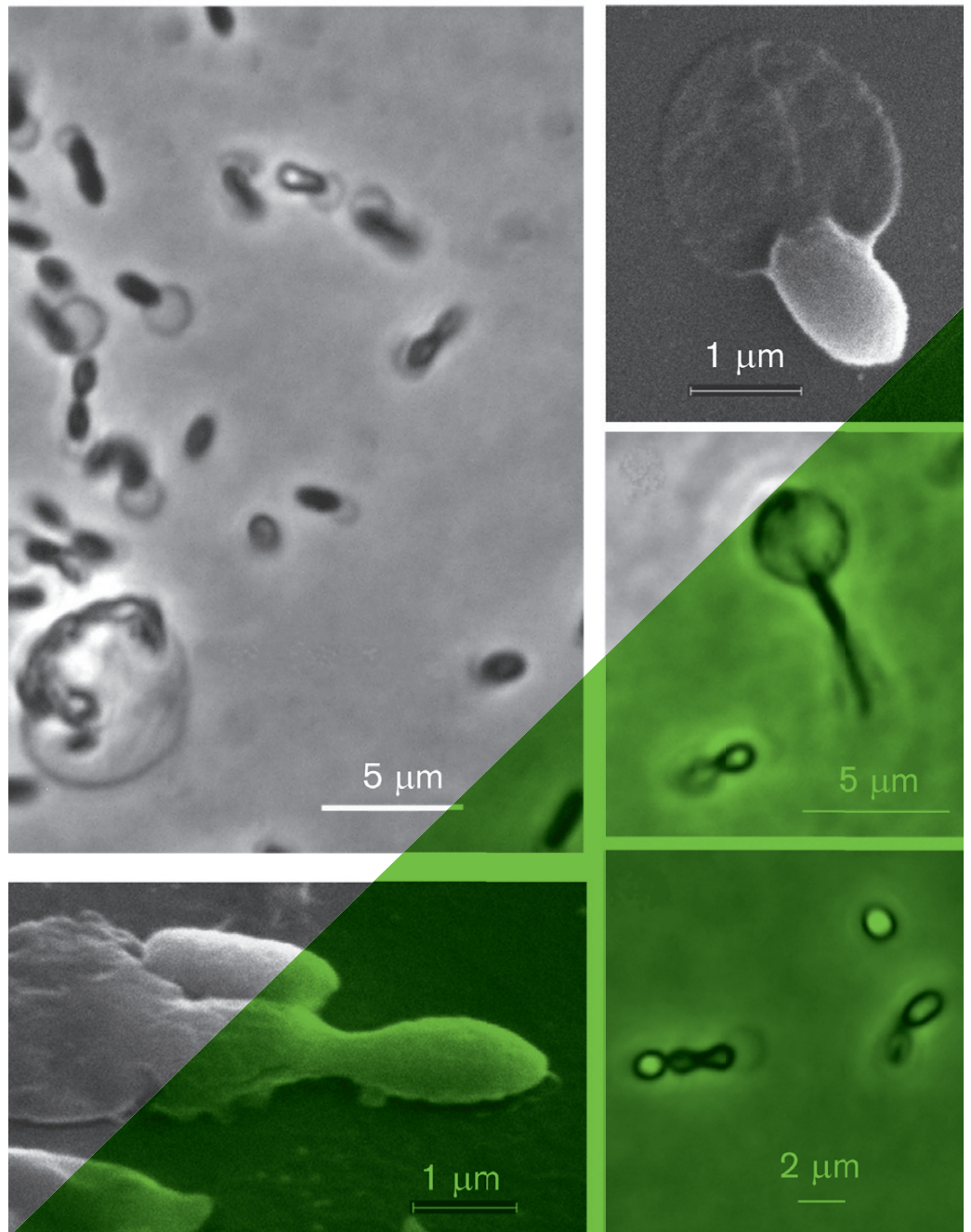
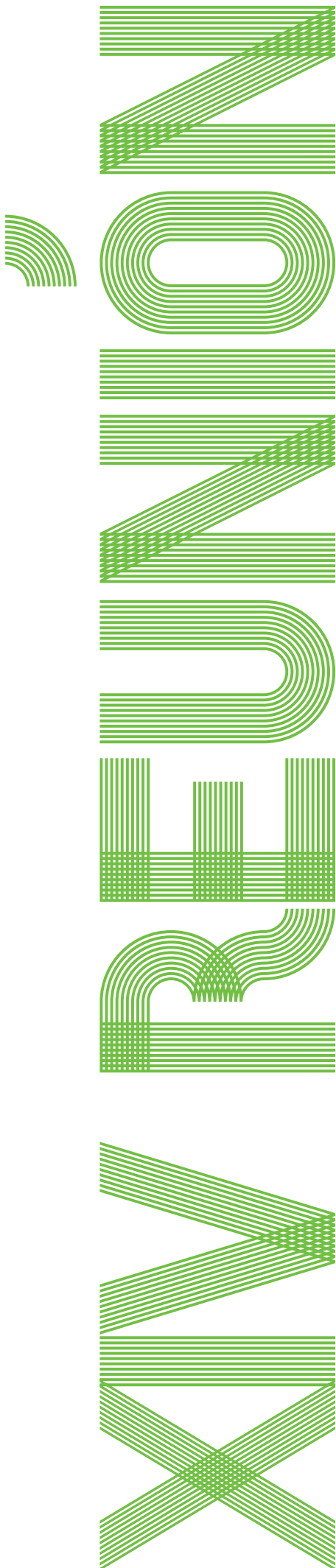


# PROGRAMA CIENTÍFICO Y COMUNICACIONES

## Red Nacional de Microorganismos Extremófilos (RedEX)

3 y 4 de noviembre de 2017  
Balneario de Lajas (Ourense)





## **ÍNDICE GENERAL**

PROGRAMA CIENTÍFICO Y SOCIAL	5
ÍNDICE DE RESÚMENES	9
RESÚMENES	11
ÍNDICE DE AUTORES	45



## **BIENVENIDA**

Estimados colegas,

Un año más nos reunimos para celebrar la Reunión de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos, que ya hace el número XIV. Para nosotros es un privilegio organizarla por primera vez en Galicia y en particular en la provincia de Ourense cuya capital, de nombre homónimo, tiene un origen histórico íntimamente ligado a la presencia de aguas termales en su geografía. Ya desde épocas antiguas atrajo a peregrinos en busca de las propiedades sanadoras de sus aguas y es nuestro interés hacerlas conocidas también por ser hábitat de los seres vivos que son objeto de estudio común de los integrantes de la Red de Microorganismos Extremófilos.

Por otro lado, hemos querido aprovechar esta ocasión tan señalada para invitar a la Reunión de la Red al sector biotecnológico gallego, gran parte de él agrupado en el Clúster Tecnológico Empresarial de las Ciencias de la Vida (BIOGA) y representado en este ocasión por su presidenta la Dra. Carme Pampín.

Esperamos que disfrutéis del lugar que hemos elegido para reunirnos: el balneario de Laias, a 15 kilómetros de la ciudad de Ourense, un lugar mágico a orillas del Río Miño con atardeceres fantásticos que invitan a la reflexión serena tan necesaria para fomentar la discusión científica y promover la creatividad.

Bienvenidos a Ourense y esperamos que disfrutéis de la Reunión.

**Responsable de la organización:**

María Luisa Rúa Rodríguez

Laboratorio de Bioquímica

Departamento de Química Analítica y Alimentaria

Dirección postal: Facultad de Ciencias de Ourense. As Lagoas s/n. 32004

Teléfono: 988 387062

Fax: 988 387062

Correo electrónico: mlrua@uvigo.es

**Comité organizador:**

María Luisa Rúa Rodríguez

Ana Torrado Agrasar

Alberto Rellán López

Clara Fuciños González

Natalia Estévez Telle

María E. Álvarez Cao

Diseño portada y cartelería: Tania Sueiro. Área de Imaxe da Universidade de Vigo.

Foto portada cortesía de Dr. Juan Miguel González Grau. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (CSIC).

Logotipo REDEX: Empar Rossello. [www.artega.net](http://www.artega.net)

**PROGRAMA CIENTÍFICO Y SOCIAL**

**2 Noviembre 2017**

20:00-21:00 Conferencia de Ricardo Amils. Vida en el lado oscuro: geomicrobiología del subsuelo. Centro Cultural "Marcos Valcárcel".

21:30 Traslado en Autobús al balneario de Lajas. Ourense

**3 Noviembre 2017**

9:30-10:15 Entrega de documentación

10:15-10:30 BIENVENIDA Y PRESENTACIÓN

SESIÓN VIERNES MAÑANA I (Moderadora: Cristina Escudero)

*Presentación*

*Ponente*

10:30-10:45	P1. Estudio de la ecología microbiana y aislamiento de microorganismos del Salar de Uyuni.	José Manuel Martínez
10:45-11:00	P2. DNA extracelular en ambientes hipersalinos	Borja Aldeguer
11:00-11:15	P3. Identificación y diversidad de chalconas isomerasas microbianas	Elena Puerta-Fernández
11:15-11:30	P4. Actividad microbiana en suelos: Temperatura y contenido hídrico	José A. Delgado

11:30-12:00 CAFÉ

SESIÓN VIERNES MAÑANA II (Moderadora: Ana Luisa Lopes Ribeiro)

*Presentación*

*Ponente*

12:00-12:15	P5. Microbiogeografía de comunidades endolíticas del desierto de Atacama: el efecto de la arquitectura del microhábitat en su composición y estructura	M.C. Casero
12:15-12:30	P6. Homeostasis del hierro en <i>Chromohalobacter salexigens</i> : relación con la osmo-y termoadaptación	Emilia Naranjo
12:30-12:35	P7. An overview on the biodiversity of planktonic protists and fungi in continental saline water bodies	Xavier Triadó-Margarit
12:35-12:50	P8. Estructura tridimensional de la lipasa Lip LipD11 a resolución atómica	Rivera I.
12:50-13:05	P9. Interacciones <i>in vivo</i> en la bacteria halófila <i>Chromohalobacter salexigens</i> : el sistema de dos componentes EupK/EupR.	Rosa García-Valero
13:05-13:20	P10. Comparative phylogenetic characterization of hypersaline sediments in regard to core fractions by taxonomic analysis of 16S rRNA gene	Francisca Font-Verdera
13:20-13:35	P11. Filogenómica y genómica comparativa del género <i>Salinivibrio</i>	Rafael R. de la Haba

14:00-16:00 COMIDA

SESIÓN VIERNES TARDE I (Moderadora: Montserrat Argandoña Bertrán)

	<i>Presentación</i>	<i>Ponente</i>
16:00-16:15	P12. Actividad enzimática extracelular en suelos en condiciones extremas de temperatura y	Enrique J. Gómez
16:15-16:20	P13. Crecimiento de <i>Thermus thermophilus</i> y cribado enzimático a alta temperatura en micro-gotas de agua en aceite	Mercedes Sánchez
16:20-16:35	P14. Búsqueda de genes que confieren resistencia a radiación UV en metagenomas de ambientes hipersalinos	María Lamprecht
16:35-16:40	P15. Búsqueda de hidrolasas termófilas mediante metagenómica funcional y basada en secuencia	Juan José Escuder Rodríguez
16:40-16:55	P16. Proyecto Gollum: Comunidades microbianas en profundidad	Carlos P. Garay
16:55-17:10	P17. Correlación de Microscopía de Fluorescencia y Microscopía Raman para el estudio <i>in situ</i> de la geomicrobiología del subsuelo de la FPI	Cristina Escudero
17:10-17:15	P18. Búsqueda de nuevas beta-galactosidasas termófilas en las aguas termales de As Burgas	María Eugenia de Castro de Antonio
17:15-17:30	P19. La metaviroproteómica: una potente herramienta para la anotación de genes víricos	F. Santos
17:30-18:00	CAFÉ	

SESIÓN VIERNES TARDE II (Moderador: José Escuder Rodríguez)

	<i>Presentación</i>	<i>Ponente</i>
18:00-18:15	P20. Construcción de mutantes knockout de isoformas de glutamina sintetasa de <i>Haloferax mediterranei</i>	Verónica Rodríguez-Herrero
18:15-18:30	P21. Diversidad de hongos asociados a líquenes xerofíticos como nueva fuente de antimicrobianos	Victor González-Menéndez
18:30-18:35	P22. <i>Salinivibrio kushneri</i> sp. nov. basada en múltiples aislados y sinonimia entre <i>Salinivibrio proteolyticus</i> y <i>Salinivibrio costicola</i> subsp. <i>vallismortis</i>	Cristina Sánchez-Porro
18:35-18:40	P23. An <i>in vitro</i> system for the detection of thermostable enzymes with esterase activity	J. Bravo
18:40-18:45	P24. Composición, funcionalidad y novedad genética bacteriana en ambientes salinos de Monegros y Gallocanta	M. Menéndez-Serra

21:00-24:00 CENA Y FESTA GALEGA

4 Noviembre 2017

9:30-10:00 REUNIÓN DE DIRECTORES



SESIÓN SÁBADO MAÑANA I (Moderador: Rafael Ruíz de la Haba)

	<i>Presentación</i>	<i>Ponente</i>
10:00-10:15	P25. Caracterización de las cepas <i>Rhizobium selenitireducens</i> T2.30D-1.1 y <i>Rhizobium naphthalenivorans</i> T2.26MG-112.2 aisladas del subsuelo de la Faja Píritica Ibérica	Raquel García
10:15-10:30	P26. Microbial Life and Physicochemical Characteristics of Dalangtan Playa (Qaidam Basin, NW China) and Their Astrobiological Implications	Ting Huang
10:30-10:35	P27. Aproximación al estudio de la oxidación de arsenitos por microorganismos termófilos en Río Caldo	Roberto González
10:35-10:40	P28. Estudios de interacción proteína-DNA con la región promotora de la nitrato reductasa asimilativa de <i>Haloferax mediterranei</i>	Sandra Pastor-Soler
10:40-10:45	P29. Evaluation of the different NGS (Next-Generation Sequencing) platforms to implement the OPU approach	Sara Díaz Moyá
10:45-11:00	P30. Estudios dependientes de cultivo de arqueas y bacterias a partir de estanques con diferentes salinidades y de suelos salinos	Ana Durán-Viseras

11:00-11:30 CAFÉ

SESIÓN SÁBADO MAÑANA II (Xavier Triadó-Margarit)

	<i>Presentación</i>	<i>Ponente</i>
11:30-11:45	P31. Diseño <i>in silico</i> de cepas mejoradas en la producción de ectoína en la bacteria halófila <i>Chromohalobacter salexigens</i>	Lourdes Martínez-Martínez
11:45-11:50	P32. Thermostable <i>in vitro</i> transcription and translation for high-throughput selection of thermostable biocatalysts	Ana Luísa Ribeiro
11:50-12:05	P33. Development of an esterase/lipase activity assay at high temperature for droplet-based microfluidic platforms	Ana Torrado
12:05-12:20	P34. Explorando la reactividad de nuevas lipasas con una librería de sustratos cromogénicos	Jacobo Cruces
12:20-12:35	P35. Presentación del ecosistema BIOTEC gallego	Carme Pampín y Loli Pereiro
12:35-13:00	CLAUSURA Y DESPEDIDA	
13:00-14:45	COMIDA	
15:00	Traslado en Autobús al "Parque Arqueológico da Cultura Castrexa Lansbrica"	



