

Homeostasis iónica en levaduras y hongos filamentosos. Aplicaciones biotecnológicas y agrícolas

Laura Ramos-Moreno¹, M. Ángel Aparicio-Jiménez¹, Gabriel Caro¹, Francisco Javier Ruiz-Castilla¹, Fernando Calero¹, José J. Aguilar¹, Carlos Lucena², Francisco Javier Romera Ruiz², Carmen Michán³, José Ramos¹



¹Departamento de Microbiología, ²Departamento de Agronomía y ³Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.



Componentes y colaboradores del grupo Microbiología Agrícola de la UCO.

El grupo tradicionalmente se ha dedicado al estudio de la homeostasis de cationes y tolerancia a estreses abióticos en levaduras, no obstante, hemos emprendido nuevas líneas de investigación en los últimos años. A continuación, se resumen brevemente nuestras actividades (Figura 1):

1. IDENTIFICACIÓN DE LOS PROCESOS REGULADORES DE LAS RESPUESTAS A ESTRÉS SALINO Y OXIDATIVO EN LA LEVADURA HALOTOLERANTE *DEBARYOMYCES HANSENI*

En relación con este carácter halotolerante, pretendemos demostrar una interacción entre las vías de respuesta a estrés oxidativo y salino (Michán *et al.* 2013). Los experimentos correspondientes abarcan

una aproximación bioquímica, molecular y fisiológica. Nuestros resultados confirman que efectivamente, por ejemplo, genes que teóricamente responden a estrés salino también se regulan transcripcionalmente tras un tratamiento de estrés oxidativo y viceversa. Esta idea se refuerza a nivel bioquímico cuando se determinan diversas actividades de enzimas implicadas en las vías mencionadas.

2. UTILIZACIÓN DE LEVADURAS AUTÓCTONAS EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE EMBUTIDOS IBÉRICOS

En un trabajo anterior hemos aislado y caracterizado las principales levaduras implicadas en la fermentación de embutidos

ibéricos de la zona del Valle de los Pedroches (Ramos *et al.* 2017). Ahora estamos utilizando cepas autóctonas de *Debaryomyces hansenii* para inocular lomos y con el objetivo de caracterizar los cambios que inducen y mejorar el producto final. Observamos que la inoculación con levaduras específicas produce un efecto en las características fisicoquímicas del producto. De esta manera, los lomos inoculados poseían una mayor actividad de agua, mayor pH y un menor contenido en sodio que el control después del periodo de maduración. Además, la inoculación también indujo cambios en la proporción de compuestos volátiles y/o aromáticos como aldehídos, ésteres o alcoholes. Tras una cata de lomos sometidos a diversos tratamientos se observa una clara tendencia de mayor aceptación por el consumidor, de las muestras inoculadas específicamente con levaduras.

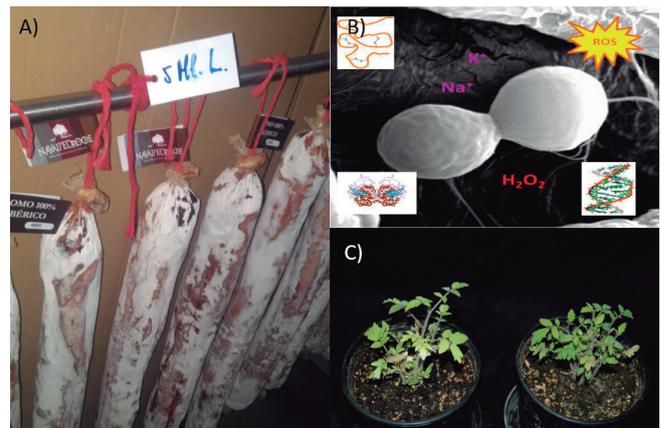


Fig. 1. Imágenes ilustrativas de las principales líneas de investigación del grupo. A. Microbiota y características fisicoquímicas de los embutidos ibéricos del Valle de los Pedroches (Córdoba). B. Homeostasis iónica e interacciones entre las vías de respuesta a estrés abiótico en levaduras. C. Simbiosis planta microorganismo en la nutrición férrica.

