

Mecanismos de adaptación de las bacterias al ambiente rizosférico. Caracterización de consorcios bacterianos para tecnologías agrícolas y de medio ambiente (RIZOSFERA-UAM)

Rafael Rivilla y Marta Martín



Dpto Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid



Miembros del grupo Rizosfera UAM de izquierda a derecha Paula Sansegundo Lobato, Álvaro Gómez Luengo, Esther Blanco Romero, Miguel Redondo-Nieto, David Durán, Ignacio Fernández Puente, Marta Martín, Daniel Garrido Sanz y Rafael Rivilla

El grupo Rizosfera UAM está interesado en el conocimiento de los mecanismos moleculares que promueven la competencia y persistencia de las bacterias en un nicho ecológico cambiante y complejo como es la rizosfera de las plantas. Utilizamos como bacteria modelo *Pseudomonas fluorescens* F113, que además de promover el crecimiento vegetal produce un antifúngico de amplio espectro eficaz contra hongos fitopatógenos. Esta rizobacteria también la hemos utilizado con anterioridad en tecnologías de biorremediación de PCBs. Hemos trabajado en la regulación de la variación de fase y la movilidad como principales caracteres implicados en la colonización competitiva

de la rizosfera. Observamos que durante el proceso de colonización de la raíz se seleccionan variantes de fase hipermóviles que expresan dos aparatos flagelares; uno típico de *Pseudomonas* y otro críptico que no aparece en cultivos de laboratorio y que es más similar al flagelo de *Azotobacter*. Estas variantes de fase hipermóviles desplazan a la estirpe silvestre en experimentos de colonización competitiva de la rizosfera (Martínez-Granero *et al.*, 2006; Barahona *et al.*, 2016). Mediante la disección de los mecanismos de transducción de señal que regulan el movimiento en *P. fluorescens* F113, hemos construido mutantes múltiples hipermóviles más competitivos que la estirpe

silvestre. La realización de ensayos de control biológico con estos mutantes demostró que la competitividad y persistencia mejora las cualidades antifúngicas de la cepa en ensayos realizados con hongos patógenos de fresa y tomate (Navazo *et al.*, 2009; Barahona *et al.*, 2011). Nuestra investigación más reciente se centra en la regulación de las respuestas de adaptación a los cambios ambientales llevados a cabo por los reguladores transcripcionales AmrZ y FleQ. Los análisis transcriptómicos realizados con los mutantes en *amrZ* y *fleQ* en condiciones tanto de cultivo de laboratorio como, durante el proceso de colonización de la rizosfera y los ensayos de inmunoprecipitación de cromatina

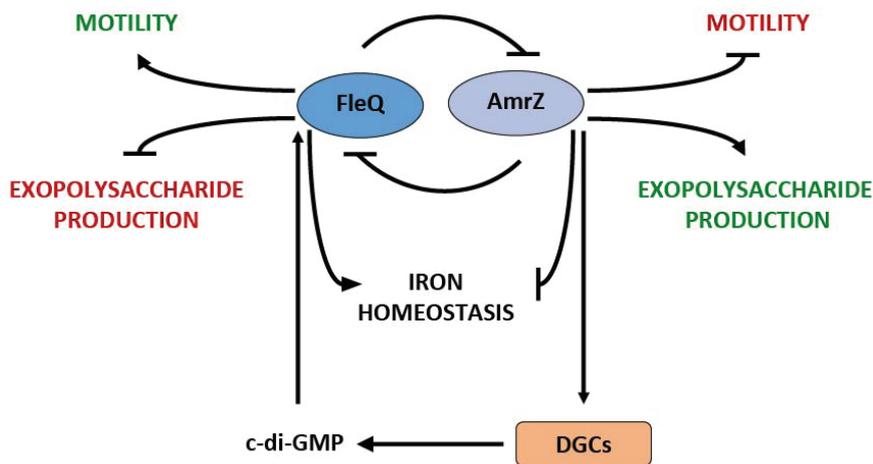


Fig. 1. FleQ y AmrZ forman un nodo central en la regulación de las respuestas de *P. fluorescens* F113 a los cambios ambientales. Blanco Romero *et al.*, Scientific Reports 2018 8:13145. © The Authors 2018 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

que permiten analizar los regulones de AmrZ y FleQ, han demostrado que estas proteínas son factores transcripcionales globales y que forman un nodo de regulación central en las respuestas de señalización que se producen cuando hay cambios ambientales (Figura 1). Ambas proteínas se reprimen mutuamente y regulan de manera antagónica la formación de exopolisacáridos, la capacidad de movimiento, la formación de biopelículas, la regulación de los sistemas de secreción tipo VI y la homeostasis del hierro y del di-GMPc (Martínez-Granero *et al.*, 2014; Muriel *et al.*, 2017; Blanco-Romero *et al.*, 2018; Muriel *et al.*, 2019).