## RESÚMENES

P1. Estudio de la ecología microbiana y aislamiento de microorganismos del Salar de Uyuni.	11
P2. DNA extracelular en ambientes hipersalinos	12
P3. Identificación y diversidad de chalconas isomerasas microbianas	13
P4. Actividad microbiana en suelos: Temperatura y contenido hídrico	14
P5. Microbiogeografía de comunidades endolíticas del desierto de Atacama: el efecto de la arquitectura del microhábitat en su composición y estructura	15
P6. Homeostasis del hierro en <i>Chromohalobacter salexigens</i> : relación con la osmo-y termoadaptación	16
P7. An overview on the biodiversity of planktonic protists and fungi in continental saline water bodies	17
P8. Estructura tridimensional de la lipasa Lip LipD11 a resolución atómica	18
P9. Interacciones <i>in vivo</i> en la bacteria halófila <i>Chromohalobacter salexigens</i> : el sistema de dos componentes EupK/EupR.	19
P10. Comparative phylogenetic characterization of hypersaline sediments in regard to core fractions by taxonomic analysis of 16S rRNA gene	20
P11. Filogenómica y genómica comparativa del género <i>Salinivibrio</i>	21
P12. Actividad enzimática extracelular en suelos en condiciones extremas de temperatura y desecación	22
P13. Crecimiento de <i>Thermus thermophilus</i> y cribado enzimático a alta temperatura en microgotas de agua en aceite	23
P14. Búsqueda de genes que confieren resistencia a radiación UV en metagenomas de ambientes hipersalinos	24
P15. Búsqueda de hidrolasas termófilas mediante metagenómica funcional y basada en secuencia	25
P16. Proyecto Gollum: Comunidades microbianas en profundidad	26
P17. Correlación de Microscopía de Fluorescencia y Microscopía Raman para el estudio <i>in situ</i> de la geomicrobiología del subsuelo de la FPI	27
P18. Búsqueda de nuevas beta-galactosidasas termófilas en las aguas termales de As Burgas	28
P19. La metaviroproteómica: una potente herramienta para la anotación de genes víricos	29
P20. Construcción de mutantes knockout de isoformas de glutamina sintetasa de <i>Haloferax mediterranei</i>	30
P21. Diversidad de hongos asociados a líquenes xerofíticos como nueva fuente de antimicrobianos	31
P22. <i>Salinivibrio kushneri</i> sp. nov. basada en múltiples aislados y sinonimia entre <i>Salinivibrio proteolyticus</i> y <i>Salinivibrio costicola</i> subsp. <i>vallismortis</i>	32
P23. An <i>in vitro</i> system for the detection of thermostable enzymes with esterase activity	33
P24. Composición, funcionalidad y novedad genética bacteriana en ambientes salinos de Monegros y Gallocanta	34
P25. Caracterización de las cepas <i>Rhizobium selenitireducens</i> T2.30D-1.1 y <i>Rhizobium naphthalenivorans</i> T2.26MG-112.2 aisladas del subsuelo de la Faja Píritica Ibérica	35
P26. Microbial Life and Physicochemical Characteristics of Dalangtan Playa (Qaidam Basin, NW China) and Their Astrobiological Implications	36

P27. Aproximación al estudio de la oxidación de arsenitos por microorganismos termófilos en Río Caldo	38
P28. Estudios de interacción proteína-DNA con la región promotora de la nitrato reductasa asimilativa de <i>Haloferax mediterranei</i>	39
P29. Evaluation of the different NGS (Next-Generation Sequencing) platforms to implement the OPU approach	40
P30. Estudios dependientes de cultivo de arqueas y bacterias a partir de estanques con diferentes salinidades y de suelos salinos	41
P31. Diseño <i>in silico</i> de cepas mejoradas en la producción de ectoína en la bacteria halófila <i>Chromohalobacter salexigens</i>	42
P32. Thermostable <i>in vitro</i> transcription and translation for high-throughput selection of thermostable biocatalysts	43
P33. Development of an esterase/lipase activity assay at high temperature for droplet-based microfluidic platforms	44

## P1. Estudio de la ecología microbiana y aislamiento de microorganismos del Salar de Uyuni.

José Manuel Martínez<sup>1</sup>, Cristina Escudero<sup>1</sup>, Nuria Rodríguez<sup>1,2</sup>, Ricardo Amils<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. España.

<sup>2</sup>Centro de Astrobiología (CSIC-INTA). Ctra de Ajalvir km 4, Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid. España.

E-mail: josemml92@gmail.com

El Salar de Uyuni (SdU) es un sistema hipersalino localizado al sur de la cuenca endorreica del Altiplano Boliviano a 3653 metros de altitud que se extiende a lo largo de 10582 Km<sup>2</sup>. El SdU es un ambiente atalasoalino que contiene la mayor cuenca evaporítica y la mayor reserva de litio estimada en la Tierra<sup>1</sup>. Se caracteriza por presentar condiciones extremas tales como alta salinidad, elevado grado de radiación UV y albedo (similares a los de Europa), extrema amplitud térmica diaria (-20 a 21 °C en la estación seca), precipitación media anual de 200 mm concentrada en el verano austral, potenciales redox considerados extremos, presencia de arsénico y agentes caotrópicos y la baja concentración de P<sup>4</sup>. Debido a la sucesión de periodos secos y húmedos, el aporte de agua desde Río Grande y el periódico desbordamiento del lago Titicaca se pueden identificar la alternancia de estratos de sal y de arcillas con acumulaciones de yesos<sup>2</sup>. Bajo la costra de sal superficial se encuentran salmueras oxicas o anoxicas y manantiales que están saturados en iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, además de agentes caotrópicos como MgCl<sub>2</sub> y LiCl<sup>1</sup>.

A pesar de que la diversidad microbiana en ambientes hipersalinos ha sido muy estudiada, la diversidad microbiana en el SdU aún no ha sido explorada convenientemente. Los resultados obtenidos mediante distintas técnicas (metagenómica e hibridación *in situ* fluorescente) en el presente estudio demuestran que microorganismos de los tres dominios de la vida están presentes en el SdU en un orden entre 10<sup>5</sup> y 10<sup>7</sup> microorganismos por mL o mg de sedimento, predominando las bacterias, en concreto el género *Salinibacter*. Además, entre los géneros más abundantes se encuentran el género *Woesearchaeota* y el género *Nanohaloarchaeota* pertenecientes al clado DPANN<sup>3</sup>. Por último, se han aislado 243 microorganismos de cuatro puntos de muestreo a distintas concentraciones de sal (3,5; 10; 20 y 35 % NaCl), de los cuales *Rhodovibrio sodomensis* es el más abundante y ha crecido a todas las concentraciones de sal y 7 de estos aislados han dado baja homología con microorganismos descritos.

**Palabras clave:** Salar de Uyuni, diversidad, DPANN, litio, magnesio.

### Bibliografía:

<sup>1</sup> An, J.W., Kang, D.J., Tran, K.T., Kim, M.J., Lim, T. y Tran, T., 2012. *Recovery of lithium from Uyuni salar brine*. Hydrometallurgy, 117, pp. 64-70.

<sup>2</sup> Baker, P.A., Rigsby, C.A., Seltzer, G.O., Fritz, S.C., Lowenstein, T.K., Bacher, N.P. y Veliz, C. (2001). *Tropical climate changes at millennial and orbital timescales on the Bolivian Altiplano*. Nature, 409(8), pp. 698-701.

<sup>3</sup> Castelle, C. J., Wrighton, K. C., Thomas, B. C., Hug, L. A., Brown, C. T., Wilkins, M. J., Frischkorn, K. R., Tringe, S. G., Singh, A., Markillie, L. M., Taylor, R. C., Williams, K. H. y Banfield, J. F. (2015). *Genomic expansion of domain archaea highlights roles for organisms from new phyla in anaerobic carbon cycling*. Current Biology, 25(6), 690-701.

<sup>4</sup> Rubin, S. S., Marín, I., Gómez, M. J., Morales, E. A., Zekker, I., San Martín, P., Rodríguez, N. & Amils, R. (2017). *Prokaryotic diversity and community composition in the Salar de Uyuni, a large scale, chaotopic salt flat*. Environmental Microbiology.

**Financiación:** Proyecto CGL2015 66242-R financiado por el MINECO.

## P2. DNA extracelular en ambientes hipersalinos

**Borja Aldeguer<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Dolores Ramos<sup>1</sup>, Cristina López<sup>1</sup>, Fernando Santos<sup>1</sup>,  
Manuel Martínez<sup>1</sup>, Ana Belén Martín-Cuadrado<sup>1</sup>, Josefa Antón<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante. Apartado 99 03080. Alicante. España.

E-mail: borja.aldeguer@ua.es

El DNA extracelular (eDNA) es, por su capacidad potencial como agente de transferencia génica, un componente natural de especial interés. Los sedimentos hipersalinos presentan las mayores concentraciones de DNA extracelular de todos los sistemas estudiados<sup>1</sup>, sin embargo no existen estudios en agua hipersalina. La salina Bras del Port de Santa Pola (Alicante) es uno de los ambientes hipersalinos mejor caracterizados microbiológicamente<sup>2</sup> y por ello es el sistema idóneo para el análisis del eDNA en agua con alta salinidad.

En este trabajo se determina la concentración y tamaño del DNA extracelular, que incluye los DNAs vírico y disuelto, en el cristizador CR30 de las salinas de Bras del Port. Los resultados indican que el DNA disuelto (dDNA) constituye aproximadamente el 50.5% del eDNA, y que este dDNA está constituido por fragmentos de 100-750 pb. La secuenciación masiva del dDNA revela que tiene origen celular principalmente, en concreto de arqueas, y por ello, probablemente, se produce o bien debido a una lisis específica de estas arqueas o por una liberación activa.

Además, se ha evaluado la capacidad protectora del dDNA disuelto frente a la radiación UV observándose que su presencia en el medio protege a la comunidad celular durante el tratamiento UV y favorece la recuperación tras la irradiación.

**Palabras clave:** DNA extracelular; DNA vírico; DNA disuelto; ambiente hipersalino; secuenciación masiva; radiación UV.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Danovaro, R., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Fabiano, M. and Corselli, C. (2005) 'Viruses, prokaryotes and DNA in the sediments of a deep-hypersaline anoxic basin (DHAB) of the Mediterranean Sea', *Environmental Microbiology*, 7(4): 586–592. doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00727.x.

<sup>2</sup> Ventosa, A., Fernández, A. B., León, M. J., Sánchez-Porro, C. and Rodríguez-Valera, F. (2014) 'The Santa Pola saltern as a model for studying the microbiota of hypersaline environments', *Extremophiles: life under extreme conditions*, 18: 811–824. doi: 10.1007/s00792-014-0681-6.

**Financiación:** Proyecto CGL2015-66686-C3-3-P del MINECO.

## P3. Identificación y diversidad de chalconas isomerasas microbianas

**Elena Puerta-Fernández y Juan M. González**

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (CSIC). Av. Reina Mercedes, 10. 41012. Sevilla

E-mail: elena.puerta@irnas.csic.es; jmgrau@irnase.csic.es

Los isómeros son moléculas que, aún teniendo la misma composición atómica, presentan estructuras químicas diferentes. Los distintos isómeros de una misma molécula pueden presentar características funcionales únicas, de modo que la obtención de uno u otro isómero en un proceso industrial puede determinar su uso y, por tanto, afectar dicho proceso. Las enzimas que catalizan la conversión de isómeros entre diferentes formas isoméricas se denominan isomerasas. Conseguir isomerasas robustas, capaces de funcionar a altas temperaturas, puede ser de gran interés para aquellos procesos industriales en los que es imprescindible disponer de un isómero concreto, que puede ser el precursor único de una reacción determinante en el proceso industrial, o bien poco abundante en la Naturaleza. Una isomerasa de interés es la chalcona isomerasa. Esta enzima cataliza el primer paso para la síntesis de una serie de productos relevantes para la industria, tales como flavonoides, flebofenos y taninos, colorantes naturales con propiedades antioxidantes, utilizados en alimentación, cosmética y medicina, y cuya síntesis química es actualmente muy costosa. Las chalconas isomerasas eran enzimas descritas únicamente en plantas hasta 2004, año en el que se identificaron bioinformáticamente chalconas isomerasas en bacterias y levaduras<sup>1</sup>, y se demostró su actividad en una proteína de *Eubacterium ramulus*<sup>2</sup>. Nosotros hemos identificado bioinformáticamente chalconas isomerasas en varios grupos microbianos. Estudios preliminares permiten definir tres tipos de chalconas isomerasas en procariotas, que se distribuyen diferencialmente en distintos grupos bacterianos y en arqueas. Asimismo, hemos identificado potenciales chalconas isomerasas en organismos termófilos, con el interés industrial que este hallazgo supone. Actualmente estamos trabajando en demostrar experimentalmente la actividad chalcona isomerasa de los tres tipos de proteínas análogas identificadas, así como caracterizar y comparar dicha actividad en distintas condiciones de temperatura y pH.

**Palabras clave:** isómeros, isomerasas, chalconas isomerasas, termófilos.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Gensheimer, M., and Mushegian, A. 2004. *Chalcone isomerase family and fold: No longer unique to plants*. Protein Science **13**: 540-544

<sup>2</sup> Herles, C., Braune, A. and Blaut, M. 2004. *First bacterial chalcone isomerase isolated from Eubacterium ramulus*. Arch Microbiol **181**: 428-434

**Financiación:** Thermostable isomerase Processes for Biotechnology, ERA-IB-16-049, PCIN-2016-129.

## P4. Actividad microbiana en suelos: Temperatura y contenido hídrico

**José A. Delgado<sup>1</sup>, Enrique Gómez<sup>1</sup>, Juan M. González<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Recursos Naturales Y Agrobiología de Sevilla, IRNAS-CSIC, Av. Reina Mercedes, 10, E-41012, Sevilla, España.

E-mail: [jadalgado@irnas.csic.es](mailto:jadalgado@irnas.csic.es), [juan.gonzalez@csic.es](mailto:juan.gonzalez@csic.es)

El estudio de la actividad microbiana en la superficie de los suelos es de vital importancia para entender los ciclos biogeoquímicos. La superficie del suelo está expuesta a cambios drásticos de temperatura y humedad a lo largo del tiempo. Los microorganismos sobreviven y adaptan su actividad a las condiciones ambientales existentes. La presencia de microorganismos termófilos en suelos es bien conocida<sup>1</sup> y se ha propuesto que se encuentran en fase vegetativa durante periodos a temperaturas bajas en los suelos<sup>2</sup>. Esta flexibilidad sugiere que los microorganismos pueden permanecer activos en un amplio rango de condiciones ambientales<sup>3</sup>, lo que indicaría una importante contribución de los microorganismos termófilos a los procesos biogeoquímicos del suelo.

