

Ecología Microbiana, Genómica y Sistemática Bacteriana

Martha E. Trujillo, Patricia Benito, Brenda Román, Lorena Carro, Raúl Riesco e Irene Moro



Departamento de Microbiología y Genética, Edificio Departamental, Campus Miguel de Unamuno, Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain



Figura 1. Miembros del grupo. De izquierda a derecha: Irene Moro, Brenda Román, Raúl Riesco, Lorena Carro, Martha E. Trujillo y Patricia Benito.

Nuestro Grupo de Investigación Reconocido (GIR) de la Universidad de Salamanca "Ecología y Biotecnología Microbiana" es dirigido por la doctora Martha E. Trujillo Toledo profesora del departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca y editora en jefe de la reputada revista *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. El grupo profundiza en el estudio del género *Micromonospora* y actualmente estamos llevando a cabo dos líneas de investigación: la primera centrada en el rol ecológico de *Micromonospora* y su interacción con diferentes leguminosas; y la segunda dirigida a estudios genómicos y de sistemática bacteriana.

El género *Micromonospora* descrito por primera vez en 1923 por Ørskov, es un grupo de actinobacterias Gram-positivas que en la actualidad está representado por 82 especies reconocidas oficialmente. Este género se ha aislado de diferentes hábitats naturales incluyendo ambientes acuáticos, marinos, suelos, manglares, animales y tejidos de plantas. Diversos estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado la presencia de *Micromo-*

nospora en nódulos fijadores de nitrógeno de plantas actinorrizas, pero sobre todo de nódulos de diferentes leguminosas procedentes de climas templados y tropicales. En 2007 nuestro grupo publicó el primer aislamiento de *Micromonospora* procedente de nódulos de altramuz (*Lupinus angustifolius*), creyendo en un primer momento que era una contaminación debida a una inadecuada esterilización de los nódulos. Este hallazgo fue muy importante debido a que se consideraba que únicamente bacterias del género *Frankia* y del grupo de los rhizobia eran los únicos microorganismos que habitaban en el interior de nódulos de fijación de nitrógeno de plantas actinorrizas y leguminosas respectivamente, donde llevan a cabo la fijación de nitrógeno como endosimbiontes. Desde entonces diferentes cepas de *Micromonospora* se han aislado de gran variedad de plantas, no solo de nódulos fijadores de nitrógeno, sino también de rizosfera y otras zonas de la fisiología de la planta. A lo largo de nuestra trayectoria de trabajo hemos descrito alrededor de 13 especies pertenecientes a dicho género, entre las que se incluyen a *M. saelicesensis* Lupac 09^T y *M. lupini* Lupac 14N^T aisladas de nódulo-

los de altramuz azul, *Micromonospora ureilytica* GUI23^T y *Micromonospora noduli* GUI43^T procedentes de nódulos de guisante, *M. cremaea* CR30^T, *Micromonospora halotolerans* CR18^T y *M. zamorensis* CR38^T obtenidas de rizosfera de guisante. Nuestro grupo también ha participado en varios proyectos taxonómicos con investigadores nacionales e internacionales, gracias a los cuales se han descrito nuevas especies de géneros diferentes a *Micromonospora* como *Kribbella lupini* LU14^T aislada de raíces de altramuz azul, *Promicromonospora kroppenstedtii* RS16^T aislada de suelo arenoso, *Auraticoccus monumenti* MON 2.2^T aislado de monumentos históricos, *Microbacterium diaminobutyricum* RZ63^T y *Microbacterium proteolyticum* RZ36^T procedentes de raíces de la planta halófila *Halimione portulacoides*, *Epidermidibacterium keratini* EPI-7^T aislado de epidermis humana o *Modestobacter caceresii* KNN 45-2b^T y *Pseudonocardia nigra* ATK03^T procedentes de suelo y rocas del desierto de Atacama. A pesar del gran número de bacterias descritas por el grupo, hoy en día tenemos una colección de cerca de 4.000 cepas que, congeladas, están a la espera de ser estudiadas.

En la actualidad nuestro grupo está apostando fuertemente por la secuenciación de genomas completos y su utilización, no solo para determinar las cualidades y propiedades de los microorganismos, sino para la descripción de nuevas especies. Esto es debido a que la implementación de tecnologías de secuenciación de genomas completos hace posible obtener información que las pruebas fenotípicas son incapaces de aportar, aumentando nuestro conocimiento de los procesos evolutivos y de desarrollo, pero también proporcionando nuevas métricas para el reconocimiento de los límites entre diferentes géneros o especies. Por todo ello, nuestro grupo de investigación ha presentado en los últimos congresos diferentes trabajos que versan sobre la importancia del uso de nuevas técnicas, no solo de secuenciación, sino de análisis de datos que están surgiendo con mayor rapidez y efectividad, con el objetivo de clasificar las nuevas especies de manera correcta y sin errores que luego deban ser solventados en el futuro con nuevas reclasificaciones. También en este último año, hemos publicado un artículo donde se muestra que la utilización de genomas completos nos puede proporcionar un nuevo enfoque taxo-genómico de la sistemática de procariotas, ayudando a la resolución de la estructura de taxones complejos como son los géneros *Amycolatopsis*, *Rhodococcus*, *Streptomyces* e incluso *Micromonospora* y proporcionando conocimientos valiosos sobre el potencial biotecnológico y ecológico de los grupos definidos. Además de proveer información taxonómica, la secuenciación de genomas puede generar datos sobre las propiedades biológicas y biotecnológicas de las diferentes cepas de estudio, lo que resulta de gran interés en grupos productores de antibióticos como es el caso de *Micromonospora*.

