Bagheri^{2,3}, Mohammad Ali Amoozegar^{2,3}, Maryam Didari³, Ali Makhdoumi-Kakhki^{2,4}, Peter Schumann⁵, Cathrin Spröer⁵ y Antonio Ventosa¹.

^a*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.*

²*Microorganisms Bank. Iranian Biological Centre (IBRC). ACECR. Tehran. Iran.*

³*Extremophiles Laboratory. Dept. of Microbiology. Faculty of Biology. College of Science. University of Tehran. Iran.*

⁴*Dept. of Biology. School of Sciences. Ferdowsi University of Mashhad. 91775-1436 Mashhad. Iran.*

⁵*DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures. Inhoffenstraße 7B. 38124 Braunschweig. Germany.*

E-mail: sanpor@us.es

El género *Marinobacter* está incluido en la familia *Alteromonadaceae*, clase *Gammaproteobacteria* y actualmente consta de 33 especies. En dicho género se incluyen bacterias aisladas de diversos ambientes salinos tales como agua de mar, lagos hipersalinos, sedimentos salinos o salinas solares. En Irán existe un elevado número de lagos hipersalinos que no han sido estudiados en profundidad desde el punto de vista de su biodiversidad microbiana; es por ello que están siendo objeto de estudio en los últimos años y son varias las especies recientemente descritas procedentes de dichos ambientes. En este estudio se ha realizado la caracterización polifásica de la cepa M9B, aislada del lago Aran-Bidgol, y se propone clasificarla como una nueva especie del género *Marinobacter*, con la denominación *Marinobacter persicus* sp. nov.

Marinobacter persicus es un bacilo Gram-negativo, aerobio estricto y móvil, cuyas colonias poseen una pigmentación anaranjada. Es una bacteria halófila moderada, con un crecimiento óptimo entre 7,5 y 10% p/v de NaCl y es capaz de crecer en un rango del 5 al 20% p/v de NaCl. El análisis de la secuencia del gen del ARNr 16S mostró que la cepa M9B presenta la máxima semejanza filogenética con respecto a *M. hydrocarbonoclasticus* MBIC 1303^T (97,7%), especie tipo del género *Marinobacter*. El porcentaje de hibridación ADN-ADN con *M. hydrocarbonoclasticus* es del 16 %. El contenido en G+C del ADN de la cepa M9B es de 58,6 moles%. Presenta ubiquinona Q-9 y los ácidos grasos mayoritarios son C_{16:0}, C_{19:1} ω6c, C_{18:1} ω9c y C_{16:1} ω9c. Estos resultados demuestran que la cepa M9B pertenece al género *Marinobacter*, si bien presenta características fenotípicas y genotípicas que avalan su propuesta como una nueva especie de este género.

P19. Cepas M1-18 y L1-16, ¿un nuevo género de la familia *Halomonadaceae*?

M^a José León, Rafael R. de la Haba, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa.

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/. Prof. García González 2. 41012 Sevilla.

E-mail: rrh@us.es

La familia *Halomonadaceae*, dentro de la clase *Gammaproteobacteria*, está constituida por un total de 10 géneros cuyos nombres han sido válidamente publicados: *Halomonas* (75 especies), *Aidingimonas* (1 especie), *Carnimonas* (1 especie), *Chromohalobacter* (8 especies), *Cobetia* (5 especies), *Halotalea* (1 especie), *Kushneria* (5 especies), *Modicisalibacter* (1 especie), *Salinicola* (3 especies) y *Zymobacter* (1 especie). Se trata de una familia muy heterogénea, que incluye bacilos y cocos no halófilos, halotolerantes, halófilos débiles, halófilos moderados, halófilos extremos y/o alcalófilos; aerobios y anaerobios facultativos. Además, estos microorganismos pueden aislarse en ambientes muy diferentes, tales como agua del mar, lagos hipersalinos, lagos alcalinos, salinas, suelos salinos, alimentos, aguas residuales, etc.

La filogenia de la familia *Halomonadaceae* se basa fundamentalmente en el estudio de la secuencia del gen del ARNr 16S. De la Haba y colaboradores (2012) publicaron un análisis por secuenciación multilócica (MLSA) de esta familia utilizando los genes del ARNr 16S y ARNr 23S, *atpA*, *gyrB*, *rpoD* y *secA*, en el que se demostró la utilidad de estos marcadores moleculares alternativos al gen del ARNr 16S para delimitar grupos taxonómicos en dicha familia.