Para determinar la actividad de los microorganismos termófilos, comparativamente a la de los mesófilos, en muestras ambientales en función del contenido hídrico y temperatura se midieron las tasas netas de respiración aeróbica en oscuridad mediante un sistema de microrespiración (Unisense) con electrodos de O<sub>2</sub>.

Las tasas de respiración neta medidas a 60°C y elevada humedad son significativas en suelos invernales. Esto indica que los microorganismos termófilos se encuentran activos incluso a bajas temperaturas. En verano, cuando los suelos presentan bajo contenido hídrico y temperaturas elevadas, a 60°C se observa una tasa neta de producción de O<sub>2</sub> mientras que a 20°C se sigue obteniendo respiración neta (consumo de O<sub>2</sub>). Las medidas de O<sub>2</sub> indican la existencia de actividad microbiana incluso a contenidos hídricos por debajo del límite establecido para el crecimiento bacteriano.

Estos datos contribuyen a comprender el papel de los microorganismos en suelos, y en especial de termófilos y xerófilos, en función de la temperatura y el contenido hídrico y sus posibles implicaciones, por ejemplo, en relación al cambio climático<sup>4</sup>.

**Palabras clave:** actividad microbiana, respiración, contenido hídrico, temperatura, suelo.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Portillo, MC, Santana, MM, González, JM. 2012. Presence and potencial role of thermophilic bacteria in temperate terrestrial environments. *Naturwissenschaften* 99: 43-53

<sup>2</sup> Marchant, R, Banat, IM, Rahman, TJ, Berzano, M. 2002. The frequency and characteristics of highly thermophilic bacteria in cool soil environments. *Environmental Microbiology* 4:596-602

<sup>3</sup> Santana, MM, González, JM. 2015. High temperature microbial activity in upper soil layers. *FEMS Microbiology Letters* 362: 1-4

<sup>4</sup> Davidson, EA, Janssens LA. 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440: 165-173

**Financiación:** Proyectos CGL2014-58762-P del MINECO y RNM2529 de la Junta de Andalucía.



## **P5. Microbiogeografía de comunidades endolíticas del desierto de Atacama: el efecto de la arquitectura del microhábitat en su composición y estructura**

**M.C. Casero<sup>1</sup>, C. Ascaso<sup>1</sup>, J. DiRuggiero<sup>2</sup>, V. Meslier<sup>2</sup>, O. Artieda<sup>3</sup>, A. Quesada<sup>4</sup> y J. Wierzchos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, 28006, Madrid, España

<sup>2</sup>Johns Hopkins University, 21218, Baltimore, MD, EE.UU.

<sup>3</sup>Universidad de Extremadura 10600, Plasencia, España.

<sup>4</sup>Universidad Autónoma de Madrid, 28049, Madrid, España.

E-mail: [mcristina.casero@mncn.csic.es](mailto:mcristina.casero@mncn.csic.es)

El desierto de Atacama (Chile) es uno de los lugares más inhóspitos de la Tierra, y por lo tanto un perfecto laboratorio natural para explorar las estrategias desarrolladas por los microorganismos para adaptarse a la extrema hiperaridez, la alta radiación solar y los bruscos cambios de temperatura. Bajo este ambiente poliextremo, los hábitats endolíticos (en el interior de las rocas) son considerados el último refugio para la vida. Hasta hoy se han caracterizado varias comunidades microbianas endolíticas en la zona hiperárida de este desierto colonizando halitas, yesos, calcitas e ignimbritas. En este trabajo se describen 3 microhábitats endolíticos distintos pero dentro de un único sustrato lítico, el yeso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Este sustrato alberga los siguientes microhábitats: criptoendolítico (poros bajo la superficie de la roca), casmoendolítico (fisuras) e hipoendolítico (microcuevas en la parte más inferior de la roca). En este estudio se usaron microscopía electrónica de barrido en modo de electrones retrodispersados (SEM-BSE), tomografía computerizada (CT-Scan) y secuenciación masiva para la caracterización de las comunidades endolíticas en los diferentes microhábitats en el mismo sustrato lítico. Se han mostrado claras diferencias en la arquitectura de los microhábitats endolíticos y en la distribución de los microorganismos en los mismos. Postulamos que la diferencia en la arquitectura de los microhábitats tiene un impacto significativo en la capacidad de retención de agua y por tanto en la disponibilidad de la misma y en la protección de los microorganismos frente a la radiación UV y PAR. El uso de Illumina-MiSeq sobre el gen 16S rRNA permitió determinar la composición y diversidad de las comunidades en función del microhábitat. Cianobacteria y Proteobacteria fueron los dos filos mayoritarios abarcando el 65-73% de las comunidades, mientras que Actinobacteria fue el tercer filo en abundancia. La comunidad hipoendolítica mostró la menor diversidad. Nuestros resultados muestran por primera vez cómo la arquitectura habitable del microhábitat, incluso dentro del mismo fragmento de sustrato, puede ser un conductor esencial determinando la diversidad y composición de las comunidades.

**Palabras clave:** desierto de Atacama; comunidades endolíticas, microbiogeografía.

**Financiación:** Proyecto CGL2013-42509-P del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad.

## P6. Homeostasis del hierro en *Chromohalobacter salexigens*: relación con la osmo-y termoadaptación

**Emilia Naranjo<sup>1</sup>, Montserrat Argandoña<sup>1</sup>, Manuel Salvador<sup>2</sup>, Ali Tahrioui<sup>1</sup>, Francine Piubeli<sup>1</sup>, Rosa García-Valero<sup>1</sup>, Lourdes Martínez-Martínez<sup>1</sup>, Carmen Vargas<sup>1</sup>, Joaquín J. Nieto<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla, 41012 Sevilla

<sup>2</sup>University of Surrey, Faculty of Health and Medical Sciences, United Kingdom

E-mail: eminaranjo@us.es

*Chromohalobacter salexigens* es una bacteria extremófila modelo de máximo interés y aplicabilidad en Biotecnología, ya que sintetiza los solutos compatibles ectoína e hidroxiectoína, compuestos bioestabilizadores con potenciales aplicaciones en el campo de la Biomedicina, entre otros. Se sabe que la homeostasis del hierro en esta bacteria está directamente relacionada con su capacidad de adaptación al estrés osmótico y por lo tanto, con la síntesis de ectoínas. *C. salexigens* posee dos parálogos pertenecientes a la superfamilia Fur, Fur1<sup>1</sup> y Fur2, que por resultados anteriores se sabe que intervienen en el control de la homeostasis del hierro y en la síntesis de ectoínas. Un análisis de la respuesta transcripcional global de *C. salexigens* frente a estrés osmótico y térmico mediante RNA-seq reveló la existencia de mecanismos osmo- y termo-adaptativos implicados en la homeostasis del hierro así como su posible conexión con la síntesis de ectoínas.

En este estudio se han llevado a cabo diversos experimentos relacionados con la homeostasis del hierro y la síntesis de ectoínas para poder confirmar nuestros datos previos de transcriptómica diferencial con esta bacteria. Para ello, se han realizado ensayos CAS de producción de sideróforos, y se ha determinado el contenido intracelular de hierro por ICP-OES. Además, se ha cuantificado los niveles de expresión de los genes implicados en la síntesis de ectoína (*ectABC*) e hidroxiectoína (*ectD* y *ectE*), así como el contenido intracelular de las mismas mediante HPLC-MS, en las mismas condiciones experimentales que las muestras obtenidas para RNA-seq, y también en condiciones de aporte de hierro.

Nuestros resultados indican que a elevada temperatura intervienen sistemas de fijación de hierro independientes de los sideróforos, y responsables de su homeostasis. Además, el contenido intracelular de hierro, la salinidad y la temperatura influyen tanto en la expresión de los genes de síntesis de ectoínas como en su acumulación intracelular. Todo ello sugiere que los mecanismos responsables de asimilación de hierro en este extremófilo son muy complejos y diversos y que se encuentran regulados por la salinidad y la temperatura, siendo relevantes para la acumulación intracelular de las ectoínas.

**Palabras clave:** homeostasis del hierro, regulador global FUR, RNA-seq, ectoínas.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Argandoña et al. (2010). Appl Environ Microbiol.76 (11):3575-89.

**Financiación:** BIO2015-63949-R (MINECO/FEDER, UE), Beca PIF Universidad de Sevilla.

## **P7. An overview on the biodiversity of planktonic protists and fungi in continental saline water bodies**

**Xavier Triadó-Margarit<sup>1</sup>, Mateu Menéndez-Serra and Emilio O. Casamayor<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Integrative Freshwater Ecology Group, Centre of Advanced Studies of Blanes, CEAB-CSIC, Spanish Council for Scientific Research, Accés Cala St. Francesc 14, E-17300 Blanes, Spain.*

*E-mail: xtriado@ceab.csic.es*

Eukaryal microorganisms, which comprise widely distributed autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic microscopic eukaryotes are an essential component of microbial food webs and have a key role in global biogeochemical cycles. They have a high degree of structural and metabolic diversity and have been traditionally studied by morphological criteria. The recurrent observation of the same morphotypes in aquatic systems from different localities had led to the concept that the global species richness of eukaryotic representatives could be relatively low. However, more recent environmental genetic surveys indicate that diversity of small protists (<50 microns) and fungi is larger than previously expected. We studied the genetic diversity and ecological distribution of eukaryal microbes inhabiting saline wetlands, covering a wide range of environmental conditions. The genetic richness found was unexpectedly high and the 18S rRNA gene sequences spread within most of the high-rank taxonomic groups and grouped in many eukaryal classes with consistent segregation of ecological strategies. Multivariate analysis of a spatio-temporal dataset showed a pattern of sample distribution in relation to a gradient of salinity. Here, eukaryal communities presented significant differences in composition and structure along the salinity gradient, revealing significant breakpoints on the changing rate of communities. This study unveils inland waters as an important reservoir of unknown microbial eukaryotic biodiversity<sup>1</sup>.

**Palabras clave:** diversity; hypersaline; inland waters; microeukaryotes; protist; saline.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Xavier Triadó-Margarit, Emilio O. Casamayor. 2013. *High genetic diversity and novelty in planktonic protists inhabiting inland and coastal high salinity water bodies*, FEMS Microbiology Ecology, **85 (1):27–36**, <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12095>

**Financiación:** Proyecto BRIDGES de MINECO – fondos FEDER (Ref. CGL2015-69043-P).

## P8. Estructura tridimensional de la lipasa Lip LipD11 a resolución atómica

**Rivera I.<sup>1</sup>, Rajkovic J.<sup>2</sup>, Torrado A.<sup>2</sup>, Rúa M.L.<sup>2</sup>, Hermoso J.A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Cristalografía y Biología Estructural. Instituto de Química Física Rocasolano (IQFR). Serrano 119. 28006. Madrid, España.

<sup>2</sup>Departamento de Química Analítica y Alimentaria. Universidad de Vigo. As Lagoas s/n 32004. Ourense, España.

E-mail: ivannaiq@gmail.com

Las lipasas están definidas como triacilglicerol acil hidrolasas capaces de hidrolizar los enlaces ester de acilglicérol de cadena larga<sup>1</sup>. Así mismo, bajo ciertas condiciones estas enzimas también son capaces de llevar a cabo la síntesis de diversas reacciones como esterificación, transesterificación y aminólisis<sup>2</sup>.

Uno de los principales inconvenientes para la aplicación de estas enzimas es la estabilidad (termoestabilidad, estabilidad a pH, estabilidad a solventes), por lo que la obtención de proteínas con propiedades mejoradas es un tema de gran interés. Las bacterias presentes en fuentes extremófilas proporcionan de modo natural este tipo de proteínas sin necesidad de modificaciones genéticas. Además, el estudio y resolución estructural de este tipo de enzimas termoresistentes es esencial para la identificación de elementos clave para la obtención de estas propiedades y las implicaciones estructurales de las mismas.

En este trabajo se ha resuelto la estructura tridimensional a resolución atómica de la Lipasa LipD11 a partir de una librería metagenómica. Esta proteína presenta 57% de identidad de secuencia con la HSL esterasa E40 (código PDB 4XVC). La estructura cristalográfica de esta proteína ha sido obtenida tanto en su forma apo como para un mutante inactivo (Ser144Ala) ambas con altísima resolución (1.1 y 1.3 Å, respectivamente). La estructura tridimensional de la proteína está constituida por 6 hojas plegadas  $\beta$  de tipo paralela, una antiparalela y 8  $\alpha$ -hélices. El sitio activo se encuentra formado por la tríada catalítica típica de las Serina-proteasas y está formada por los aminoácidos Ser 144, His 268 y Glu 238. La cavidad catalítica se encuentra ocluida y presenta unas características particulares en cuanto a su potencial electrostático directamente relacionadas con su actividad funcional.

**Palabras clave:** Lipasa, estructura tridimensional, extremófilos.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Casas-Godoy L, S Duquesne s, F Bordes F, G Sandoval G, A Marty A. 2012. *Lipasas: an overview*. In: *Methods in molecular biology, Lipases and phospholipases*, G. Sandoval editor, 861, Springerlink., pp. 3-30

<sup>2</sup> Villeneuve MJ, Graille P, Michael H, 2000. *Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches*, J. Mol. Catal. B: Enzym. **9**: 113 – 148

## **P9. Interacciones *in vivo* en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*: el sistema de dos componentes EupK/EupR.**

**Rosa García-Valero<sup>1</sup>, Montserrat Argandoña<sup>1</sup>, Diana Wolf<sup>2</sup>, Francine Piubeli<sup>1</sup>, Emilia Naranjo<sup>1</sup>, Lourdes Martínez-Martínez<sup>1</sup>, Joaquín J. Nieto<sup>1</sup>, Thorsten Masher<sup>2</sup> y Carmen Vargas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla, 41012 Sevilla, España.

<sup>2</sup>Institute of Microbiology, Technische Universität Dresden, 01062 Dresden, Germany.

E-mail: rgarcia5@us.es

*Chromohalobacter salexigens* es una bacteria halófila capaz de crecer en un amplio rango de salinidades. Su principal estrategia de osmoadaptación es la acumulación citoplasmática de las ectoínas, osmolitos con gran interés industrial y biomédico. Para coordinar estos procesos, las células están equipadas con diferentes sistemas y mecanismos de osmodetección y transducción de señales, que inducen la respuesta celular necesaria para adaptarse a estas condiciones cambiantes en la salinidad externa. Estos mecanismos de transducción de señales no se han descrito en profundidad en bacterias halófilas. Anteriormente se ha caracterizado fenotípicamente un sistema de dos componentes, EupK/EupR, implicado en la osmoadaptación y el metabolismo de esta bacteria, mediante el control de la síntesis, degradación y la captación de ectoínas.

