

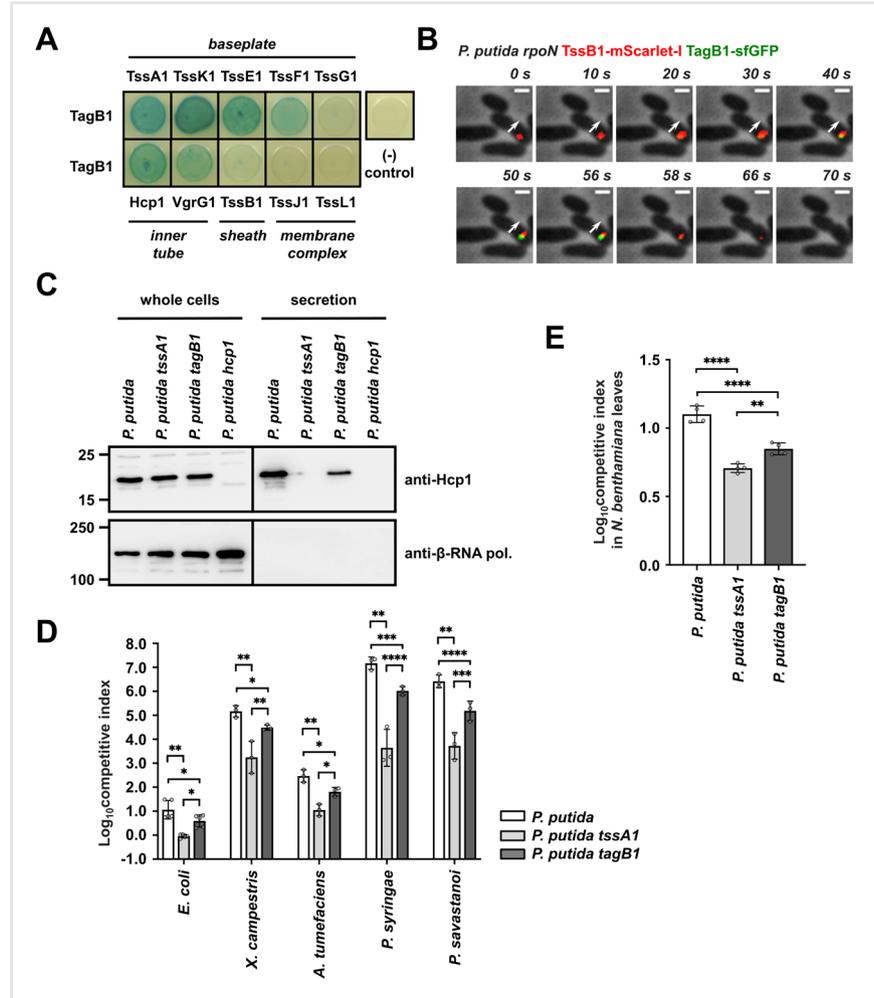
Nuevo mecanismo de estabilización de la vaina del sistema de secreción de tipo VI

PATRICIA BERNAL

Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, 41012 Sevilla

✉ pbguzman@us.es

El sistema de secreción de tipo VI (T6SS) es una nanomáquina contráctil relacionada estructuralmente con los fagos e involucrada principalmente en la competencia inter-bacteriana. Un componente elemental de este sistema, la proteína TssA, es indispensable para el ensamblaje de la vaina, cuya contracción impulsa las proteínas efectoras al interior de las células dianas. A pesar de su función clave, las proteínas TssA exhiben una diversidad inesperada y existen en dos formas principales, una forma corta (TssA_S) y una forma larga (TssA_L). Mientras las proteínas TssA_L interactúan con la proteína TagA para anclar el extremo distal de la vaina extendida, el mecanismo de estabilización de los T6SS que contienen TssA_S sigue siendo desconocido. En este estudio hemos descubierto una nueva clase de componentes estructurales (proteínas TagB y TagJ) que interactúan con proteínas TssA cortas y contribuyen al ensamblaje del T6SS estabilizando la vaina polimerizada desde la placa base. Además, hemos demostrado que la presencia de estos componentes es importante para la extensión completa de la vaina y para mantener una capacidad de disparo óptima. Asimismo, vemos que la asociación de las distintas formas de proteínas TssA con una clase diferente de proteínas estabilizadoras de la vaina resulta en T6SSs que bien residen en la célula durante algún tiempo (TssA_L-TagA) o disparan inmediatamente después de la extensión de la vaina (TssA_S-TagB). Nuestra propuesta es que esta diversidad en la dinámica de tiro podría contribuir a la especialización del T6SS para adaptarse a diferentes estilos de vida bacterianos en diversos nichos ambientales.



En la figura se muestra como la proteína TagB1 estabiliza la vaina del T6SS desde la placa base, lo que permite una eficiencia óptima de disparo. (A) *P. putida* TagB1 interactúa con las proteínas de la placa base, pero no con los componentes del complejo de membrana ni la vaina (ensayo de doble híbrido). (B) TagB1 se localiza en la placa base. La flecha blanca indica la dirección de extensión de la vaina. Los paneles son imágenes seleccionadas de un video de microscopía de fluorescencia de *P. putida* que expresa TagB1-sfGFP y TssB1-mscarlet-I. (C) El mutante tagB1 de *P. putida* muestra una secreción notablemente reducida de Hcp1. Para estudiar la presencia de Hcp1 en el sobrenadante del cultivo se evaluó la cepa silvestre y los mutantes isogénicos tssA1 y tagB1; el mutante hcp1 se utilizó como control negativo para la detección de Hcp1. La subunidad β de la ARN polimerasa de *E. coli* se utilizó como control de carga y lisis bacteriana. (D) y (E) Los ensayos de competición entre cepas de *P. putida* y *E. coli* o un conjunto de fitopatógenos muestran una disminución del índice de competición del mutante tagB1 en comparación con la cepa de silvestre.