Durante un estudio acerca de la biodiversidad de ambientes salinos se aislaron dos cepas, M1-18 y L1-16, a partir de una salina de Isla Bacuta (Huelva), pertenecientes a la familia *Halomonadaceae*. El análisis del gen ARNr 16S no permitió determinar exactamente a qué género pertenecían, pues el mayor porcentaje de semejanza lo mostraban con las especies del género *Chromohalobacter*, mientras que en los árboles filogenéticos se agrupaban con las especies del género *Kushneria*.

Actualmente, estamos llevando a cabo el análisis de los otros genes mencionados para poder dilucidar si estos dos aislados pertenecen al género *Chromohalobacter* o *Kushneria*, o bien si constituyen un nuevo género dentro de la familia.

de la Haba, R. R., Márquez, M. C. Papke, R. T. and Ventosa, A. (2012). Multilocus sequence analysis of the family *Halomonadaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 520-538.

P20. Procariotas dominantes y análisis de la biodiversidad de cinco salinas del sur de España y norte de Marruecos

Nahid Oueriaghli¹, Emilia Quesada^{1,2}, Victoria Béjar^{1,2} y Fernando Martínez-Checa^{1,2}.

¹*Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada. España.*

²*Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Granada. España.*

E-mail: fmcheca@ugr.es

En el presente trabajo hemos analizado la diversidad procariota de cinco hábitats salinos mediante técnicas moleculares y aplicando distintos índices de diversidad. Los ambientes seleccionados, de acuerdo a sus diferentes características físico-químicas y localización, fueron dos hábitats hipersalinos de España, las salinas de Cabo de Gata (Almería) y La Malahá (Granada), así como otros tres ambientes hipersalinos situados al norte de Marruecos, las salinas de Asilah, Larache y Souk Iarbaâ. Con fines comparativos incluimos en este trabajo, un hábitat no salino, suelos tomados de un área agrícola en Motril (Granada).

Los procariotas predominantes se determinaron a partir de los perfiles de DGGE que nos indicaron variaciones en su diversidad según el hábitat estudiado y su salinidad, con la existencia de una alta diversidad de bacterias y una diversidad media de arqueas en todos los hábitats investigados. Por otra parte detectamos un número significativo de secuencias asignadas a taxa que nunca han sido aislados a partir de los ambientes salinos o que no pudieron ser identificadas.

En cuanto a las comunidades de bacterias, hallamos que los microorganismos más abundantes en el conjunto de los hábitats estudiados pertenecían a los phyla *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*; no obstante, también encontramos miembros de otros phyla menos abundantes, tales como *Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, y *Acidobacteria*. Por otro lado, descubrimos que la comunidad de arqueas de todos los ambientes salinos estaba dominada por miembros del phylum *Euryarchaeota*, siendo el orden *Halobacteriales* el más abundante.

El análisis de la comunidad de *Halomonas* reveló la presencia de esta bacteria en todos los hábitats estudiados excepto en la salina de La Malahá; su abundancia y diversidad alcanzó siempre valores elevados, lo que demuestra la ubicuidad de este microorganismo.

Finalmente, y respecto al hábitat no salino incluido en este estudio con fines comparativos, se demostró que el phylum *Proteobacteria* dominaba en todas las muestras analizadas. También se halló un porcentaje relativamente elevado de miembros del phylum *Gemmatimonadetes* que no se había detectado en los medios salinos. La comunidad de arqueas pertenecía mayoritariamente al phylum *Thaumarchaeota* y al orden *Thermoplasmatales*. Finalmente, constatamos la presencia y abundancia de las especies del género *Halomonas*, siendo la predominante *H. ventosae*.

P21. Respuesta de los procariotas a la guanotrofización por aves acuáticas en un sistema atalasoalino, la laguna de Fuente de Piedra.