En el presente estudio se pretende confirmar la interacción proteína-proteína *in vivo* entre la histidina quinasa EupK y su regulador de respuesta EupR. Para ello, en primer lugar se realizaron experimentos de BACTH para determinar las posibles interacciones proteína-proteína en un sistema heretólogo (*E. coli*), en distintas condiciones de salinidad y fuente de carbono. Posteriormente se han iniciado estudios de interacción en *C. salexigens* mediante el uso de Membrane-SPINE<sup>2</sup> a 2.5M de NaCl y glucosa como única fuente de carbono, modificando el plásmido pMP92 para expresar las proteínas marcadas. La posterior purificación y análisis de las posibles interacciones proteína-proteína se ha realizado mediante un ensayo de co-inmunoprecipitación y Western-Blot. Los resultados preliminares demuestran la interacción entre EupK y EupR y revelan la presencia de otras proteínas que interactúan con este sistema de regulación, sugiriendo que el sistema EupK/EupR probablemente forma parte de una compleja red de regulación cruzada.

**Palabras clave:** ectoínas, interacción proteína-proteína, regulación cruzada.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Müller, V. S., Tschäuner, K., Hunke, S. (2013) J. Vis. Exp. (81), e50810.

**Financiación:** BIO2015-63949-R (MINECO/FEDER, UE), ERASMUS+, Beca PIF Universidad de Sevilla.

## **P10. Comparative phylogenetic characterization of hypersaline sediments in regard to core fractions by taxonomic analysis of 16S rRNA gene**

**Francisca Font-Verdera, Ramon Rosselló-Móra**

*Marine Microbiology Group (MMG), Ecology and Marine Resources Department, Mediterranean Institute of Advanced Studies (IMEDEA, UIB-CSIC), Spain.*

*E-mail: xfont@imedea.uib-csic.es*

The sediments underlying brines in s'Avall (Colònia Sant Jordi, Balearic Islands) contain an important population of putative methanogenic microorganisms and in special some belonging to candidate taxa MSBL1, which it is hypothesized to be involved in methanogenesis at high salinities<sup>1,2</sup>. Methanogenesis generated by extreme halophilic microorganisms seems to be understudied and to have an important biotechnological potential due to the significant high yields of methane production<sup>3</sup>.

Here, preliminary results of the comparative phylogenetic analysis of the sediments of origin regarding core fractions by taxonomic analysis of 16S rRNA gene are presented. The sediment samples were collected in cores, which were equally divided in three parts. Microbial DNA extraction and PCR amplification were performed for *Bacteria* and *Archaea*. Samples were sequenced using 454-pyrotagging technology, data was trimmed and chimeras were removed. Sequences were clustered in OTUs at 99%, whose representatives were grouped in OPUs by phylogenetic inference.

In all fractions an elevated diversity for *Bacteria* was detected, increasing in the upper layers, which harbored distinct microorganisms of the intermediate and lower sections. *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Lentisphaerae* and *Proteobacteria* were the major phyla, emphasizing the high amount of moderately halophilic microorganisms specially of *Deltaproteobacteria* class. For *Archaea*, no amplified data for the upper layer was achieved, and the other two layers share practically the same diversity and richness. It was observed a dominance of some groups of *Halobacteria* class, as extremely halophilic *Salinarchaeum* spp., being the *Euryarchaeota* phylum the one that includes almost all sequences. A significant presence of candidatus MSBL1 and microorganisms belong to *Nanohaloarchaeota* phylum were detected.

The final goal of this preliminary study is the generation and complete characterization of a stable and extreme halophilic methanogenic consortium, scalable for the production of biogas for its use in the small to medium scale biodigesters. The principal aim would combine the knowledge on the microbiology of extreme saline anaerobic sediments and the development of clean, alternative and renewable energies.

**Palabras clave:** sedimentos hipersalinos, diversidad, secuenciación 454, halófilos extremos, OPU, metanógenos.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> López-López, A., Yarza, P., Richter, M., Suárez-Suárez, A., Antón, J., Niemann, H., Rosselló-Móra, R. 2010. *Extremely halophilic microbial communities in anaerobic sediments from a solar saltern*. *Environmental Microbiology Reports* **2**: 258–271.

<sup>2</sup> López-López, A., Richter, M., Peña, A., Tamames, J., Rosselló-Móra, R. 2013. *New insights into the archaeal diversity of a hypersaline microbial mat obtained by a metagenomic approach*. *Systematic and Applied Microbiology* **36**: 205–214.

<sup>3</sup> Holmes, D. E., Smith, J. A. 2016. *Biologically Produced Methane as a Renewable Energy Source*. *Advances in Applied Microbiology* **97**: 1–61.

**Financiación:** Proyecto CGL2015-66686-C3-1-P del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad y Beca para la Formación de Personal Investigador 2016.

## P11. Filogenómica y genómica comparativa del género *Salinivibrio*

**Rafael R. de la Haba, Clara López-Hermoso, Cristina Sánchez-Porro, Antonio Ventosa**

*Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, España.*

*E-mail: rrh@us.es*

Englobado dentro de la clase *Gammaproteobacteria*, orden *Vibrionales*, familia *Vibrionaceae*, el género *Salinivibrio* constituye un linaje filogenético separado del resto de géneros de la familia de acuerdo con el análisis de la secuencia del gen ARNr 16S. Sin embargo, estudios previos han demostrado que este gen no proporciona una resolución suficiente para la diferenciación entre especies de la familia *Vibrionaceae* estrechamente relacionadas<sup>1,2</sup>. Con el fin de resolver esta limitación se propuso el Análisis por Secuenciación Multilócica (MLSA) como alternativa para la delineación de especies de este género, estableciéndose el valor de corte en un 96 % de semejanza en la secuencia concatenada de fragmentos parciales de los genes *gyrB*, *recA*, *rpoA* y *rpoD*<sup>3</sup>.

Con el objetivo de estudiar en mayor profundidad las relaciones filogenéticas entre las cepas tipo del género *Salinivibrio* y una colección de 27 cepas ambientales de este género, se obtuvieron sus secuencias genómicas y se extrajeron a partir de ellas el conjunto de genes compartidos por todas (*core-genome*), que se utilizó para inferir la filogenia en base a sus secuencias concatenadas.

Paralelamente, se ha realizado el análisis genómico comparativo de los 33 genomas disponibles (uno de ellos completo) del género *Salinivibrio*, centrada la investigación en la determinación de los genes presentes/ausentes, sintenia entre genomas, estudio de las principales rutas metabólicas, así como su abundancia en diversos hábitats salinos e hipersalinos mediante reclutamiento de secuencias metagenómicas.

**Palabras clave:** *Salinivibrio*, core-genome, pangenoma, genómica comparativa, sintenia.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Thompson, F. L., Gevers, D., Thompson, C. C., Dawyndt, P., Naser, S., Hoste, B., Munn, C. B., Swings, J. 2005. *Phylogeny and molecular identification of vibrios on the basis of multilocus sequence analysis*. Appl Environ Microbiol **71**: 5107-5115

<sup>2</sup> Pascual, J., Macián, M. M., Arahál, D. R., Garay, E., Pujalte, M. J. 2010. *Multilocus sequence analysis of the central clade of the genus Vibrio by using the 16S rRNA, recA, pyrH, rpoD, gyrB, rctB and toxR genes*. Int J Syst Evol Microbiol **60**: 154-165

<sup>3</sup> López-Hermoso, C., de la Haba, R. R., Sánchez-Porro, C., Papke, R. T., Ventosa, A. 2017. *Assessment of MultiLocus Sequence Analysis as a valuable tool for the classification of the genus Salinivibrio*. Front Microbiol **8**: 1107

**Financiación:** Proyecto CGL2013-46941-P del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO).



## **P12. Actividad enzimática extracelular en suelos en condiciones extremas de temperatura y desecación**

**Enrique J. Gómez, Jose A. Delgado, Juan M. González**

*Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC). Avda.Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla. España*

*E-mail: enrique.gomez@irnas.csic.es*

El decisivo papel de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos es incuestionable<sup>1,2</sup>. La salud de los suelos depende de los microorganismos. Sin embargo, los suelos son ambientes altamente heterogéneos y variables. Las capas superficiales de los suelos llegan a presentar valores extremos de temperatura y contenido hídrico. Esas condiciones extremas sugieren la importancia de microorganismos extremófilos capaces desarrollarse bajo dichas condiciones. Sin embargo, en general se asume que a temperaturas elevadas y condiciones de desecación la actividad biológica es escasa o prácticamente nula.

El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad enzimática extracelular de microorganismos en suelos a distintas temperaturas y contenido hídrico. Para ello, hemos diseñado un protocolo que nos permite determinar dicha actividad incluso en condiciones extremas de temperatura y desecación.

Los resultados han revelado que las enzimas de microorganismos termófilos del suelo (ensayadas a 60°C) presentan generalmente óptimos de actividad enzimática en condiciones de sequedad lo que sugiere una clara adaptación al emparejamiento existente entre aumento de temperatura y descenso de humedad en suelos. Por el contrario, a 20°C las enzimas de microorganismos mesófilos presentan actividad enzimática óptima a elevado contenido hídrico. Dado que la actividad enzimática extracelular microbiana en suelos es el limitante en la degradación de materia orgánica<sup>1</sup>, los datos obtenidos sugieren la existencia actividad enzimática microbiana en suelos incluso en condiciones extremas de temperatura y desecación debida principalmente a enzimas de microorganismos termófilos del suelo. Hemos detectado actividad enzimática en condiciones de desecación mucho más extremas que el límite propuesto para el desarrollo de microorganismos<sup>3</sup>.

**Palabras clave:** actividad enzimática extracelular, suelo, contenido hídrico, temperatura, desecación, termófilos, extremófilos.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Burns, R. G. *et al.* 2013. *Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions*. Soil Biol. Biochem. **58**: 216–234

<sup>2</sup> González, JM, Portillo, MC, Piñeiro-Vidal, M. 2015. *Latitude-dependent underestimation of microbial extracellular enzyme activity in soils*. Int. J. Environ. Sci. Technol. **12**: 2427-2434

<sup>3</sup> Stevenson, A, *et al.* 2015. Is there a common water-activity limit for the three domains of life? ISME J. **9**:1333-1351

**Financiación:** Proyectos RNM2529 de la Junta de Andalucía y CGL2014-58762-P del MINEICO.



## **P13. Crecimiento de *Thermus thermophilus* y cribado enzimático a alta temperatura en micro-gotas de agua en aceite**

**Mercedes Sánchez, Esther Sánchez, José Berenguer y Aurelio Hidalgo**

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC), Universidad Autónoma de Madrid.

E-mail: mercedes.sanchez@cbm.csic.es

Los dispositivos microfluídicos permiten la generación de micro-gotas monodispersas de volúmenes del orden de picolitros que pueden ser utilizadas posteriormente en procesos de crecimiento microbiano o cribado enzimático de alta eficiencia, con bajos costes tanto en personal como de equipamiento. La inclusión de células en estas micro-gotas, y su crecimiento a alta temperatura, puede ser utilizado para el cribado *in vivo* de termozimas de interés, así como en estudios de biología celular.

*Thermus thermophilus* presenta alto potencial como modelo para la expresión y producción de termozimas debido a la facilidad con la que puede ser manipulado genéticamente. Dado que su crecimiento óptimo tiene lugar entre 65 y 70 °C, su encapsulación estable y su crecimiento en microgotas generó dificultades que tuvieron que ser solventadas, principalmente de estabilidad de las microgotas. El establecimiento de una combinación adecuada de aceites y surfactante ha permitido el desarrollo de un protocolo robusto para el encapsulado y crecimiento en microgotas de *T. thermophilus*.

En paralelo, se ha establecido un procedimiento para la detección de actividad  $\beta$ -galactosidasa termoestable expresada en célula sencilla en *T. thermophilus* BL03<sup>1</sup> desde un plásmido bifuncional, lo que permitirá el cribado de genotecas para esta actividad directamente a alta temperatura.

**Palabras clave:** *Thermus thermophilus*, cribado enzimático, microfluídica.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Leis B, Angelov A, Li H y Liebl W. 2014. *Genetic analysis of lipolytic activities in Thermus thermophilus HB27*. Journal of biotechnology **190**: 151-157.

**Financiación:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto "MetaFluidics" (GA nº 685474) dentro del programa de ciencia e innovación de la UE.

## **P14. Búsqueda de genes que confieren resistencia a radiación UV en metagenomas de ambientes hipersalinos**

**Macarena Benguigui<sup>1</sup>, Jon Ochoa<sup>1</sup>, Mercedes Antón<sup>1</sup>, María Lamprecht<sup>1</sup>, Salvador Mirete<sup>1</sup>, Josefa Antón<sup>2</sup>, Ramón Rosselló-Móra<sup>3</sup> y José Eduardo González-Pastor<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Astrobiología (INTA-CSIC), Carretera de Ajalvir km 4, Torrejón de Ardoz 28850, Madrid.

<sup>2</sup>Universidad de Alicante, Carretera San Vicente del Raspeig, San Vicente del Raspeig, Alicante 03690.

<sup>3</sup>Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (CSIC-UIB), Esporles 07190, Mallorca.

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

La radiación ultravioleta es uno de los tipos de estrés a los que están expuestas numerosas especies de microorganismos y por ello han desarrollado diversos mecanismos moleculares que les permiten sobrevivir a los daños que produce en el DNA y en otras macromoléculas. Los mecanismos de resistencia que se conocen se basan en estudios realizados en microorganismos modelo de laboratorio. Por ello, mediante diversas técnicas independientes de cultivo, como metagenómica funcional y metatranscriptómica, nuestro grupo de investigación está estudiando los mecanismos moleculares de resistencia a radiación en microorganismos ambientales expuestos a elevadas dosis de radiación, como es el caso de aquellos que habitan ambientes hipersalinos.

En esta presentación se describirá el empleo de metagenómica funcional para identificar genes que confieren resistencia a radiación UV procedentes de hiperhalófilos de cristalizadores de sal de las salinas de Santa Pola (Alicante), concretamente de los estanques CR30, CCAB y C071, con concentraciones de sal de 39%, 31% y 20% respectivamente. Se construyeron bibliotecas metagenómicas de muestras de estos ambientes, empleando como cepa hospedadora a *Escherichia coli* DH10B, que porta una mutación en el gen *recA* lo que la hace más sensible a radiación UV. Muestras de cada biblioteca fueron expuestas a radiación UVB y se aislaron clones resistentes. Se recuperaron los plásmidos de estos clones y se volvieron a transformar en DH10B, para excluir que la resistencia a radiación fuese debida a mutaciones en el cromosoma. Hasta la fecha, se han identificado 19 clones resistentes a UVB en la metagenoteca de CR30, 16 en la de C071 y 10 en la de CCAB. Los fragmentos de DNA ambiental clonado han sido secuenciados en su mayoría, y hay que destacar que en la biblioteca metagenómica de CR30 todos los genes descubiertos parecen proceder de arqueas hiperhalófilas, mientras que en las otras dos ya aparecen genes de bacterias y arqueas hiperhalófilas e incluso de halovirus.

