

## RESUMEN DE TESIS DOCTORAL

### **Controversias taxonómicas del género *Edwardsiella*: *E. tarda* vs. *E. piscicida***

**Noemí Buján Gómez**

Directoras:

Dra. Beatriz Magariños Ferro

Dra. Alicia E. Toranzo

Defendida el 30 de noviembre de 2018 en la Universidade de Santiago de Compostela (USC)

Realizada en la Facultade de Bioloxía – C.I.B.U.S.

Mención internacional y *cum laude*

### **Resumen**

El género *Edwardsiella* está compuesto por cinco especies, cuatro de ellas de gran importancia para la acuicultura debido a su implicación en varios brotes infecciosos. Este género empezó con la descripción de la especie *E. tarda* en la década de 1960, y luego con la descripción de las especies *E. hoshinae* y *E. ictaluri* a principios de los años ochenta. Más recientemente, se describieron las especies *E. piscicida* y *E. anguillarum*, en base a la reclasificación de aislados previamente identificados como *E. tarda*. Este hecho causó una gran discrepancia entre los científicos que trabajaban con estas especies ya que no todos aceptaban la descripción de las nuevas especies.

A pesar de esta reticencia, diversos autores en años previos destacaban la presencia de diferentes grupos dentro de la especie *E. tarda* mediante el estudio de esta especie por diferentes técnicas moleculares. Debido a todo esto, se llevaron a cabo estudios taxonómicos y genotípicos para esclarecer la filogenia en este género utilizando una amplia colección de cepas descritas como *E. tarda* aisladas de diferentes brotes infecciosos, así como de otros aislados facilitados por investigadores externos. Se comenzó empleando las técnicas de tipado AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) y MLSA (*MultiLocus Sequence Analysis*) cuyos resultados obtenidos mostraron que ambas técnicas son buenas herramientas taxonómicas capaces de discernir entre las especies, aunque solamente el MLSA resultó de utilidad para establecer relaciones entre los aislados y sus hospedadores o su origen geográfico. Cabe destacar que el gen analizado *dnaJ* (proteína de choque térmico 40) obtuvo más resolución que el concatenado, por lo que proponemos la secuenciación de este gen como la herramienta taxonómica universal para la identificación de las especies del género *Edwardsiella*. Una vez establecidas las diferencias taxonómicas, se llegó a la conclusión de que la especie *E. piscicida* es la responsable de la mayoría de los brotes infecciosos de edwardsielosis que anteriormente se atribuían a *E. tarda*.

Para intentar comprender la dispersión del género *Edwardsiella*, sus mecanismos de evolución y una posible especialización, se realizaron estudios genéticos poblacionales utilizando la técnica MLST (*MultiLocus Sequence Typing*). Los resultados indicaron que la mutación es el evento evolutivo más común dentro del género, aunque su repercusión en el proceso evolutivo general es la misma que la recombinación. Además, los análisis de dispersión mostraron que los aislados más alejados (Estados Unidos de América y China/Japón) son muy semejantes genéticamente, lo cual lleva a plantearse la hipótesis de que estos aislados se hayan dispersado gracias a la intervención del ser humano, probablemente en un intercambio de alevines o reproductores entre estas zonas geográficas. Este hecho pone de manifiesto la necesidad de ser más rigurosos en los controles sanitarios cuando se trata de transportar peces.

Para concluir con este trabajo, se estudiaron los posibles factores de virulencia en la especie *E. piscicida* mediante el empleo de las herramientas de proteómica comparativa, 2D-DIGE (*two-Dimensional fluorescence Difference Gel Electrophoresis*) y TMTsixplex™ (*Tandem Mass Tag™ 6-plex*). El análisis 2D-DIGE, mostró que proteínas como FliC, HtpG y ArnA, relacionadas con la resistencia a los antibióticos y/o los mecanismos de resistencia a las defensas del hospedador, forman parte del elenco de los factores de virulencia de *E. piscicida*. Por otro lado, se estudiaron los cambios producidos en el proteoma de esta bacteria sometida a diferentes concentraciones de hierro disponible mediante la herramienta TMTsixplex™. Los resultados de estos experimentos mostraron la importancia de los sistemas de captación de hierro cuando se dan condiciones de restricción de este elemento, ambiente que se presenta en el interior de un hospedador. Así, la expresión de sideróforos, de las proteínas relacionadas con su transporte transmembrana, de proteínas relacionadas con el estrés y proteínas implicadas en la defensa y supervivencia frente al sistema inmune del hospedador aumentan en condiciones privativas de hierro.

Los resultados obtenidos tras la finalización de los objetivos planteados en esta Tesis Doctoral aportan nuevos conocimientos acerca de un patógeno importante para la acuicultura marina. En base a ellos, se podrán desarrollar estrategias de prevención y tratamiento más específicas y eficaces lo cual, contribuirá a una disminución de las pérdidas económicas atribuidas a este patógeno bacteriano.

Por otro lado, es importante destacar que las herramientas taxonómicas y proteómicas desarrolladas y puestas a punto en este trabajo, son aplicables a otros patógenos bacterianos de interés en la acuicultura tanto marina como continental.

*Palabras clave:* taxonomía, *Edwardsiella*, acuicultura.

---

## Publicaciones de la Tesis

---

Enlace al documento completo: <http://hdl.handle.net/10347/18035>

- Buján, N., Toranzo, A. E., Magariños, B. (2018). *Edwardsiella piscicida*: a significant bacterial pathogen of cultured fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 131: 59-71. DOI: 10.3354/dao03281
- Buján, N., Balboa, S., Romalde, J. L., Toranzo, A. E., Magariños, B. (2018). Population genetic and evolution analysis of controversial genus *Edwardsiella* by multilocus sequence typing. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 127: 513-521. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.05.006
- Buján, N., Mohammed, H., Balboa, S., Romalde, J. L., Toranzo, A. E., Arias, C. R., Magariños, B. (2018). Genetic studies to re-affiliate *Edwardsiella tarda* fish isolates to *Edwardsiella piscicida* and *Edwardsiella anguillarum* species. *Systematic and Applied Microbiology*, 41: 30-37. DOI: 10.1016/j.syapm.2017.09.004
- Buján, N., Lasa, A., Toranzo, A. E., Magariños, B. (2017). Draft genome sequence of the fish strain *Edwardsiella tarda* NCIMB 2034. *Genome Announcements*, 5: e00359-17. DOI: 10.1128/genomeA.00359-17
- Buján, N., Toranzo A. E., Magariños B. (2017). Draft genome sequence of *Edwardsiella piscicida* strain CC35.1 isolated from diseased turbot (*Scophthalmus maximus*) in Europe. *Genome Announcements*, 5: e01626-16. DOI: 10.1128/genomeA.01626-16
- Buján, N., Hernández-Haro, C., Monteoliva, L., Gil, C., Magariños, B. (2015). Comparative proteomic study of *Edwardsiella tarda* strains with different degrees of virulence. *Journal of Proteomics*, 127: 310-320. DOI: 10.1016/j.jprot.2015.05.008