Gema L. Batanero¹, Andy J. Green², Manuel Rendón³ e Isabel Reche¹

¹*Departamento de Ecología e Instituto Universitario del Agua. Universidad de Granada. 18071 Granada. España.*

²*Departamento de Ecología de Humedales. Estación Biológica de Doñana (CSIC). 41092 Sevilla. España.*

³*Reserva Natural de la laguna de Fuente de Piedra. Málaga. España.*

E-mail: gemabat@correo.ugr.es

La conservación de humedales ha conducido a una recuperación y, en ocasiones, aumento de ciertas especies de aves acuáticas en el sur peninsular como, por ejemplo, el flamenco común (*Phoenicopterus roseus*) o la gaviota sombría (*Larus fuscus*). En estos humedales, coincidiendo respectivamente con los períodos de reproducción e invernada, se producen aumentos masivos de sus poblaciones lo que supone un incremento en los aportes de heces y, consiguientemente, de nutrientes orgánicos y minerales a las aguas. Este proceso se denomina guanotrofización y sus efectos sobre la comunidad de procariotas prácticamente no han sido estudiados. La colonia reproductora de flamencos más importante del Mediterráneo Occidental se localiza en la laguna de Fuente de Piedra, Málaga. Esta laguna es un sistema atalasoalino que presenta una hidrodinámica muy variable con intensa evaporación durante el verano produciendo salinidades que pueden oscilar desde valores inferiores a 20 gl⁻¹ hasta 200 gl⁻¹.

En este estudio hemos evaluado los efectos de la adición de guano procedente de flamencos y gaviotas sobre la comunidad de procariotas de la laguna de Fuente de Piedra. Hemos realizado tres experimentos: dos utilizando heces esterilizadas de flamenco (durante la fase de llenado y evaporación, respectivamente) y otro con heces esterilizadas de gaviota. La concentración de nutrientes en la laguna es hasta tres veces más elevada durante la fase de evaporación que durante la fase de llenado. Cada experimento consistió en tres tratamientos: *Control* (incubación sin heces), *Medio* (incubación con un aporte de heces similar a los existentes en la laguna) y *Elevado* (incubación con un aporte de heces x5 ó x3 -veces la del Medio). En cada tratamiento se tomaron alícuotas para determinar la abundancia y producción heterotrófica de procariotas cada 12 horas y durante 5 días y a tiempo inicial y final para determinar la composición de procariotas.

La actividad de los procariotas (medida mediante la incorporación de H³-leucina) aumentó significativamente con la adición de guano en el experimento realizado durante la fase de llenado tanto en el experimento con heces de flamenco como de gaviota. Por el contrario, la actividad procariótica no mostró ninguna diferencia significativa entre tratamientos en el experimento realizado durante la fase de evaporación y alta densidad de flamencos, posiblemente debido a las condiciones de saturación de nutrientes presentes durante este periodo. Este estímulo durante la fase de llenado (elevada razón N:P en el lago) podrían atribuirse al elevado contenido de P en las heces, indicando una limitación por fósforo de estos procariotas. Además, en el experimento con heces de gaviota determinamos la actividad de bacterias y arqueas en la misma muestra, lo que nos permitió concluir que la actividad de arqueas es más sensible a la adición de heces.

P22. Selection of marine bacteria with cellulase activity for pre-treatment of microalgal biomass for biogas production.

Camilo Muñoz³, Catalina Hidalgo³, Manuel Zapata^{1,2,3}, David Jeison⁴, Carlos Riquelme^{2,3} and Mariella Rivas^{1,2,3}.

¹Centro de Investigación Científico Tecnológico para la Minería CICITEM. Av. José Miguel Carrera 1701. 4to piso. Antofagasta. Chile.

²Desert Bioenergy S. A. Vitacura 2939. piso 10. Las Condes. Santiago. Chile.

³Lab. de Ecología Microbiana. Centro de Bioinnovación. Univ. de Antofagasta. Av. Angamos 601. Antofagasta. Chile.

⁴Chemical Engineering Department & Scientific and Technological Bioresource Nucleus, University of La Frontera, Temuco, Chile.