Posteriores estudios con el compuesto 4-nitroquinolina, que imita los efectos de la radiación UV sobre el DNA, nos permitirán inferir si el mecanismo de resistencia conferido por estos genes está o no relacionado con la reparación del DNA. Además se están llevando a cabo estudios de metatranscriptómica en microcosmos de muestras de estas comunidades hiperhalófilas expuestas a radiación UV. Esto nos permitirá identificar los genes que modifican su expresión en presencia de radiación UV, y comprobar si se encuentran entre ellos algunos de los genes que hemos identificado por metagenómica funcional.

**Palabras clave:** resistencia a radiación UV, hiperhalófilos, metagenómica funcional.

**Financiación:** Proyecto METAFUIDICS (H2020 EU, Grant Agreement No 685474), Proyecto CGL2015-66686-C3-2-P (MINECO).

## **P15. Búsqueda de hidrolasas termófilas mediante metagenómica funcional y basada en secuencia**

**Juan José Escuder Rodríguez, Manuel Becerra Fernández, María Isabel González Siso**

*Grupo EXPRELA, Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidade da Coruña, 15071, A Coruña, Spain.*

*E-mail: j.escuder@udc.es*

Las enzimas hidrolíticas de microorganismos termófilos resultan interesantes por su aplicación industrial en procesos que operan a elevadas temperaturas<sup>1</sup>. Una de las principales limitaciones para el descubrimiento de nuevas enzimas es la dificultad de cultivar estos microorganismos en el laboratorio. La metagenómica permite el estudio del conjunto de todos los genomas presentes en una muestra ambiental, y de sus productos génicos, sin necesidad de cultivo de los microorganismos presentes en la misma<sup>2</sup>. En este trabajo hemos aplicado dos estrategias para la búsqueda de hidrolasas termófilas en el metagenoma obtenido de una fuente termal de Ourense. Por un lado se obtuvo una metagenoteca para realizar la búsqueda funcional de enzimas de interés mediante la expresión en un sistema heterólogo, y por otro lado el metagenoma fue secuenciado y analizado mediante herramientas bioinformáticas permitiendo la identificación de enzimas basada en el alineamiento con bases de datos.

**Palabras clave:** Hidrolasas, Termófilos, Metagenómica.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> DeCastro ME, Rodríguez-Belmonte E, González-Siso MI. 2016. *Metagenomics of Thermophiles with a Focus on Discovery of Novel Thermozyymes*. Front Microbiol. Sep 27;7:1521.

<sup>2</sup> Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. 1998. *Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products*. Chem Biol. Oct;5(10):R245-9.

### **Financiación:**

Ayudas para la consolidación y estructuración de unidades de investigación competitivas y otras acciones de fomento en las universidades del Sistema universitario de Galicia (SUG) para grupos de referencia competitiva – Grupo EXPRELA ED431C 2016-012.

Comunidad Europea, Séptimo programa marco: acciones Marie Curie - HotDrops FP7-PEOPLE-2012-IAPP HotDrops project No. 324439.

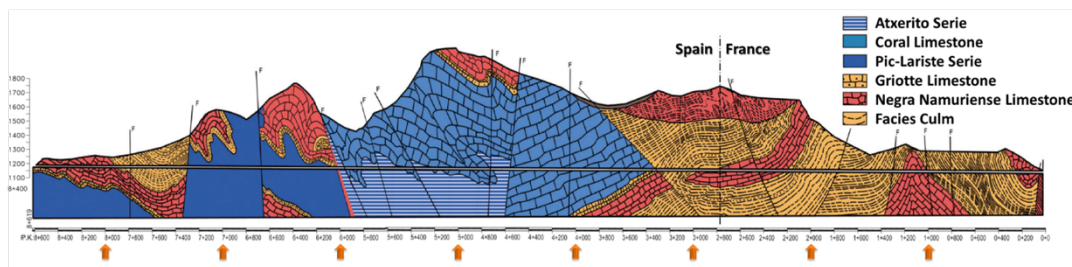
## P16. Proyecto Gollum: Comunidades microbianas en profundidad

Jose M. Martí<sup>1</sup>, Carmen Collado<sup>2</sup>, Christian Abendroth<sup>1</sup>, Wladimiro Diaz<sup>1</sup>,  
Vicente Arnau<sup>1</sup>, Victoria Fernandez-Pedrosa<sup>2</sup>, Carlos P. Garay<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I2SysBio, CSIC-UVEG, Valencia

<sup>2</sup>Sistemas Genomicos, Valencia

El tunel ferroviario de Somport atraviesa diferentes tipos de roca sedimentarias formadas por acumulación de sedimentos durante el Mesozoico y Cenozoico. Su longitud, profundidad y diversidad ecológica lo hacen un lugar ideal para estudios ecológicos de extremófilos. La colaboración GOLLUM extrajo testigos en 14 localizaciones distribuidas a lo largo del túnel en Mayo de 2016, en las condiciones de esterilidad necesarias para la extracción de ADN del polvo de roca y la caracterización genómica de muestras con bajos niveles de ADN. En esta ponencia, presentamos los resultados de secuenciación 16S y genoma completo de las extracciones, correlacionados con el contenido metálico del sustrato. También presentamos nuevas herramientas de análisis y visualización de los resultados de secuenciación metagenómica que hemos desarrollado en el laboratorio y que permiten realizar globalmente los estudios comparativos entre muestras.



## **P17. Correlación de Microscopía de Fluorescencia y Microscopía Raman para el estudio *in situ* de la geomicrobiología del subsuelo de la FPI**

**Cristina Escudero<sup>1</sup>, Adolfo del Campo<sup>2</sup>, Monike Oggerin<sup>1</sup> y Ricardo Amils<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. España.

<sup>2</sup>Instituto de Cerámica y Vidrio (CSIC). Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. España.

<sup>3</sup>Centro de Astrobiología (CSIC-INTA). Ctra de Ajalvir km 4, Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid. España.

E-mail: cescudero@cbm.csic.es

El Río Tinto es uno de los ambientes ácidos naturales más grande del mundo. El pH, con una media de 2,3, se mantiene constante a lo largo de los casi 100km de longitud que tiene el río gracias a la alta concentración de ion férrico que contienen sus aguas y permite la presencia de una gran cantidad de metales pesados en solución. Estas características extremas que presenta el río se deben a la actividad metabólica de microorganismos que habitan en el subsuelo capaces de biolixiviar la pirita, mineral principal de la Faja Pirítica Ibérica (FPI)<sup>1</sup>.

IPBSL es un proyecto de perforación dedicado al estudio del ecosistema del subsuelo de la FPI. Con el fin de caracterizar *in situ* este biorreactor subterráneo, se ha recurrido a la correlación de la microscopía de barrido laser confocal y la microscopía Raman confocal para el análisis de muestras del subsuelo a diferentes profundidades. La primera, porque mediante el uso de técnicas de hibridación "*in situ*" fluorescente, basada en el uso de sondas específicas, permite verificar la presencia de un determinado grupo de microorganismos así como el estudio de su distribución<sup>2</sup>. Mientras que la segunda, permite obtener información sobre la composición química de la muestra<sup>3</sup>.

Gracias a la combinación de ambas técnicas se ha conseguido analizar el sustrato mineral asociado a grupos determinados de microorganismos. Los resultados obtenidos indican que microorganismos cuyo metabolismo se basa en la oxidación del hierro se encuentran asociados a sulfuros metálicos como la pirita, lo que apoya la hipótesis del origen biológico del Río Tinto.

**Palabras clave:** Correlación fluorescencia-Raman, Geomicrobiología, Subsuelo, FPI.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Gómez-Ortiz, D., Fernández-Remolar, D. C., Granda, Á., Quesada, C., Granda, T., Prieto-Ballesteros, O., Molina, A., and Amils, R. 2014. Identification of the subsurface sulfide bodies responsible for acidity in Río Tinto source water, Spain. *Earth and Planetary Science Letters*, **391**: 36-41.

<sup>2</sup> Amann, R., and Fuchs, B. M. 2008. Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence in situ hybridization techniques. *Nature Reviews Microbiology*, **6**: 5: 339-348.

<sup>3</sup> Dieing, T., Hollricher, O., & Toporski, J. (Eds.). (2011). *Confocal raman microscopy* (Vol. 158). Springer Science & Business Media.

**Financiación:** Proyectos CGL2015-66242-R y ERC250-350.

## P18. Búsqueda de nuevas beta-galactosidasas termófilas en las aguas termales de As Burgas

**María Eugenia de Castro de Antonio, Esther Rodríguez Belmonte, María Isabel González Siso**

<sup>1</sup>Grupo EXPRELA, Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidade da Coruña, A Coruña, España.

E-mail: m.decastro@udc.es

Las poblaciones microbianas capaces de vivir en las elevadas temperaturas asociadas a las aguas termales, han sido ampliamente estudiadas, no sólo desde un enfoque ecológico, analizando la composición y la función de estas comunidades<sup>1,2</sup>, sino también desde un punto de vista industrial<sup>3,4</sup>, ya que los microorganismos termófilos que viven en esos ambientes y sus proteínas termoestables constituyen una importante fuente de nuevos biocatalizadores. Entre estas enzimas, las beta-galactosidasas de origen termófilo han sido objeto de muchas investigaciones por su capacidad para hidrolizar la lactosa y participar en reacciones de transgalactosilación, lo que las hace idóneas para varias aplicaciones en la industria alimentaria como la producción de leche sin lactosa, la revalorización de los sueros lácteos o la obtención de galactooligosacáridos. En los últimos años, numerosas beta-galactosidasas termófilas han sido aisladas gracias al estudio del conjunto de genomas presentes en una muestra ambiental, conocido como metagenómica<sup>5,6</sup>. Por ello, en el presente trabajo, se ha llevado a cabo un análisis, mediante metagenómica funcional y de secuencia, de las aguas del manantial termal de As Burgas, que ha permitido la identificación de tres nuevas beta-galactosidasas de origen termófilo no descritas hasta el momento.

**Palabras clave:** Metagenómica, beta-galactosidasa.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Chan, CS., Chan, KG., Tay, Y.-L., Chua, YH., and Goh, KM. 2015. *Diversity of thermophiles in a Malaysian hot spring determined using 16S rRNA and shotgun metagenome sequencing*. Front. Microbiol. 6:177. doi: 10.3389/fmicb.2015.00177

<sup>2</sup> Menzel P, Gudbergsdóttir, SR, Rike, AG, Lin, L, Zhang, Q, Contursi, P, Kristjansson, JK, Bolduc, B, Gavrilov, S, Ravin, M, Mardanov, A, Bonch-Osmolovskaya, E, Young, M, Krogh, A, Peng, X. 2015. *Comparative metagenomics of eight geographically remote terrestrial hot springs*. Microb. Ecol. 70, 411–424. doi: 10.1007/s00248-015-0576-9.

<sup>3</sup> López-López, O, Knapik, K, Cerdán, ME., González-Siso, MI. 2015. *Metagenomics of an alkaline hot spring in Galicia (Spain): microbial diversity analysis and screening for novel lipolytic enzymes*. Front. Microbiol. 6:1291. doi: 10.3389/fmicb.2015.01291.

<sup>4</sup> Leis, B, Angelov, A, Mientus, M, Li, H, Pham, VTT, Lauinger, B, Bongen, P, Pietruzska, J, Gonçalves, LG, Santos, H, Liebl, W. 2015. *Identification of novel esterase-active enzymes from hot environments by use of the host bacterium Thermus thermophilus*. Front. Microbiol. 6:275. doi: 10.3389/fmicb.2015.00275.

<sup>5</sup> Zhang, X, Li, H, Li, CJ, Ma, T, Li, G, Liu, YH. 2013. *Metagenomic approach for the isolation of a thermostable  $\beta$ -galactosidase with high tolerance of galactose and glucose from soil samples of Turpan Basin*. BMC Microbiol. 13:237. doi: 10.1186/1471-2180-13-237.

<sup>6</sup> Liu, Z, Zhao, C, Deng, Y, Huang, Y, Liu, B. 2015. *Characterization of a thermostable recombinant  $\beta$ -galactosidase from a thermophilic anaerobic bacterial consortium YTY-70*. Biotechnol. Biotechnol. Equip. 29, 547–554. doi: 10.1080/13102818.2015.1015244.

**Financiación:** European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007–2013) n° 324439, y Xunta de Galicia (Consolidación D.O.G. 20-12-2016, contrato: ED431C2016-012), cofinanciado por los fondos FEDER. El trabajo de María Eugenia de Castro ha estado subvencionado por una ayuda FPU (Ministerio de Educación Cultura y Deporte) FPU12/05050.

## **P19. La metaviroproteómica: una potente herramienta para la anotación de genes víricos**

**MD Ramos-Barbero<sup>1</sup>, J. Christie-Oleza<sup>2</sup>, J.R. Hernandez-Fernaud<sup>3</sup>, M. Martinez-García<sup>2</sup>, F. Santos<sup>2</sup> and J. Antón<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología. Universidad de Alicante. 03080, Alicante (España).

<sup>2</sup>Marine Molecular Microbiology group, Warwick University: School of Life Sciences (Reino Unido).

<sup>3</sup>Proteomic Lab, Warwick University: School of Life Sciences (Reino Unido).

Los virus son los microorganismos más abundantes de la biosfera. En ambientes acuáticos hipersalinos pueden alcanzar valores de hasta  $10^9$  partículas por mililitro, con ratios virus-célula de hasta 300. Estos sistemas son, por tanto, un escenario perfecto para el estudio de la diversidad vírica y de los mecanismos que permiten a los virus interactuar con sus hospedadores.

Pese a su simplicidad, los genomas víricos presentan una elevada proporción de genes con función desconocida. Este porcentaje puede llegar a ser superior al 90 %; sobre todo en estudios de virus mediante técnicas independientes de cultivo.

Basándonos en el hecho de que las partículas víricas están mayoritariamente formadas por proteínas estructurales, hemos aplicado técnicas de proteómica a comunidades de virus no cultivados de ambientes hipersalinos (metaviroproteómica) como herramienta para poder asignar una función estructural a parte de los genes identificados en estudios metagenómicos.

Para el presente trabajo se extrajeron las proteínas de dos concentrados naturales de virus procedentes de 50 litros de salmuera de las Salinas de Bras del Port (Santa Pola, Alicante). La identificación de las proteínas víricas se ha llevado a cabo mediante un nuevo "pipeline" diseñado para optimizar la identificación en muestras complejas (microdiversas). Esta estrategia nos ha permitido identificar entre 7-10 veces más proteínas que usando protocolos previamente publicados. Tras el análisis de datos se han identificado entre 350 y casi mil proteínas víricas, de las cuales más del 50% se corresponden con genes de función desconocida ("*hypothetical proteins*"), seguidas de genes que sí se habían asignado "*in silico*" a una función estructural. Este trabajo pone de manifiesto que el uso combinado de metagenómica y metaproteómica es una buena estrategia para el estudio de las comunidades víricas en ambientes naturales.