Un ejemplo de la importancia del estudio de los genomas bacterianos a la hora de estudiar su potencial ecológico es el caso de *Micromonospora lupini* Lupac 08, la cual cuenta con casi 7.000 genes, de los cuales, casi 200 codifican para enzimas hidrolíticas que destruyen tejidos vegetales, lo que resulta paradójico en una bacteria que se encuentra en el interior de las plantas y que favorece su protección y crecimiento, según lo demuestran varios estudios. Además de presentar estos genes relacionados con enzimas hidrolíticas *M. lupini* está caracterizada por presentar genes relacio-

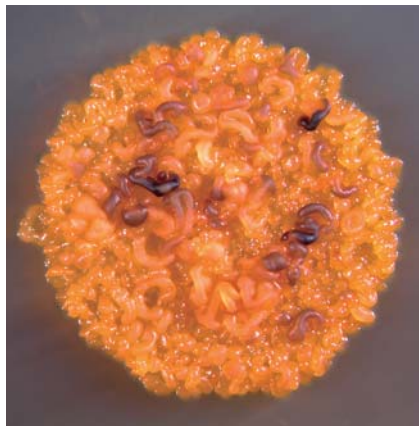


Figura 2. Morfología típica de *Micromonospora*.

nados con promoción del crecimiento vegetal, tales como la producción de sideróforos, fitohormonas como el ácido indol acético, degradación de quitina (biocontrol), y la biosíntesis de trehalosa para contribuir al bienestar de la planta huésped. Dichas actividades además de ser localizadas en el genoma han podido ser observadas *in vitro* en nuestro laboratorio. Conocer el conjunto de genes de *Micromonospora* puede ayudarnos a entender su interacción con cultivos importantes, como los cultivos de garbanzos, lentejas, judías o alfalfa; lo que abre la puerta al desarrollo de nuevos avances agrobiotecnológicos. La información proporcionada tras el estudio del genoma de Lupac 08 nos ha ayudado a acercarnos a la respuesta sobre qué función o funciones tiene *Micromonospora* en su asociación con la planta. Por ello en el último año mediante la combinación de técnicas de microscopía confocal y electrónica de transmisión con proteínas fluorescentes hemos podido estudiar el proceso de colonización entre *M. lupini* (Lupac 08), tomada como modelo, y tres plantas huéspedes diferentes como son el trébol (*Trifolium repens*), la alfalfa (*Medicago sativa*) y el altramuz (*Lupinus albus*). Este es el primer estudio que describe en detalle la interacción de una bacteria no rizobio con varias leguminosas desde el proceso de colonización hasta su observación en el interior de los nódulos fijadores de nitrógeno cohabitando con las bacterias fijadoras de nitrógeno. Estos estudios, además, muestran una relación no específica entre *Micromonospora* y la planta, ya que *M. lupini* fue aislada de nódulos de *Lupinus angustifolius*, y sin embargo tiene la capacidad de infectar los tejidos de leguminosas como trébol, alfalfa y otra variedad de altramuz diferente de la que fue aislada (*Lupi-*

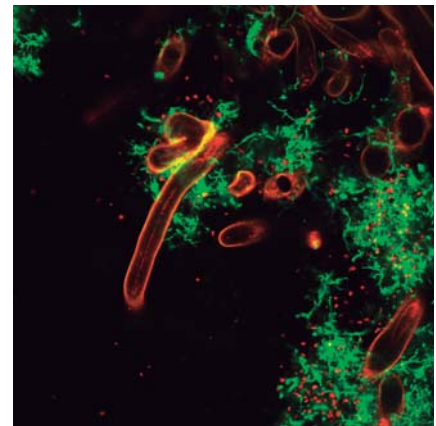


Figura 3. Interacción de *Micromonospora* (verde) con pelos radicales de trébol junto a la bacteria *Rhizobium* sp. (rojo).

nus albus), sugiriendo que esta cepa tiene un amplio rango de hospedadores.