E-mail: mrivas@uantof.cl

The biodiesel production from microalgae is one of the alternatives which could replace fossil fuels. However, to commercialize them at an industrial scale, troubles like extraction of the microalgal intracellular content must be solved. The breaking methods used are ultrasonication, homogenization, and thermal treatments, among others. Nevertheless, the extraction process makes more expensive the production and is difficult to implement it at a big scale. Therefore, one of the objectives of this study was to evaluate an enzymatic pre-treatment of the microalgal cell wall through hydrolysis, using bacteria ("whole cell") which possess cellulolytic activity and perform naturally this process in their habitats. For this, bacterial strains were isolated from the gut of marine filtered bivalves, *Mytilus chilensis* ("chorito"), *Protothaca thaca* ("almeja") y *Mesodesma donacium* ("macha"), collected from Antofagasta bay, using selective methods with CMC as the unique source of carbon, specific for marine bacteria with cellulase activity. 54 strains were selected, where 9 show endoglucanase activity by "Iodine Gram" method, with halos between 0.6 and 1.8 cm of diameter; 5 strains isolated from *M. chilensis* and 4 strains from *M. donacium*. Besides, it was determined their growing rate, biochemical profile and enzymatic activity, through the filter paper degradation. The molecular characterizations of these strains allowed their phylogenetic identification: *Aeromonas bivalvium*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Raoultella ornithinolytica*, among others. Cell wall degradation of the microalgae *Botryococcus braunii* and *Nannochloropsis gaditana* was evaluated. Producing a rupture after 48 hours with the strains named MA2, MA5 and MC25 in *B. braunii* and MC3 and MA5 in *N. gaditana*. On the other hand, the strains MA5 y MC3 with *N. gaditana* were incubated and then exposed to an anaerobic digestion process, rising yields in 33 and 57 % respectively, compared to those from methane production in the microalgae without treatments. So, in a future, this microalgal pre-treatment of low cost, could increase yields and efficiency for biodiesel and biogas production.

ÍNDICE DE COMUNICACIONES Y PARTICIPANTES:

Abrusci Bernal, Concepción. P11
Aguilera Bazán, Ángeles. O15, O16
Akpolat, Can. P16
Albuquerque, Luciana. P5
Amjres, Hakima. P8
Antón Botella, Josefa. O12, O13
Argandoña Bertrand, Montserrat. O7, O8, P2, P3
Batanero Franco, Gema Laura. O17, P21
Béjar Luque, Victoria. O23, O24, O28, P8, P20
Berenguer Carlos, José. O14
Blesa Esteban, Alba. O14
Bonete Pérez, M^a José. O10, O11, P12
Bravo Barrales, Gloria
Castro, David Jonathan. O24
Cifuentes Martínez, Ana. O19, O20
Corral Villa, Paulina. O5, P13, P17
Cuecas Morano, M^a de Piedras Alba. P6
D'Avo, Filipa. P4
Del Moral García, Ana Isabel. O28
De los Ríos Murillo, Asunción. O21, O22
Esclapez Espliego, Julia. O10, P1
Fernández González, Ana Beatriz. O1, O2, O3, P15
Fernández Martínez, Miguel Ángel. O21
Ferrer Casanova, Juan. P1
García Valero, Rosa M^a. O7, O8, P2, P3
Genilloud Rodríguez, Olga. O27
Gomariz Clemente, María
González González, Roberto. O18
González Grau, Juan Miguel. P6
González Pastor, José Eduardo. O9
González Toril, Elena. O15
González Torres, Pedro. O12
Green, Andy J. O17, P21
Hidalgo Ahumada, Catalina. P22
Ibáñez Navarro, Inmaculada. P14
Infante Domínguez, Carmen. O3
León León, M^a José. O2, P19
López Hermoso, Clara. O4
López López, Aránzazu
López Pascual, Cristina. O12
Luque Aznar, Rocío. O27
Llamas Company, Inmaculada. O24, O25, O27, O28, P7, P8
Marín Palma, Irma. P9, P10, P11
Martín Cuadrado, Ana Belén. O1, O2, O6
Martínez-Checa Barrero, Fernando. O23, O24, O28, P20
Martínez García, Manuel. O13
Mellini, Lara. O10
Mora Ruiz Merit del Rocío
Muñoz Jiménez, Raúl
Muñoz Segovia, Camilo. P22
Nieto Gutiérrez, Joaquín José. O7, O8, P2, P3
Ortíz Álvarez, Rudiger. O22