Así mismo, hemos analizado filogenéticamente el Complejo de especies de *P. fluorescens*, al que pertenece la cepa modelo F113. Este complejo presenta una alta diversidad genómica y genética. El análisis *in silico* de los genomas completos depositados en las bases de datos nos ha permitido agrupar todas las cepas de este Complejo en 8 grupos filogenéticos que presentan características específicas. En lo que respecta a sus posibles aplicaciones en agrobiotecnología los grupos filogenéticos que acumulan un mayor número de características que promueven el crecimiento vegetal son: *P. corrugata* (que incluye a F113) *P. protegens* y *P. chlororaphis*. Por otro lado, y respecto a sus aplicaciones

en tecnologías del medio ambiente, el grupo de mayor interés para la degradación de contaminantes es *P. jessenii* (Garrido-Sanz *et al.*, 2016).

Respecto a la transferencia de conocimientos y aplicaciones de las bacterias del suelo en tecnologías de medioambiente, el análisis del Complejo *fluorescens* nos ha permitido determinar secuencias específicas de grupo y hemos diseñado una estrategia de PCR, que nos permite asignar cualquier aislado a alguno de los 8 subgrupos (Garrido-Sanz *et al.*, 2017). También, hemos aislado 2 consorcios bacterianos para la descontaminación de PCBs y Diesel, en sistemas de biorremediación. El análisis metagenómico nos ha permitido caracterizar estos consorcios y dilucidar el papel que juega cada miembro en la degradación del contaminante (Garrido-Sanz *et al.*, 2018; Garrido-Sanz *et al.*, 2019). Basados en este tipo de análisis también estamos colaborando con empresas del sector agrobiotecnológico, caracterizando consorcios para ser utilizados como inoculantes agrícolas para la promoción del crecimiento vegetal.

BIBLIOGRAFÍA

Barahona E, Navazo A, Garrido-Sanz D, Muriel C, Martínez-Granero F, Redondo-Nieto N, Martín M y

- Rivilla R. (2016) *Pseudomonas fluorescens* F113 can produce a second flagellar apparatus, which is important for plant root colonization. *Front Microbiol* 7:1471.
- Barahona E, Navazo A, Martínez-Granero F, Zea-Bonilla T, Pérez-Jiménez RM, Martín M y Rivilla R. (2011) *Pseudomonas fluorescens* F113 mutant with enhanced competitive colonization ability and improved biocontrol activity against fungal root pathogens. *Appl Environ Microbiol*. 77:5412-9
- Blanco-Romero E, Redondo-Nieto M, Martínez-Granero F, Garrido-Sanz D, Ramos-González MI, Martín M y Rivilla R. (2018) Genome-wide analysis of the FleQ direct regulon in *Pseudomonas fluorescens* F113 and *Pseudomonas putida* KT2440. *Sci Rep*. 8(1):13145.
- Garrido-Sanz D, Arrebola E, Martínez-Granero F, García-Méndez S, Muriel C, Blanco-Romero E, Martín M, Rivilla R, Redondo-Nieto M. (2017) Classification of isolates from the *Pseudomonas fluorescens* Complex into phylogenomic groups based in group-specific markers. *Front Microbiol*. 8:413
- Garrido-Sanz D, Manzano J, Martín M, Redondo-Nieto M, Rivilla R. (2018) Metagenomic analysis of a biphenyl-degrading soil bacterial consortium reveals the metabolic roles of specific populations. *Front Microbiol*. 9:232.
- Garrido-Sanz D, Meier-Kolthoff JP, Göker M, Martín M, Rivilla R, Redondo-Nieto M. (2016) Genomic and genetic diversity within the *Pseudomonas fluorescens* Complex. *PLoS One*. 11(2):e0150183.
- Garrido-Sanz D, Redondo-Nieto M, Guirado M, Pindado Jiménez O, Millán R, Martín M, Rivilla R. (2019) Metagenomic insights into the bacterial functions of a Diesel-degrading consortium for the rhizoremediation of Diesel-polluted soil. *Genes (Basel)*. 10(6):456.
- Martínez-Granero F, Redondo-Nieto R, Vesga P, Martín M y Rivilla R. (2014) AmrZ is a global transcriptional regulator implicated in iron uptake and environmental adaptation in *Pseudomonas fluorescens* F113. *BMC Genomics*. 26:15:237
- Martínez-Granero F, Rivilla R y Martín M. (2006) Rhizosphere selection of highly motile phenotypic variants of *Pseudomonas fluorescens* with enhanced competitive colonization ability. *Appl Environ Microbiol*. 72(5):3429-34.
- Muriel C, Arrebola E, Redondo-Nieto M, Martínez-Granero F, Jalvo B, Pfeilmeier S, Blanco-Romero E, Baena I, Malone JG, Rivilla R y Martín M. (2017) AmrZ is a major determinant of c-di-GMP levels in *Pseudomonas fluorescens* F113. *Sci Rep*. 8(1):1979.
- Muriel C, Blanco-Romero E, Trampari E, Arrebola E, Durán D, Redondo-Nieto M, Malone JG, Martín M y Rivilla R. (2019) The diguanylate cyclase *AdrA* regulates flagellar biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* F113 through *SadB*. *Sci Rep*. 9(1):8096.
- Navazo A, Barahona E, Redondo-Nieto M, Martínez-Granero F, Rivilla R y Martín M. (2009) Three independent signalling pathways repress motility in *Pseudomonas fluorescens* F113. *Microbial Biotech*. Vol 2 Issue 4: 489-498.