## **P20. Construcción de mutantes knockout de isoformas de glutamina sintetasa de *Haloferax mediterranei***

**Verónica Rodríguez-Herrero, Anna Vegara, Gloria Payá, Mónica Camacho, Vanesa Bautista, Julia Esclapez, María-José Bonete**

*Universidad de Alicante. Facultad de Ciencias. División de Biochemistry y Biología Molecular, Alicante, ES.*

*Haloferax mediterranei* (ATCC 33500) es un microorganismo halófilo que pertenece al Dominio Archaea. Muestra un crecimiento óptimo a concentraciones de NaCl entre 20-25% con alta dependencia del catión de magnesio (0.5-1.5 M), así como también puede crecer en presencia de diferentes fuentes de nitrógeno, tanto orgánicas como inorgánicas, en condiciones aeróbicas a través de la asimilación de nitrógeno.

La glutamina sintetasa (GS; EC 6.3.1.2) es una enzima esencial en la asimilación de amonio y la biosíntesis de glutamina. En el genoma de *Hfx. mediterranei* existen tres secuencias homólogas para la GS, se han identificado y verificado previamente los genes *glnA*, *glnA2* y *glnA3*. Para determinar la función de las proteínas GlnA, GlnA2 y GlnA3, y su papel en la asimilación de nitrógeno, se generaron individualmente mutantes de delección de los tres genes utilizando la técnica pop-in pop-out. Posteriormente para analizar los cambios en los perfiles de expresión de dichos genes y verificar el efecto de la falta de proteína con función GS sobre el metabolismo del nitrógeno de *Hfx. mediterranei* se realizó un análisis de microarray. A partir de estos resultados es posible descubrir si las isoformas GlnA2 y GlnA3 juegan un papel esencial en este metabolismo.

**Financiación:** Este trabajo ha sido financiado con el proyecto Bio2013-42921-P por el MINECO y cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).



## P21. Diversidad de hongos asociados a líquenes xerofíticos como nueva fuente de antimicrobianos

**Victor González-Menéndez<sup>1</sup>, Luis Martínez García<sup>1</sup>, Patricia Mena<sup>1</sup>, Clara Toro<sup>1</sup>, Isabel Sánchez<sup>1</sup>, M. Reyes González-Tejero<sup>2</sup>, Manuel Casares<sup>2</sup>, Olga Genilloud<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Fundación MEDINA. PTS, Avda. del conocimiento 34 Granada.

<sup>2</sup>Departamento de Botánica, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.

E-mail: victor.gonzalez@medinaandalucia.es

El SE de la península Ibérica es uno de los territorios más áridos de Europa, donde los suelos yesíferos ocupan un 7,2% de la superficie total. Este entorno tan extremo constituye un refugio único para la flora líquénica gipsícola, que alberga una gran variedad de especies endémicas, raras y/o amenazadas<sup>1</sup>.

La falta de antecedentes sobre la diversidad de hongos liquenícolas asintomáticos en este entorno inhóspito nos impulsó a estudiar la comunidad fúngica cultivable en el afloramiento yesífero de Escúzar (Granada). Se recolectaron seis líquenes característicos de la zona: *Squamarina lentigera*, *Acarospora reagens*, *Gyalolechia fulgida*, *Lecidea circinarioides*, *Psora decipiens* y *Diploschistes diacapsis*, así como al suelo gipsícola sobre el que se desarrollan.

La población de hongos cultivables asociada a estos organismos se aisló utilizando el método de dilución a extinción, combinando cinco medios de cultivo y dos temperaturas de incubación. Se aislaron un total de 2431 cepas de las cuales 1035 fueron obtenidas a partir de los talos líquénicos y 1396 del suelo asociado a los mismos, agrupados en 21 ordenes diferentes, siendo el orden *Pleosporales* el más representado.

Para evaluar el potencial farmacológico de estos microorganismos, se seleccionaron 245 cepas fúngicas en base a su diversidad taxonómica. Con el fin de inducir la mayor diversidad química posible de metabolitos secundarios en estas cepas, se crecieron durante 14 días en cuatro medios de cultivo con fuentes de C y N diferentes. Así un total de 980 extractos fúngicos se ensayaron frente a dos cepas patógenas humanas de interés clínico: *Acinetobacter baumannii* para determinar su actividad antimicrobiana Gram negativa y *Aspergillus fumigatus* con el fin de determinar su actividad antifúngica.

Los resultados obtenidos confirman que los líquenes desarrollados bajo estas condiciones extremas son una importante fuente de especies fúngicas aun no descritas con potencial biotecnológico en la producción de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana.

**Palabras clave:** líquenes xerofíticos, suelos yesíferos, diversidad fúngica, actividad antimicrobiana.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Guerra, J, Ros, R.M., Cano, M.J., Casares, M. 1995. *Gypsiferous outcrops in SE Spain, refuges of rare, vulnerable and endangered bryophytes and lichens*. Cryptogamie. Bryologie, lichenologie 16:125-135.

**Financiación:** Proyecto financiado por Fundación MEDINA.

## **P22. *Salinivibrio kushneri* sp. nov. basada en múltiples aislados y sinonimia entre *Salinivibrio proteolyticus* y *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis***

**Cristina Sánchez-Porro, Clara López-Hermoso, Rafael R. de la Haba, Antonio Ventosa**

*Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, España.*

*E-mail: sanpor@us.es*

Actualmente, el género *Salinivibrio* comprende cuatro especies, una de ellas (*S. costicola*) con tres subespecies<sup>1</sup>. En estudios previos nuestro grupo de investigación ha aislado y caracterizado 70 cepas representativas de este género a partir de salinas solares de diversa localización, estudiando asimismo sus relaciones filogenéticas mediante un estudio MLSA. Como resultado, todas las cepas tipo y los aislados del género *Salinivibrio* se agruparon en cuatro clústeres (filogrupos), a excepción de la especie *S. sharmensis*, que no se pudo asociar a ninguno de ellos<sup>2</sup>.

Tres de esos filogrupos incluían una especie ya descrita del género, pero el filogrupo restante estaba conformado únicamente por aislados de las salinas. Con el objetivo de determinar si dichas cepas podían constituir una nueva especie de *Salinivibrio* se llevó a cabo un estudio polifásico comparativo (basado en características fenotípicas, quimiotaxonómicas, genómicas y análisis filogenómicos) que ha permitido demostrar que los aislados de dicho filogrupo representan una especie aún no descrita del género, para la que se propone el nombre de *Salinivibrio kushneri* sp. nov.

Por otro lado, los estudios filogenéticos previos mediante MLSA mostraron que las especies *S. proteolyticus* y *S. costicola* subsp. *vallismortis* formaban parte del mismo filogrupo, por lo que era necesario revisar su estatus taxonómico. El análisis comparativo entre ambas confirmó que en realidad se trataba de una sola especie, que incluía también otros aislados de las salinas pertenecientes a ese filogrupo, por lo que se propone enmendar la descripción de la especie *S. proteolyticus* de manera que pueda incluirse en ella tanto a *S. costicola* subsp. *vallismortis* como a las cepas aisladas de salinas.

**Palabras clave:** *Salinivibrio*, nueva especie, sinonimia, bacteria halófila moderada.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Romano, I., Orlando, P., Gambacorta, A., Nicolaus, B., Dipasquale, L., Pascual, J., et al. 2011. *Salinivibrio sharmensis* sp. nov., a novel haloalkaliphilic bacterium from a saline lake in Ras Mohammed Park (Egypt). *Extremophiles* **15**: 213-220

<sup>2</sup> López-Hermoso, C., de la Haba, R. R., Sánchez-Porro, C., Papke, R. T., Ventosa, A. 2017. *Assessment of MultiLocus Sequence Analysis as a valuable tool for the classification of the genus Salinivibrio*. *Front Microbiol* **8**: 1107

**Financiación:** Proyecto CGL2013-46941-P del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO).

## **P23. An *in vitro* system for the detection of thermostable enzymes with esterase activity**

**J. Bravo, J. Berenguer, A. Hidalgo\***

Center for Molecular Biology "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid (Madrid, Spain).

E-mail: ahidalgo@cbm.csic.es

*In vitro* screening of protein variants through SNAP Display<sup>1 2</sup> constitutes a straightforward strategy for the directed evolution of different proteins. Here, a new method for the selection of thermostable SNAP-displayed variants of enzymes showing esterase activity is presented as a proof-of-concept. A recently engineered variant of the thermostable alkyl guanine-DNA-Alkyl-transferase from *Sulfolobus solfataricus* which displays a catalytic efficiency comparable to the SNAP-tag<sup>TM</sup> protein (hAGT), but showing the high intrinsic stability typical of proteins from this organism<sup>3 4</sup> was employed as effector of SNAP Display. Thus, DNA constructs of SsOGTH5 fused to esterase enzymes with previously known thermostability were employed as substrate for the thermostable *in vitro* transcription and translation (thIVTT). Hence, SsOGTH5 SNAP-tag activity enabled the formation of genotype-phenotype linkages which were displayed over the magnetic bead surface. Later, this *in vitro* synthesized enzymes were treated with suicidal substrate ActivXTM TAMRA-FP Serine Hydrolase Probe in order to establish an irreversible covalent bond over catalytic serine located in the active site. Finally, TAMRA fluorescent moiety of the covalently bond substrate enabled the detection and recovery of the thermostable variants of the enzyme through fluorescence-activated cell sorting (FACS).

**Keywords:** *In vitro*, screening, SNAP Display, thermostable enzyme, esterase activity, *In vitro* Transcription/Translation, suicidal substrate.

### **Bibliography:**

<sup>1</sup> Kaltenbach, M. & Hollfelder, F. (2012). SNAP Display: *in vitro* protein evolution in microdroplets. *Methods in Molecular Biology* **805**, 101–111.

<sup>2</sup> Diamante, L., Gatti-Lafranconi, P., Schaerli, Y. & Hollfelder, F. (2013). *In vitro* affinity screening of protein and peptide binders by megavalent bead surface display. *Protein Eng. Des. Sel.* **26**, 713–724.

<sup>3</sup> Vettone, A. *et al.* (2016). A novel thermostable protein-tag: optimization of the *Sulfolobus solfataricus* DNA-alkyl-transferase by protein engineering. *Extremophiles* **20**, 1–13.

<sup>4</sup> Perugino, G. *et al.* (2012). Activity and regulation of archaeal DNA alkyltransferase: Conserved protein involved in repair of DNA alkylation damage. *J. Biol. Chem.* **287**, 4222–4231.

**Funding:** This work has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement 685474 "METAFLUIDICS".

## **P24. Composición, funcionalidad y novedad genética bacteriana en ambientes salinos de Monegros y Gallocanta**

**M. Menéndez-Serra, X. Triadó-Margarit, C. Castañeda, J. Herrero-Isern, E. O Casamayor**

*Grupo de Ecología integrativa de aguas continentales, departamento de Ecología Continental. Centro de Estudios Avanzados de Blanes (CEAB-CSIC). Accés Cala Sant Francesc 14. Blanes. 17300. España.*

*E-mail: mateu.menendez@ceab.csic.es*

Los sistemas salinos endorreicos son ambientes ampliamente extendidos pero poco explorados. Características intrínsecas de estos sistemas tales como una dependencia del ciclo hidrológico o la amplia variación de diversas variables ambientales como la temperatura o la salinidad, los convierten en el escenario perfecto para llevar a cabo estudios de dinámica de poblaciones microbianas. Estas mismas condiciones también hacen de estos sistemas ambientes idóneos para albergar una gran biodiversidad y un gran número de endemismos<sup>1</sup>. En la península ibérica se encuentran diversos ejemplos de estos sistemas, dos de los cuales son objeto de este estudio: el desierto de los Monegros acoge uno de los mayores conjuntos de ambientes salinos continentales de Europa, rico en yesos y con 149 depresiones endorreicas; y la laguna de Gallocanta, la cual se encuentra situada en el Sistema Ibérico abarcando una superficie de 1924 hectáreas. Las condiciones climáticas, geológicas, edáficas y botánicas de ambos ambientes son muy contrastadas.

El análisis por NGS-Illumina de las poblaciones bacterianas mediante secuenciación de amplicones del gen 16S rRNA de 34 muestras procedentes de suelos de la zona de Monegros (19) y Gallocanta (15) mostró un solapamiento en la composición de las comunidades microbianas de ambas áreas. Esta homogeneidad se evidenció en el análisis de ambas comunidades a diferentes niveles taxonómicos, así como en el análisis de géneros dominantes y en el estudio de los grupos funcionales (ciclado biogeoquímico de C, N y S). Paralelamente, un estudio detallado de la novedad genética mostró un elevado número de OTUs altamente novedosos evidenciando así la importancia del estudio microbiológico de este tipo de ambientes. Análisis preliminares realizados en muestras de aguas de varias lagunas de Monegros recogidas mensualmente durante 2 años muestran diferencias relevantes respecto a los suelos analizados, tales como una mayor novedad bacteriana o un ensamblaje dinámico de las comunidades directamente relacionado con la salinidad.

**Palabras clave:** gen 16S rRNA, ambientes endorreicos, novedad genética.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Casamayor, E O. Triadó-Margarit, X. Castañeda, C. 2013. Microbial biodiversity in saline shallow lakes of the Monegros Desert, Spain. *FEMS Microbiology Ecology*. 503-518

**Financiación:** Proyecto BRIDGES de MINECO – fondos FEDER (Ref. CGL2015-69043-P).

## **P25. Caracterización de las cepas *Rhizobium selenitireducens* T2.30D-1.1 y *Rhizobium naphthalenivorans* T2.26MG-112.2 aisladas del subsuelo de la Faja Pirítica Ibérica**

**Raquel García<sup>1,2</sup>, José Manuel Martínez<sup>1</sup>, Cristina Escudero<sup>1</sup>, Tania Leandro<sup>1</sup>, Ricardo Amils<sup>1,3</sup>, José Manuel Palacios<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. España.

<sup>2</sup>Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA). Parque Científico y Tecnológico, Universidad Politécnica de Madrid, Campus de Montegancedo, Ctra M-40, km 38, Pozuelo de Alarcón. 28223 Madrid. España.

<sup>3</sup>Centro de Astrobiología (CSIC-INTA). Ctra de Ajalvir km 4, Torrejón de Ardoz. 28850 Madrid. España.

E-mail: raquelg2ac@gmail.com

A partir de muestras del proyecto IPBSL<sup>1</sup> se aislaron mediante cultivos de enriquecimiento en condiciones de anaerobiosis estricta dos cepas del género *Rhizobium*: *R. selenitireducens* (T2.30D-1.1) y *R. naphthalenivorans* (T2.26MG-112.2).

En este proyecto, se diseñó una nueva sonda para el género *Rhizobium* (RHI124) y se estudió su distribución a lo largo de la columna mediante CARD-FISH. Los resultados de CARD-FISH confirmaron que las cepas de *Rhizobium* estudiadas pertenecían a la biosfera del subsuelo, ya que fueron encontradas en 12 de las 39 profundidades de muestreo del proyecto IPBSL.

Además, se caracterizaron ambas cepas mediante secuenciación y análisis de los genomas completos, focalizando el estudio en genes de interés como los involucrados en el metabolismo del nitrógeno, anaerobiosis e interacción con plantas.