Piubeli, Francine O7, O8, P2, P3
Quesada Arroquia, Emilia. O23, O24, O25, O27, O28, P7, P8, P20
Ramos Barbero, M^a Dolores. O23
Reche Cañabate, Isabel. O17, P21
Rodríguez Valera, Francisco. O1, O2, O3, O6
Rosselló Mora, Ramón. O19, O20
Rua Rodríguez, M^a Luisa. O18
Ruiz de la Haba, Rafael. O4, P13, P14, P17, P19
S. Da Costa, Milton. P4, P5
Sánchez-Porro Álvarez, Cristina. O1, O2, O3, O4, P13, P14, P15, P16, P17, P18, P19
Santos Sánchez, Fernando. O12, O13
Sara Díaz Moya, Ana
Soley Astals, Albert. O26
Tahrioui, Ali. O25, P7
Torres Béjar, Marta. O25
Vegara Luque, Ana. O11
Ventosa Uceró, Antonio. O1, O2, O3, O4, O5, P13, P14, P15, P16, P17, P18, P19
Vera Gargallo, Blanca. P15
Vera Gargallo, Joaquín. P13
Villamor Serrano, Judith. O13
Viver Pizá, Bartomeu. O19

LISTA DE PARTICIPANTES:

A

Abrusci Bernal, Concepción
Dpto. Biología Molecular
Universidad Autónoma de Madrid
C/ Darwin, 2
28049 Cantoblanco (Madrid)
E-mail: cabrusci@cbm.uam.es

Aguilera Bazán, Ángeles
Instituto Nacional de Técnica
Aeroespacial
Centro de Astrobiología
Crtra. de Ajalvir, km. 4
28850 Torrejón de Ardoz (Madrid)
E-mail: aguileraba@cab.inta-csic.es

Akpolat, Can
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: akpolatcan@gmail.com

Albuquerque, Luciana
Center for Neurosciences and Cellular
Biology
University of Coimbra
3004-517 Coimbra (Portugal)
E-mail: luciana@cnc.uc.pt

Amaral Piubeli, Francine
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: piubeli@us.es

Amjres, Hakima
Dpto. Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n.
18071 Granada
E-mail: amjreshak@hotmail.com

Antón Botella, Josefa
Dpto. de Fisiología, Genética y
Microbiología
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03080 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: anton@ua.es

Argandoña Bertrand, Montserrat
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: montseab@us.es

B

Batanero Franco, Gema Laura
Dpto. de Ecología, Facultad de Ciencias
Avd. Fuentenueva, s/n, 18071 Granada
E-mail: gemabat@correo.ugr.es

Béjar Luque, Victoria
Dpto. de Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n, 18071 Granada
E-mail: vbejar@ugr.es

Berenguer Carlos, José
Dpto. de Biología Molecular
Centro de Biología Molecular Severo
Ochoa
CBM-UAM-CSIC
C/ Nicolás Cabrera, 1
28049 Madrid
E-mail: jberenguer@cbm.uam.es

Blesa Esteban, Alba
Dpto. de Biología Molecular
Centro de Biología Molecular Severo
Ochoa
CBM-UAM-CSIC
C/ Nicolás Cabrera, 1
28049 Madrid
E-mail: ablesa@cbm.uam.es

Bonete Pérez, M^a José
Dpto. de Agroquímica y Bioquímica
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03690 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: mjbonete@ua.es

Bravo Barrales, Gloria
Aguamarina, S.A.
Condell, 232
Arauco (Chile)
E-mail: gloriabravobarrales@gmail.com

C

Castro, David Jonathan
Dpto. de Microbiología, Facultad de Farmacia
Campus de Cartuja, s/n
18071 Granada
E-mail: castricoxpc@gmail.com

Cifuentes Martínez, Ana
IMEDEA (CSIC – UIB)
Dpto. Ecología y Recursos Marinos
Miquel Marqués, 21
07190 Esporles (Islas Baleares)
E-mail: ana.cifuentes@imedea.uib-csic.es

Corral Villa, Paulina
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: pcv@us.es

Cuecas Morano, M^a de Piedras Alba
IRNAS-CSIC
Avd. Reina Mercedes, 10
41012 Sevilla
E-mail:

D

D'Avo, Filipa
Center for Neurosciences and Cellular Biology
University of Coimbra
3004-517 Coimbra (Portugal)
E-mail: filipa_avo@hotmail.com

Del Moral García, Ana Isabel
Dpto. de Microbiología, Facultad de Farmacia
Campus de Cartuja, s/n
18071 Granada
E-mail: admoral@ugr.es

De los Ríos Murillo, Asunción
Instituto de Recursos Naturales,
Centro de Ciencias Medioambientales
CCMA-CSIC
C/ Serrano, 115
28006 Madrid
E-mail: arios@mncn.csic.es

E

Esclapez Espliego, Julia
Dpto. de Agroquímica y Bioquímica
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03690 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: julia.esclapez@ua.es