Actualmente estamos trabajando en un proyecto donde se han secuenciado los genomas de 17 cepas de *Micromonospora* con el fin de determinar algunos de los procesos de interacción entre la bacteria y la planta. Para completar la información que nos proporcionan los genomas a la hora de estudiar el papel ecológico de *Micromonospora* en relación con plantas se están realizando una serie de estudios proteómicos y transcricómicos, cuyos datos están proporcionando sólidos pilares para acercarnos a la respuesta sobre qué papel tiene *Micromonospora* en su cercana relación con las leguminosas y plantas actinorrízicas. Para ello, nuestro grupo de trabajo realiza investigación conjunta con científicos de España, Inglaterra, Francia, Alemania, Estados Unidos, Corea del Sur, Japón, México, Portugal, entre otros países.

BIBLIOGRAFÍA

- Benito P, Alonso-Vega P, Aguado C, Luján R, Anzai Y, Hirsch AM y Trujillo ME.** (2017) Monitoring the colonization and infection of legume nodules by *Micromonospora* in co-inoculation experiments with rhizobia. *Sci Rep* 7 (1), 11051
- Carro L, Nouioui I, Sangal V, Meier-Kolthoff JP, Trujillo ME, Montero-Calasanz MDC, Sahin N, Smith DL, Kim KE, Peluso P, Deshpande S, Woyke T, Shapiro N, Kyripides NC, Klenk HP, Göker M y Goodfellow M.** (2018) Genome-based classification of micromonosporae with a focus on their biotechnological and ecological potential. *Sci Rep* 8(1):525.
- Trujillo ME, Bacigalupe R, Pujic P, Igarashi Y, Benito P, Riesco R, Médigue C y Normand P.** (2014) Genome features of the endophytic actinobacterium *Micromonospora lupini* strain Lupac 08: on the pro-

cess of adaptation to an endophytic life style? PLoS One 9(9): e108522.

Trujillo ME, Kroppenstedt RM, Fernandez-Moliner C, Schumann P y Martinez-Molina E (2007)

Micromonospora lupini sp. nov. and *Micromonospora saelicesensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Lupinus angustifolius*. Int J Syst Evol Microbiol 57:2799–2804.

Trujillo, ME, Riesco, R, Benito, P, and Carro, L. (2015). Endophytic actinobacteria and the interaction of *Micromonospora* and nitrogen fixing plants. Front Microbiol 6, 1–15.

Diversidad procariota en ambientes hipersalinos

Cristina Sánchez-Porro, Rafael Ruiz de la Haba y Antonio Ventosa

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

sanpor@us.es
rrh@us.es
ventosa@us.es



De izquierda a derecha: Blanca Vera Gargallo, Antonio Ventosa, María José León, Cristina Sánchez-Porro, Clara López Hermoso, Carmen Infante Domínguez, Ana Durán Viseras y Rafael Ruiz de la Haba.

Nuestro grupo de investigación lleva activo desde hace más de 35 años; durante este tiempo hemos centrado nuestros estudios en aspectos relacionados con la diversidad y taxonomía de bacterias y arqueas halófilas, es decir, aquellas que habitan en ambientes con elevadas concentraciones de sales. Hasta la fecha nuestro grupo ha dado nombre a más de 130 especies de bacterias y arqueas, 34 géneros, varias nuevas familias y una clase. Recientemente hemos participado en la actualización del Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, con 19 capítulos dedicados a las haloarqueas, que incluyen 10 géneros, 6 familias, 2 órdenes y una clase. Aunque nuestros estudios se han centrado en el estudio taxonómico y de biodiversidad de procariotas de ambientes acuáticos hipersalinos, también hemos realizado importantes aportaciones en otros

campos tales como la genómica y la metagenómica, los mecanismos de adaptación a los ambientes extremos y las aplicaciones biotecnológicas de estos microorganismos, especialmente con relación a la producción de enzimas extracelulares por bacterias halófilas moderadas.

EL NUEVO GÉNERO *SPIRIBACTER*

En los últimos años, hemos incorporado las nuevas tecnologías de secuenciación masiva a nuestros estudios de diversidad procariota y hemos obtenido los metagenomas de varios estanques de las salinas de Santa Pola (Alicante) y de Isla Cristina (Huelva). Su análisis nos ha permitido conocer en profundidad tanto la diversidad filogenómica como metabólica de estos ambien-

tes hipersalinos. Estos estudios pusieron de manifiesto, entre otros muchos datos interesantes, la presencia de un nuevo grupo perteneciente a la clase *Gammaproteobacteria*, muy abundante en los estanques de salinidad intermedia, que no había sido ni aislado ni caracterizado hasta la fecha. Tras un meticoloso trabajo de aislamiento y caracterización describimos un nuevo género bacteriano, al que denominamos *Spiribacter*, debido a su peculiar morfología celular en forma de espiral. Hasta la fecha el género consta de cuatro especies: *S. salinus*, *S. curvatus*, *S. roseus* y *S. aquaticus*, todas ellas descritas por nuestro equipo. En la actualidad estamos estudiando aspectos relacionados con la biología de este nuevo grupo bacteriano, como son su peculiar morfología, sus mecanismos de osmorregulación y su distribución geográfica.