Así mismo, se realizaron ensayos de patogenicidad en *Solanum lycopersicum* para comprobar la capacidad de infección y transformación de las bacterias estudiadas en semilla, raíz y tallo. Dichos ensayos confirmaron la capacidad de transformación de plantas de ambas cepas mediante punción en tallo, pero no mediante inoculación de las semillas.

**Palabras clave:** Faja Pirítica Ibérica, subsuelo, *Rhizobium*.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Amils, R., Fernández-Remolar, D., and the IPBSL team. 2014. *Río Tinto: a geochemical and mineralogical terrestrial analogue of Mars*. Life, vol. 4, no 3, p. 511-534.

**Financiación:** Proyecto IPBSL (ERC 250-350) y CGL2015, 66242-R (Mineco).

## **P26. Microbial Life and Physicochemical Characteristics of Dalangtan Playa (Qaidam Basin, NW China) and Their Astrobiological Implications**

**Ting Huang, José Manuel Martínez, Cristina Escudero, Ricardo Amils, Long Xiao, Hongmei Wang**

CBMSO, Calle Nicolás Cabrera 1, UAM, 28049 Madrid.

E-mail: [thuang@cbm.csic.es](mailto:thuang@cbm.csic.es)

### **1. Introduction**

Dalangtan playa is the second largest salt playa (roughly 210 km<sup>2</sup>) in Qaidam basin, north-western China. Hyper saline deposition, extremely arid climate and relatively high UV radiation make Dalangtan a promising Mars analogue both for geomorphology, geological process and life preservation in saline conditions<sup>1,2</sup>. To better understand the habitability in this extreme environment, we investigated the environment condition, the detectable microbes, and their relationship with hosting evaporitic mineral assemblages.

### **2. Methodology**

Field investigation and sampling were conducted during the 20<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> of June (2015). Physicochemical parameters such as pH, salinity, moisture content and TOC were determined. X-ray diffraction of samples were analyzed. Microbes were isolated with MGM, R2A, AM and Arq media with salinity ranging from 0 to 21%. DNA extraction strategies were tried with different environmental samples. CARD-FISH technique was used for detecting microbes in different samples. Microscopy techniques such as SEM and confocal were used for observing and detecting microorganisms.

### **3. Results and discussion**

Surface and subsurface samples were collected, which consisted on 13 samples along a 685-cm deep profile, 10 along a 595-cm deep profile and 9 from surface sediments. Mineralogical analysis indicated that these samples were mainly composed of salt minerals, minor silicate mineral fragments and clays. Isolated microorganisms include 28 bacterial and 6 fungal isolates which were isolated from 22 out of 23 subsurface samples, while only 5 bacterial and 1 fungal isolates were isolated from 5 out of 9 surface samples. No amplification has been obtained from DNA extracted from different environmental samples probably due to the low cell numbers existing in the samples. The use of CARD-FISH using general domain specific probes gave cell numbers of around  $6 \times 10^5$  bacteria/gram. Isolated bacteria showed high homology ( $\geq 96\%$ ) with members of the *Bacillus* (major species, 16 strains), *Microbacterium*, *Oceanobacillus*, *Nocardiopsis*, *Halobacillus*, *Gracilibacillus*, *Sediminibacillus*, *Ornithinibacillus* and *Thalassobacillus* genera, affiliated within the Bacillales, Micrococcales and Streptosporangiales orders of the Firmicutes and Actinobacteria phyla. Isolated fungi showed  $\geq 98\%$  ITS1 homology with members of the *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* genera affiliated within the Eurotiales and Capnodiales orders of the Ascomycota phylum. Tested bacteria prefer salinities between 12% and 15%. Most of the isolated microorganisms have been identified in arid and saline environments, such as salinized soils and deep-sea sediments. The wide occurrence and high abundance of sporulating bacteria (30 out of 33 strains) in both profiles may result from the high resistance to salinity and desiccation of spores. Sporulating bacteria has been studied as a target life forms in simulated Mars conditions. For instance, spores of *Bacillus pumilus*, which has been isolated from Dalangtan deposits were able to survive after 18 months exposure to space and Mars simulated condition<sup>3</sup>. Given the extremely arid conditions and highly variable temperature on Mars, *Bacillus* is a good target for investigating Martian subsurface or low lands habitats with brines as water source.

No correlation was observed between microbial recovery and mineral assemblages because of the low diversity revealed. In contrast, the moisture content seems to be the most important factor constraining the successful recovery of microorganisms.

**Key words:** Mars analog, Microbes, Evaporites, Dalangtan Playa, *Bacillus*.

**Bibliography:**

<sup>1</sup> Anglés, A., and Y. Li (2017), Similar Ring Structures on Mars and Tibetan Plateau confirm recent tectonism on Martian Northern polar region, *International Journal of Astrobiology*, **16(4)**, 355-359.

<sup>2</sup> Xiao, L., J. Wang, Y. Dang, Z. Cheng, T. Huang, J. Zhao, Y. Xu, J. Huang, Z. Xiao, and G. Komatsu (2017), A new terrestrial analogue site for Mars research: The Qaidam Basin, Tibetan Plateau (NW China), *Earth-Science Reviews*, **164**, 84-101.

<sup>3</sup> Vaishampayan, P. A., E. Rabbow, G. Horneck, and K. J. Venkateswaran (2012), Survival of *Bacillus pumilus* spores for a prolonged period of time in real space conditions, *Astrobiology*, **12(5)**, 487-497.

**Financial support:** Macau Science and Technology Foundation (No. 107/2014/A3 and 039/2013/A3), the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (No. 20130145130001) and grant CGL2015-66242-R from Mineco.



## P27. Aproximación al estudio de la oxidación de arsenitos por microorganismos termófilos en Río Caldo

**Roberto González<sup>1</sup>, Célia M. Manaia<sup>2</sup>, Pablo Fuciños<sup>3</sup>, María L. Rúa<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Universidade de Vigo, Campus de Ourense, As Lagoas, 32004, Ourense, España.

<sup>2</sup>Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Rua Arquitecto Lobão Vital, 2511, 4202-401, Porto, Portugal.

<sup>3</sup>International Iberian Nanotechnology Laboratory (INL). Avenida Mestre José Veiga, 4715-330, Braga, Portugal.

E-mail: robergg\_83@hotmail.com

En trabajos previos del laboratorio, se estudiaron datos de composición mineral y biodiversidad obtenidos a partir de diferentes muestreos de la fuente geotermal de Río Caldo (pH 9, 77 °C), ubicada en Lobios (Ourense). Los contenidos en arsénico y compuestos azufrados fueron altos en comparación con otras fuentes termales de la zona, mientras que todas las *Bacteria* encontradas a través de los análisis filogenéticos basados en secuencias casi completas del gen 16S pertenecían a la familia *Aquificaceae*, con altos porcentajes de similitud (>98,7%), por ejemplo, con especies de *Hydrogenobacter* o especies oxidantes de arsenitos del género *Thermocrinis*. Así, el principal objetivo de este trabajo fue la optimización de condiciones de cultivo apropiadas para crecer y aislar termófilos de Río Caldo en presencia de arsénico, hecho de especial relevancia en biorremediación debido a su capacidad potencial de oxidar arsenitos (As<sup>III</sup>) a la forma menos soluble y menos tóxica As<sup>V</sup>, más fácilmente recuperable por procesos de filtración. El siguiente objetivo sería testar y confirmar la habilidad de oxidación mediante diversos procedimientos.

Se tomaron muestras en la surgencia y la desembocadura del manantial, y se filtraron a través de membranas de policarbonato que se usaron para inocular medios prediseñados en diferentes condiciones y suplementados con distintas concentraciones de As<sup>III</sup> (0,5–5 mM), prestando especial atención a las condiciones de crecimiento de quimiolitioautótrofos termófilos en microaerofilia (requerimientos usados por la mayoría de *Aquificales*)<sup>1</sup>. Estas últimas condiciones, permitieron identificar secuencias del gen 16S con elevada similitud (99%, SILVA nr) con miembros de dicho grupo, como *Thermothrix azorensis* o *Hydrogenobacter*. Como primera aproximación, se testó cualitativamente la oxidación de arsenitos con KMnO<sub>4</sub><sup>2</sup>. Se seleccionó la biomasa de los medios líquidos enriquecidos en termófilos resistentes a las concentraciones de As<sup>III</sup> ensayadas y se inocularon medios de cultivo en las condiciones pre-optimizadas para *Aquificales*, observándose oxidación completa tras 12 días de incubación.

**Palabras clave:** biorremediación, termófilos, oxidación de arsenitos, aguas geotermales.

### Bibliografía:

<sup>1</sup> Aguiar, P, Beveridge, TJ and Reysenbach, AL (2004). *Sulfurihydrogenibium azorensis*, sp. nov., a thermophilic hydrogen-oxidizing microaerophile from terrestrial hot springs in the Azores. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 33–39.

<sup>2</sup> Fan, H, Su, C, Wang, Y, Yao, J, Zhao, K and Wang, G (2008). Sedimentary arsenite-oxidizing and arsenate-reducing bacteria associated with high arsenic groundwater from Shanyin, Northwestern China. *J. Appl. Microbiol.* 105, 529–39.

**Financiación:** trabajo realizado en la *Universidade Católica Portuguesa* (Porto) en el marco del Programa *IACOBUS* (Agrupación Europea de Cooperación Territorial Galicia – Norte de Portugal).



## **P28. Estudios de interacción proteína-DNA con la región promotora de la nitrato reductasa asimilativa de *Haloferax mediterranei***

**Sandra Pastor-Soler, Vanesa Bautista, Julia Esclapez, Mónica Camacho, María José Bonete.**

*Grupo de Biotecnología de Extremófilos. Área de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Alicante.*

La vía asimilativa del nitrato en *Haloferax mediterranei* se encuentra altamente regulada a nivel transcripcional por un control específico dependiente de la disponibilidad de amonio<sup>1</sup>. Análisis transcriptómicos llevados a cabo previamente han permitido identificar una expresión diferencial de diversos genes implicados en dicha vía en función de la fuente de nitrógeno disponible. Entre los genes que presentan una expresión diferencial encontramos la nitrato reductasa asimilativa (*nasA*), la cual presenta unos niveles de expresión menores en presencia de amonio que en presencia de nitrato o carencia de nitrógeno<sup>2</sup>. Sin embargo, hasta la fecha no se ha descrito ningún regulador responsable de la expresión diferencial de este gen en haloarqueas.

Partiendo de estos resultados y de los avances en el conocimiento de la regulación de los genes de haloarqueas a nivel transcripcional<sup>3</sup>, se realizaron ensayos de mutagénesis dirigida que afectaban a secuencias palindrómicas presentes en el promotor del gen *nasA*. Los resultados obtenidos dieron paso a la realización de ensayos de interacción DNA-proteína con la región promotora del gen *nasA*, con el fin de identificar posibles reguladores transcripcionales de este gen.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Martínez-Espinosa, R.M., Lledó, B., Marhuenda-Egea, F.C., Díaz, S., Bonete, M.J. 2009. *NO<sub>3</sub><sup>-</sup> / NO<sub>2</sub><sup>-</sup> assimilation in halophilic archaea: physiological analysis, nasA and nasD expressions*. *Extremophiles* **13**: 785–792.

<sup>2</sup> Esclapez, J., Pire, C., Camacho, M., Bautista, V., Martínez-Espinosa, R. M., Zafrilla, B., Vegara, A., Alcaraz, L.A., Bonete, M.J. 2015. *Transcriptional profiles of Haloferax mediterranei based on nitrogen availability*. *Journal of Biotechnology* **193**: 100- 107.

<sup>3</sup> Keese, A.M., Schut, G.J., Ouhammouch, M., Adams, M.W.W. and Thomm, M. 2010. *Genome-wide identification of targets for the archaeal heat shock regulator Phr by cell-free transcription of genomic DNA*. *Journal of Bacteriology* **192**: 1292–1298.

**Financiación:** MINECO BIO2013-42921-P.

## **P29. Evaluation of the different NGS (Next-Generation Sequencing) platforms to implement the OPU approach**

**Sara Díaz Moyá, Ramon Rosselló-Móra**

*Marine Microbiology Group (MMG), Mediterranean Institute of Advanced Studies (IMEDEA – CSIC- UIB).*

*E-mail: sdiaz@imedea.uib-csic.es*

Over the last decades, next-generation sequencing (NGS) platforms have allowed a high-throughput approach in the understanding of complex microbial communities. Most diversity studies have been based on 16S rRNA gene sequencing of individual or several variable regions of this gene. However, PacBio single-molecule real-time (SMRT) sequencing appears as an alternative capable of generating full-length 16S rRNA gene sequences with high-throughput yields<sup>1</sup>.

There are significant differences regarding to the length of the reads, sequencing protocols, and biases introduced by sequencing error rates, among the different NGS platforms. The size of the reads generated by the different platforms has an effect in the accuracy and resolution of the taxonomic identifications<sup>2</sup>. Moreover, the sequencing depth also differs between platforms, being Illumina MiSeq amplicon sequencing the one presenting the greater values<sup>3</sup>. These and the dissimilarity of the diversity achieved from the same sample by using different platforms leads to the uncertainty whether these platforms present a comparable quality.

This study aims at comparing the diversity analyses based on three different technologies: Roche454, Illumina MiSeq and PacBio SMRT, and, and these will be compared with the rRNA reads extracted from metagenomes based on direct Illumina sequencing. This evaluation has been done using three different datasets with distinct degree of complexity.

As a part of the global study, we present the comparison between the sequences originated from the solar salterns of Campos in Spain and from the saline lake Aran-Bidgold in Iran. Aran-Bidgold presented a greater diversity and a lower dominance in all four platforms. Both, richness and diversity values presented a maximum for PacBio and direct sequenced metagenomes. The sequences were classified into 260 OPU. Only 68 OPUs were shared among all platforms and metagenome reads, and 97 between the amplicon sequencing approaches. However, these OPUs represented the 84% and 91% of the sequences respectively. PacBio platform presented, in addition, the highest number of singletons and doubletons, and also of exclusive OPUs, evidencing a higher detection of the low abundant microorganisms that may belong to the rare-biosphere.

Moreover, permutation test and Spearman's rank correlation test showed that PacBio and Metagenomes exhibited the lowest divergence. Also, the degree of diversity is directly correlated with the degree of divergence between platforms (i.e. samples with higher diversity show higher divergence in the results obtained by different samples).