E

Fernández González, Ana Beatriz
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: abf@us.es

Fernández Martínez, Miguel Ángel
Instituto de Recursos Naturales,
Centro de Ciencias Medioambientales
CCMA-CSIC
C/ Serrano, 115
28006 Madrid
E-mail: ma.fernandez@mncn.csic.es

Ferrer Casanova, Juan
Dpto. de Agroquímica y Bioquímica
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03690 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: jferrer@ua.es

G

García Valero, Rosa M^a
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: rgarcia5@us.es

Genilloud Rodríguez, Olga
Dpto. Microbiología. Fundación Medina
Avd. del Conocimiento, 3
Parque Tecnológico Ciencias de la Salud
18100 Armilla (Granada)
E-mail: olga.genilloud@medinaandalucia.es

Gomariz Clemente, María
Dpto. de Fisiología, Genética y
Microbiología
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03080 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: maria.gomariz@gmail.com

González González, Roberto
Dpto. Química Analítica y Alimentaria
Universidad de Vigo
Edf. Politécnico. As Lagoas
32004 Ourense
E-mail: robergg_83@hotmail.com

González Grau, Juan Miguel
Instituto de Recursos Naturales y
Agrobiología
CSIC
Avd. Reina Mercedes, 10
41012 Sevilla
E-mail: jmgrau@irnase.csic.es

González Pastor, José Eduardo
Dpto. de Evolución Molecular
Centro de Astrobiología
Crtra. de Ajalvir, km. 4
28850 Torrejón de Ardoz (Madrid)
E-mail: gonzalezpje@cab.inta-csic.es

González Toril, Elena
Centro de Astrobiología -INTA-CSIC-
Crtra. Torrejón a Ajalvir, Km. 4
28850 Torrejón de Ardoz (Madrid)
E-mail: gonzalezte@cab.inta-csic.es

González Torres, Pedro
Dpto. de Fisiología, Genética y
Microbiología
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03080 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: pedro.gonzalez@ua.es

Green, Andy J.
Dpto. Ecología de Humedales
Estación Biológica de Doñana. CSIC.
C/ Américo Vespucio, s/n. Isla de la
Cartuja
41092 Sevilla
E-mail: ajgreen@ebd.csic.es

H

Hidalgo Ahumada, Catalina
Instituto de Recursos Naturales y
Agrobiología (CSIC)
Avd. Reina Mercedes, 10
41012 Sevilla
E-mail: caphidalgoahumada@gmail.com

I

Ibáñez Navarro, Inmaculada
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: inibana.87@gmail.com

Infante Domínguez, Carmen
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: carmenid@us.es

L

León León, M^a José
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: mjl@us.es

López Hermoso, Clara
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: claralh@us.es

López López, Aránzazu
IMEDEA (CSIC – UIB)
Dpto. Ecología y Recursos Marinos
Miquel Marqués, 21
07190 Esporles (Islas Baleares)
E-mail: arantxa.lopez@uib.es

López Pascual, Cristina
Dpto. de Fisiología, Genética y
Microbiología
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03080 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: cris.lopez@ua.es

Luque Aznar, Rocío
Dpto. Microbiología. Fundación Medina
Avd. del Conocimiento, 3
Parque Tecnológico Ciencias de la Salud
18100 Armilla (Granada)
E-mail: rocio.luque@medinaandalucia.es

Llamas Company, Inmaculada
Dpto. de Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n.
18071 Granada
E-mail: illamas@ugr.es

M

Marín Palma, Irma
Dpto. Biología Molecular
Universidad Autónoma de Madrid
Calle Darwin, 2
28049 Cantoblanco (Madrid)
E-mail: imarin@cbm.uam.es

Martín Cuadrado, Ana Belén
Dpto. Producción Vegetal y Microbiología
Universidad Miguel Hernández
Apto. 18, Edf. Departamental
03550 San Juan de Alicante (Alicante)
E-mail: amartin@umh.es

Martínez-Checa Barrero, Fernando
Dpto. de Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n.
18071 Granada
E-mail: fmcheca@ugr.es

Martínez García, Manuel
Dpto. de Fisiología, Genética y
Microbiología
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03080 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: m.martinez@ua.es

Mellini, Lara
Dpto. de Agroquímica y Bioquímica
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03690 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: lara.mellini@gmail.com