3. CARACTERIZACIÓN DE LA HOMEOSTASIS DE POTASIO Y DE LOS TRANSPORTADORES DE POTASIO EN LAS ESPECIES CANDIDA ALBICANS Y CANDIDA GLABRATA

Es conocido que las levaduras regulan sus concentraciones iónicas intracelulares a través de una serie de transportadores de potasio. Este catión es utilizado en diversas funciones como mantenimiento del pH interno, activación enzimática o regulación del potencial de membrana. Existen hasta tres familias de proteínas transportadoras de potasio en la membrana plasmática de las distintas especies de levaduras (Ramos, Ariño, and Sychrová. 2011). Actualmente nuestro grupo se encuentra estudiando los transportadores de dos levaduras que poseen el interés añadido de su patogenicidad, *Candida albicans* y *Candida glabrata*. Con respecto a *C. albicans* se conocen tres transportadores de potasio en la membrana plasmática, TRK1 (Transport of K⁺), ACU1 (Alkali Cation Uptake) y HAK1 (High Affinity K⁺ transporter) (Elicharová, Hušeková, and Sychrová. 2016), mientras que en *C. glabrata* se encuentra presente únicamente el transportador de potasio TRK1 (Llopis-Torregrosa *et al.* 2016). El interés por ambas levaduras radica principalmente en las funciones de estos transportadores de potasio, su papel en la homeostasis catiónica y su posible relación con patogenicidad.

Para la caracterización de estos transportadores seguimos dos aproximaciones diferentes, el estudio de mutantes carentes de dichas proteínas o la expresión heteróloga en *S. cerevisiae*. Nuestra propuesta es que, además de su función en la toma de potasio,

estos transportadores poseen funciones que, directa o indirectamente, afectan a múltiples procesos celulares.

4. SIMBIOSIS PLANTA MICROORGANISMO EN LA NUTRICIÓN FÉRRICA

Ciertos componentes presentes en los microorganismos no patogénicos son capaces de desencadenar en plantas dicotiledóneas la denominada ISR (*Induced Systemic Resistance*) (Romera *et al.* 2019). A estos compuestos se les conoce como MAMPs (*microbe-associated molecular patterns*). El etileno juega un papel fundamental en la inducción de dicha respuesta una vez la planta ha entrado en contacto con algún MAMP (Pieterse *et al.* 2014). Adicionalmente, esta hormona desempeña una función desencadenando la inducción de respuestas a deficiencia de hierro en la planta. Algunos genes clave en esta respuesta son MYB72 (que a su vez regula la excreción de fitosideróforos), FRO2 (una reductasa férrica) o IRT1 (un transportador de hierro). Teniendo en cuenta que tanto la deficiencia de hierro como la ISR están señalizadas por una vía común, se ha descubierto que en su mayoría, aquellos microorganismos inductores de la ISR, también promueven simultáneamente ambas respuestas (Pieterse *et al.* 2014; Zamioudis *et al.* 2015).

En colaboración con el grupo de Fisiología Vegetal supervisado por el Doctor Francisco Javier Romera Ruiz, hemos puesto a punto un sistema de inoculación de hongos en cultivo hidropónico utilizando una cepa no patogénica de *Fusarium oxysporum*. Nuestra hipótesis de trabajo es que el hongo promueve

una mejora de la capacidad reductora de hierro mejorando la fisiología de la planta en condiciones de deficiencia de este elemento.

REFERENCIAS

Elicharová H, Hušeková B, y Sychrová H. (2016). Three *Candida albicans* potassium uptake systems differ in their ability to provide *Saccharomyces cerevisiae* trk1trk2 mutants with necessary potassium. *FEMS yeast research*, 16.

Llopis-Torregrosa V, Hušeková B, y Sychrová H. (2016). Potassium uptake mediated by Trk1 is crucial for *Candida glabrata* growth and fitness. *PLoS one*, 11.

Michán C, Martínez JL, Alvarez MC, Turk M, Sychrová H, y Ramos J. (2013). Salt and oxidative stress tolerance in *Debaryomyces hansenii* and *Debaryomyces fabryi*. *FEMS yeast research*, 13, 180-188.

Pieterse CM., Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van Wees SC, y Bakker PA. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology*, 52, 347-375.

Ramos J, Ariño J, Sychrová H. (2011). Alkali-metal-cation influx and efflux systems in nonconventional yeasts species. *FEMS Microbiology Letters*. 317, 1-8.

Ramos J, Melero Y, Ramos-Moreno L, Michan C, y Cabezas L. (2017). *Debaryomyces hansenii* strains from valle de los pedroches iberian dry meat products: isolation, identification, characterization, and selection for starter cultures. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27, 1576-1585.

Romera FJ, García MJ, Lucena C, Martínez-Medina A, Aparicio MA, Ramos J, Alcántara E, Angulo M and Pérez-Vicente R (2019) Induced Systemic Resistance (ISR) and Fe Deficiency Responses in Dicot Plants. *Front. Plant Sci.* 10:287. doi: 10.3389/fpls.2019.00287

Zamioudis C, Korteland J, Van Pelt JA, van Hamersveld M, Dombrowski N, Bai Y, Hanson J, Van Verk MC, Ling HQ, Schulte-Lefert P, y Pieterse CM. (2015). Rhizobacterial volatiles and photosynthesis-related signals coordinate MYB 72 expression in *Arabidopsis* roots during onset of induced systemic resistance and iron-deficiency responses. *The Plant Journal*, 84, 309-322.