**Palabras clave:** 454, PacBio, Illumina, Metagenomes, diversity, OPU.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Singer, E., Bushnell, B., Coleman-Derr, D., Bowman, B., Bowers, R. M., Levy, A., Hallam, S. 2016. *High-resolution phylogenetic microbial community profiling*. PloS one **7(2)**, e30087

<sup>2</sup> Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glöckner, F. O., Ludwig, W., Schleifer, K. H., Rosselló-Móra, R. 2014. *Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences*. Nature Reviews. Microbiology **12(9)**, 635

<sup>3</sup> Luo, C., Tsementzi, D., Kyrpides, N., Read, T., Konstantinidis, K. T. 2012. *Direct comparisons of Illumina vs. Roche 454 sequencing technologies on the same microbial community DNA sample*. PloS one **7(2)**, e30087

**Financiación:** Project CGL2015-66686-C3-1-P of the Ministry of Economy of Spain.

## **P30. Estudios dependientes de cultivo de arqueas y bacterias a partir de estanques con diferentes salinidades y de suelos salinos**

**Ana Durán-Viseras, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa**

*Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla, 41012 Sevilla.*

*E-mail: anaduran@us.es*

Estudios metagenómicos recientes en estanques de diferentes salinidades (desde 10% hasta la saturación) de salinas marinas han demostrado que la diversidad microbiana está fuertemente influenciada por la salinidad, permitiendo así determinar, cuáles son los grupos mayoritarios en dichos estanques y sus actividades. Además, dichos datos metagenómicos indican que un gran porcentaje de los procariotas presentes en estos estanques aún no han sido aislados en cultivo puro.

Mientras que la mayoría de los estudios se centran en los estanques con mayor salinidad, denominados cristalizadores, donde las poblaciones predominantes son las haloarqueas, las nanohaloarqueas y algunos *Bacteroidetes*, los estanques con salinidades intermedias no han recibido tanta atención. El objetivo de este estudio es el aislamiento y la caracterización de nuevos grupos microbianos de arqueas y bacterias, abundantes en estos ambientes hipersalinos pero que aún no han podido ser aislados en cultivo puro a partir de muestras de agua de estanques a diferentes salinidades así como, de suelos hipersalinos.

Hasta el momento hemos conseguido aislar un elevado número de microorganismos, tanto haloarqueas como bacterias halófilas, si bien la mayoría se corresponden con microorganismos ya identificados previamente como habitantes de estos ambientes hipersalinos, los cuáles a pesar de aislarse frecuentemente en el laboratorio, no se corresponden con los microorganismos más abundantes en dichos ambientes según estudios moleculares. No obstante, algunas de las cepas aisladas podrían constituir nuevas especies no descritas hasta la fecha.

**Palabras clave:** ambientes hipersalinos, haloarqueas, bacterias halófilas, cultivo puro.

**Financiación:** Proyecto CGL2013-46941-P (MINECO) y PAIDI (Junta de Andalucía), ambos con fondos FEDER.

## **P31. Diseño *in silico* de cepas mejoradas en la producción de ectoína en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens***

**Lourdes Martínez-Martínez, Francine Piubeli, Rosa García-Valero, Emilia Naranjo, Joaquín J. Nieto, Carmen Vargas y Montserrat Argandoña.**

*Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad de Sevilla, 41012 Sevilla.*

*E-mail: loumartinez@us.es*

El uso de modelos metabólicos a escala genómica (GEM) en Ingeniería Metabólica se ha incrementado ampliamente en los últimos años. El avance en el conocimiento y manipulación de estos modelos ha dado lugar al desarrollo de métodos computacionales para la predicción *in silico* de cepas manipuladas genéticamente que conducen a la sobreproducción de productos biotecnológicos de interés. *C. salexigens* es una bacteria halófila que sintetiza y acumula ectoínas de manera natural en respuesta al estrés osmótico y térmico. Estos solutos compatibles tienen potentes propiedades protectoras y estabilizadoras, teniendo un gran potencial en diversas áreas (Biomedicina, Industria, Cosmética...). Por ello, es necesario un diseño racional de estrategias de Ingeniería Metabólica que permitan manipulaciones genéticas que conduzcan a su sobreproducción. En este estudio, se han seleccionado dos algoritmos para predecir reacciones que deberían ser eliminadas con el fin de aumentar las tasas de producción de ectoína, utilizando el modelo metabólico a escala genómica iFP764, desarrollado por nuestro grupo. Por lo tanto, los genes asociados a ellas serán genes diana para obtener cepas knock-out de interés.

El primer método seleccionado para el diseño de cepas fue Optknock, un algoritmo que utiliza Flux-Balance-Analysis (FBA) para maximizar el crecimiento celular<sup>1</sup>. El segundo fue Optgene, basado en MOMA (Minimización del Ajuste Metabólico)<sup>2</sup>. Los primeros análisis realizados simulando condiciones de alta y baja salinidad, indican que las reacciones objetivo predichas por ambos algoritmos forman parte de las vías de la glicólisis y pentosas fosfato. La utilización conjunta de estas dos estrategias combina la velocidad y versatilidad del algoritmo OptKnock con el riguroso potencial de búsqueda de OptGene, facilitando así el diseño racional de nuevas cepas de *C. salexigens* para la sobreproducción de ectoínas.

**Palabras clave:** *Chromohalobacter salexigens*, ectoína, Optknock, Optgene, Ingeniería Metabólica.

### **Bibliografía:**

<sup>1</sup> Burgard, A.P., Pharkya, P., Maranas, C.D. (2003) *Biotechnol Bioeng*: 84, 647-57.

<sup>2</sup> Patil, K.R., Rocha, I., Forster, J., Nielsen, J. (2005). *BMC Bioinformatics*: 6, 308.

**Financiación:** MINECO/FEDER (BIO2015-63949-R). Beca PIF Universidad de Sevilla.

## **P32. Thermostable *in vitro* transcription and translation for high-throughput selection of thermostable biocatalysts**

**Ana Luísa Ribeiro<sup>1</sup>, José Eduardo González-Pastor<sup>2</sup>, José Berenguer<sup>1</sup>, Aurelio Hidalgo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain.*

<sup>2</sup>*Centro de Astrobiología (CSIC-INTA), Torrejón de Ardoz, Madrid, Spain.*

*E-mail: ana.lopes@uam.es*

In our laboratory we have developed a thermostable *in vitro* transcription/translation system (t-IVTT) for expression of thermozymes from randomized mutant libraries and metagenomic libraries in microfluidic format.

The t-IVTT system consists of cell-free S30 extracts from *Thermus thermophilus* supplemented with a commercial thermostable T7 RNA polymerase (TT7 RNAP).

We were able to confirm the synthesis of active superfolder GFP (sGFP) at 37 °C, 50 °C and 55 °C. However, by limitation of the TT7 RNAP, higher synthesis temperatures could not be achieved. Using a microfluidics platform the t-IVTT reaction was encapsulated as a water-in-fluorinated oil emulsion. When incubating the microdroplets at 50 °C for 3h, the synthesis of sGFP could be monitored in a real-time thermocycler. The formation of a double emulsion was also accomplished, allowing for the discrimination of the fluorescent droplets by FACS.

Our final goal is to use the t-IVTT system to create a screening platform that allows the highest throughput ( $10^7$ - $10^8$ ) with minimum effort and cost, while successfully performing selection at high temperatures.

**Palabras clave:** *in vitro* transcription/translation system, microfluidics.

**Financiación:** This project has received funding from the European Union's Research and Innovation Programme FP7 under the Marie Curie IAPP action 324439 "Hotdrops" and Horizon 2020 under grant agreements N° 635595 "Carbazymes" and N° 685474 "Metafluidics". We have also received funding from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness under Project BIO2013-44963-R.

## **P33. Development of an esterase/lipase activity assay at high temperature for droplet-based microfluidic platforms**

**María Luisa Rúa<sup>1</sup>, Ana Torrado<sup>1</sup>, Aurelio Hidalgo<sup>2</sup>, José Berenguer<sup>2</sup>, Liisa Van Vliet<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Grupo de Bioquímica, Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Universidad de Vigo, As Lagoas, 32004 Ourense, Spain.*

<sup>2</sup>*Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). 28049-Madrid.*

<sup>3</sup>*Drop-Tech Ltd., 80 Tennis Court Road, CB2 1GA, Cambridge, UK*

*E-mail: mlrua@uvigo.es*

Unculturable bacterial communities are a rich source of potential new biocatalysts for the industry, but their discovery by functional metagenomics is not straightforward. Microfluidics provides a powerful screening tool by generating monodisperse picoliter droplets acting as individual reactors, that has been successfully used to isolate new enzymes.

Under the frame of the Marie Curie HotDrops project, titled "Ultrahigh-throughput platform for the screening of thermostable proteins by thermophilic in vitro transcription-translation and microfluidics", this work describes the development of an esterase/lipase activity assay at high temperature for droplet-based microfluidic platforms. Based on the enzymatic reaction with carboxylic acids esterified to fluorescein as activity reporter and subsequent detection of the positive hits by FACS, the main challenges working at high temperature were to get stable microdroplets and stable substrates and products that remain inside the microdroplets.

Protocols based on the use of different fluorinated oils and surfactants to build and stabilize the microdroplets have been defined, allowing to perform successfully kinetics for the hydrolysis of fluorescein dilaurate in microdroplets over at least a period of 6-h at 70°C.

### **Literature:**

<sup>1</sup> Borelli, G., Torn, D. *Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industry applications*. 2015. *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 20774-20840.

<sup>2</sup> Cow, J., Kovacic, F., Antonia, Y. D., Krauss, U., Fersini, F., Schmeisser, C., Lauinger, B., Bongen, P., Pietruszka, J., Schmidt, M., Menyes, I., Bornscheuer, U. T., Eckstein, M., Thum, O., Liese, A., Mueller-Dieckmann, J., Jaeger, K. E., Streit, W. *The Metagenome-Derived Enzymes LipS and LipT Increase the Diversity of Known Lipases*. 2012. *PLOS One* **7**:10.

<sup>3</sup> Leis, B., Angelov, A., Mientus, M., Li, H., Pham, V. T. T., Lauinger, B., Bonen, P., Pietruszka, J., Goncalves, L. G., Santos, H., Liebl, W. *Identification of novel esterase-active enzymes from hot environments by use of the host bacterium Thermus thermophilus*. 2015. *Frontiers in Microbiology*, **6**:275.

**Financing:** HotDrops (FP7-PEOPLE-2012-IAPP, project number: 324439)

## ÍNDICE DE AUTORES

- A**
- A. Hidalgo, 33  
A. Quesada, 15  
Adolfo del Campo, 27  
Ali Tahrioui, 16  
Ana Belén Martín-Cuadrado, 12  
Ana Durán-Viseras, 7, 41  
Ana Luísa Ribeiro, 7, 43  
Ana Torrado, 4, 7, 44  
Anna Vegara, 30  
Antonio Ventosa, 3, 21, 32, 41  
Aurelio Hidalgo, 23, 43, 44
- B**
- Borja Aldeguer, 5, 12
- C**
- C. Ascaso, 15  
C. Castañeda, 34  
Carlos P. Garay, 6, 26  
Carmen Collado, 26  
Carmen Vargas, 16, 19, 42  
Célia M. Manaia, 38  
Christian Abendroth, 26  
Clara López-Hermoso, 21, 32  
Clara Toro, 31  
Cristina Escudero, 5, 6, 11, 27, 35, 36  
Cristina López, 12  
Cristina Sánchez-Porro, 6, 21, 32, 41
- D**
- Diana Wolf, 19
- E**
- E. O Casamayor, 34  
Elena Puerta-Fernández, 5, 13  
Emilia Naranjo, 5, 16, 19, 42  
Emilio O. Casamayor, 17  
Enrique Gómez, 14  
Enrique J. Gómez, 6, 22  
Esther Rodríguez Belmonte, 28  
Esther Sánchez, 23
- F**
- F. Santos, 6, 29  
Fernando Santos, 12  
Francine Piubeli, 16, 19, 42  
Francisca Font-Verdera, 5, 20
- G**
- Gloria Payá, 30
- H**
- Hermoso J.A., 18  
Hongmei Wang, 36
- I**
- Isabel Sánchez, 31
- J**
- J. Antón, 29  
J. Berenguer, 33  
J. Bravo, 6, 33  
J. Christie-Oleza, 29  
J. DiRuggiero, 15  
J. Herrero-Isern, 34  
J. Wierzchos, 15  
J.R. Hernandez-Fernaud, 29  
Joaquín J. Nieto, 16, 19, 42  
Jon Ochoa, 24  
Jose A. Delgado, 22  
José A. Delgado, 5, 14  
José Berenguer, 23, 43, 44  
José Eduardo González-Pastor, 24, 43  
Jose M. Marti, 26  
José Manuel Martínez, 5, 11, 35, 36  
José Manuel Palacios, 35  
Josefa Antón, 12, 24  
Juan José Escuder Rodríguez, 6, 25  
Juan M. González, 13, 14  
Julia Esclapez, 30, 39
- L**
- Liisa Van Vliet, 44  
Long Xiao, 36  
Lourdes Martínez-Martínez, 7, 16, 19, 42  
Luis Martínez García, 31
- M**
- M. Martínez-García, 29  
M. Menéndez-Serra, 6, 34  
M. Reyes González-Tejero, 31  
M.C. Casero, 5, 15  
M<sup>a</sup> Dolores Ramos, 12  
Macarena Benguigui, 24  
Manuel Becerra Fernández, 25  
Manuel Casares, 31  
Manuel Martínez, 5, 11, 12, 35, 36  
Manuel Salvador, 16  
María Eugenia de Castro de Antonio, 6, 28  
María Isabel González Siso, 25  
María José Bonete, 39  
María L. Rúa, 38  
María Lamprecht, 6, 24  
María Luisa Rúa, 4, 44  
María-José Bonete, 30  
Mateu Menéndez-Serra, 17  
MD Ramos-Barbero, 29  
Mercedes Antón, 24  
Mercedes Sánchez, 6, 23  
Mónica Camacho, 30, 39  
Monike Oggerin, 27  
Montserrat Argandoña, 6, 16, 19, 42
- N**
- Nuria Rodríguez, 11

*XIV Reunión de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos (RedEX)*

	<b>O</b>	Sara Díaz Moyá, 7, 40	
O. Artieda, 15 Olga Genilloud, 31			<b>T</b>
	<b>P</b>	Tania Leandro, 35 Thorsten Masher, 19 Ting Huang, 7, 36 Torrado A., 18	
Pablo Fuciños, 38 Patricia Mena, 31			<b>V</b>
	<b>R</b>	V. Meslier, 15 Vanessa Bautista, 30, 39 Verónica Rodríguez-Herrero, 6, 30 Vicente Arnau, 26 Victor González-Menéndez, 6, 31 Victoria Fernandez-Pedrosa, 26	
Rafael R. de la Haba, 5, 21, 32 Rajkovic J., 18 Ramon Rosselló-Móra, 20, 40 Raquel García, 7, 35 Ricardo Amils, 5, 11, 27, 35, 36 Rivera I., 5, 18 Roberto González, 7, 38 Rosa García-Valero, 5, 16, 19, 42 Rúa M.L., 18			<b>W</b>
	<b>S</b>	Wladimiro Diaz, 26	
Salvador Mirete, 24 Sandra Pastor-Soler, 7, 39			<b>X</b>
		X. Triadó-Margarit, 34 Xavier Triadó-Margarit, 5, 7, 17	



# XIV REUNIÓN

Red Nacional de Microorganismos Extremófilos (RedEX)



Universida deVigo