Mora Ruiz Merit del Rocío
IMEDEA (CSIC – UIB)
Dpto. Ecología y Recursos Marinos
Miquel Marqués, 21
07190 Esporles (Islas Baleares)
E-mail:

Muñoz Jiménez, Raúl
IMEDEA (CSIC – UIB)
Dpto. Ecología y Recursos Marinos
Miquel Marqués, 21
07190 Esporles (Islas Baleares)
E-mail: raul@imedea.uib-csic.es

Muñoz Segovia, Camilo
Instituto de Recursos Naturales y
Agrobiología (CSIC)
Avd. Reina Mercedes, 10
41012 Sevilla
E-mail: kmllo.ms@gmail.com

N

Nieto Gutiérrez, Joaquín José
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: jjnieto@us.es

O

Ortíz Álvarez, Rudiger
Instituto de Recursos Naturales,
Centro de Ciencias Medioambientales
CCMA-CSIC
C/ Serrano, 115
28006 Madrid
E-mail: rudigerortiz@gmail.com

Q

Quesada Arroquia, Emilia
Dpto. de Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n
18071 Granada
E-mail: equesada@ugr.es

R

Ramos Barbero, M^a Dolores
Dpto. de Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n
18071 Granada
E-mail: afsoles@hotmail.com

Reche Cañabate, Isabel
Dpto. de Ecología, Facultad de Ciencias
Avd. Fuentenueva, s/n, 18071 Granada
E-mail: ireche@ugr.es

Rodríguez Valera, Francisco
Dpto. Producción Vegetal y Microbiología
Universidad Miguel Hernández
Apto. 18, Edf. Departamental
03550 San Juan de Alicante (Alicante)
E-mail: frvalera@umh.es

Rosselló Mora, Ramón
IMEDEA (CSIC – UIB)
Dpto. Ecología y Recursos Marinos
Miquel Marqués, 21
07190 Esporles (Islas Baleares)
E-mail: rossello-mora@uib.es

Rua Rodríguez, M^a Luisa
Dpto. Química Analítica y Alimentaria
Universidad de Vigo
Edf. Politécnico. As Lagoas
32004 Ourense
E-mail: mlrua@uvigo.es

Ruiz de la Haba, Rafael
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: rrh@us.es

S

S. Da Costa, Milton
Department of Life Sciences
University of Coimbra
3001-401 Coimbra (Portugal)
E-mail: milton@ci.uc.pt

Sánchez-Porro Álvarez, Cristina
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
Prof. García González, 2
41012 Sevilla

E-mail: sanpor@us.es

Santos Sánchez, Fernando
Dpto. de Fisiología, Genética y
Microbiología
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03080 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: fernando.santos@ua.es

Sara Díaz Moya, Ana
IMEDEA (CSIC – UIB)
Dpto. Ecología y Recursos Marinos
Miquel Marqués, 21
07190 Esporles (Islas Baleares)
E-mail: sara.diazmoya@yahoo.es

Soley Astals, Albert
Lipotec SAU
Isaac Peral, 17, Pol, Ind. Camí Ral
08850 Gavá (Barcelona)
E-mail: asoley@lipotec.com

T

Tahrioui, Ali
Dpto. de Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n
18071 Granada
E-mail: tahrioui@hotmail.com

Torres Béjar, Marta
Dpto. Microbiología, Facultad de
Farmacia
Campus de Cartuja, s/n
18071 Granada
E-mail: martatb@correo.ugr.es

V

Vegara Luque, Ana
Dpto. de Agroquímica y Bioquímica
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03690 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: avl10@alu.ua.es

Ventosa Uceró, Antonio
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: ventosa@us.es

Vera Gargallo, Blanca
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: blancaverag@gmail.com

Vera Gargallo, Joaquín
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia
C/ Prof. García González, 2
41012 Sevilla
E-mail: joaquinveragargallo@gmail.com

Villamor Serrano, Judith
Dpto. de Fisiología, Genética y
Microbiología
Universidad de Alicante
Crtra. San Vicente, s/n
03080 San Vicente del Raspeig (Alicante)
E-mail: juditvillamor@ua.es

Viver Pizá, Tomeu
IMEDEA (CSIC – UIB)
Dpto. Ecología y Recursos Marinos
Miquel Marqués, 21
07190 Esporles (Islas Baleares)
E-mail: tviver@imedea.uib-csic.es

NOTAS :

NOTAS :

NOTAS :

NOTAS :