Bernal, P, Furniss, CD, Fecht, S, Leung, RCY, Spiga, L, Mavridou, DAI & Filloux A (2021). A novel stabilization mechanism for the type VI secretion system sheath. Proc. Natl. Acad. Sci. 118 (7) e2008500118. <https://www.pnas.org/content/118/7/e2008500118>

Cooperación entre el sistema lítico de dos profagos de *Lactococcus lactis* en la lisis del hospedador

SUSANA ESCOBEDO, UDO WEGMANN, MIKEL PÉREZ DE PIPAON, ANA BELÉN CAMPELO, RÈGIS STENTZ, ANA RODRÍGUEZ, BEATRIZ MARTÍNEZ

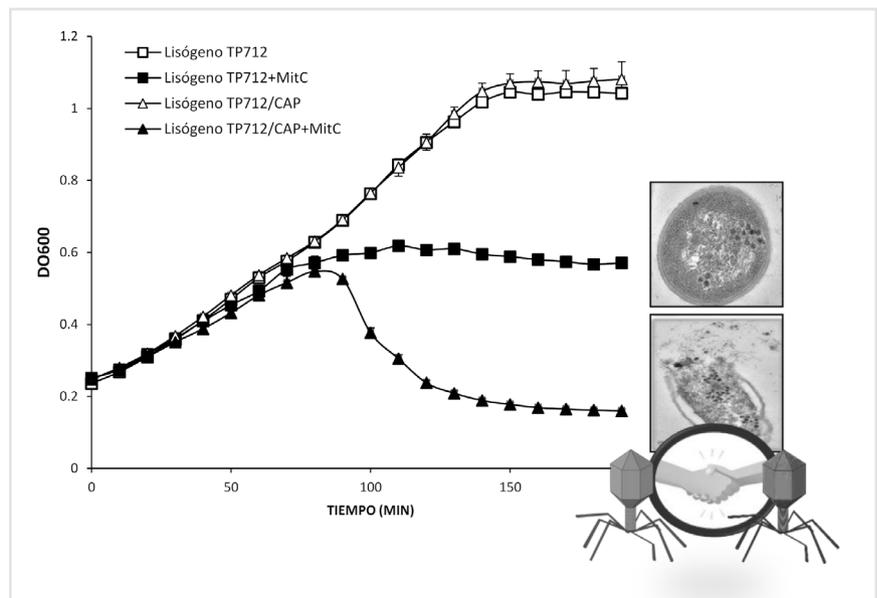
Grupo DairySafe, IPLA-CSIC. Paseo del Río Linares, s/n. 33300 Villaviciosa, Asturias

✉ s.escobedo@ipla.csic.es

Lactococcus lactis es una bacteria del ácido láctico cuyo empleo como cultivo iniciador para la producción de quesos y otros productos lácteos fermentados está muy extendido. Así pues, factores que afectan a su crecimiento van a influir en el producto final. Uno de los problemas más frecuentes deriva de la presencia de profagos en las cepas utilizadas como fermentos, ya que la activación de su ciclo lítico termina con la lisis del hospedador, poniendo en peligro la integridad del proceso fermentativo.

Recientemente, nuestro grupo ha publicado un trabajo que demuestra cómo los profagos que coexisten en una célula poli-lisogénica cooperan entre sí para lograr una lisis efectiva del hospedador que permita liberar la progenie viral.

En este estudio, analizamos dos cepas isogénicas de *L. lactis* que difieren en su contenido en profagos y presentan distinta respuesta a la inducción del ciclo lítico con mitomicina C: células que solo albergan el fago TP712, que a pesar de formar viriones infectivos es incapaz de provocar lisis del cultivo, y un doble lisógeno que contiene además el profago CAP, y que lisa tras ser sometido al mismo tratamiento de inducción. Diseñamos un ensayo en el que expresamos los genes líticos del fago CAP en el lisógeno de TP712, y como resultado obtuvimos lisis parcial del cultivo. Sin embargo, la lisis era completa cuando la expresión se realizaba conjuntamente con la inducción del profago TP712. Pudimos así comprobar que las funciones líticas de ambos fagos son necesarias para una lisis eficiente de la bacteria hospedadora.



La gráfica muestra el perfil de crecimiento de las cepas de *L. lactis* utilizadas tras la inducción del ciclo lítico de los profagos con mitomicina C y en cultivos sin inducir control. En las fotos se aprecia el efecto que dicha inducción tiene sobre la integridad de la célula en cada cultivo.

Analizamos a continuación la participación de las proteínas líticas de TP712 mediante la delección del gen de la endolisina o la holina de TP712 en el doble lisógeno. Únicamente en ausencia de la holina detectamos una lisis menos eficiente, indicando que la endolisina de TP712 no participa en la lisis del hospedador. La participación de la holina de TP712 concuerda con el hecho de que la activación de la endolisina del fago CAP depende de que ocurra previamente una despolarización de la membrana plasmática.

Nuestro estudio pone de manifiesto que la poli-lisogenia en cultivos iniciadores es un factor importante a tener en cuenta, ya que puede incrementar el riesgo de fermentaciones fallidas en procesos industriales.

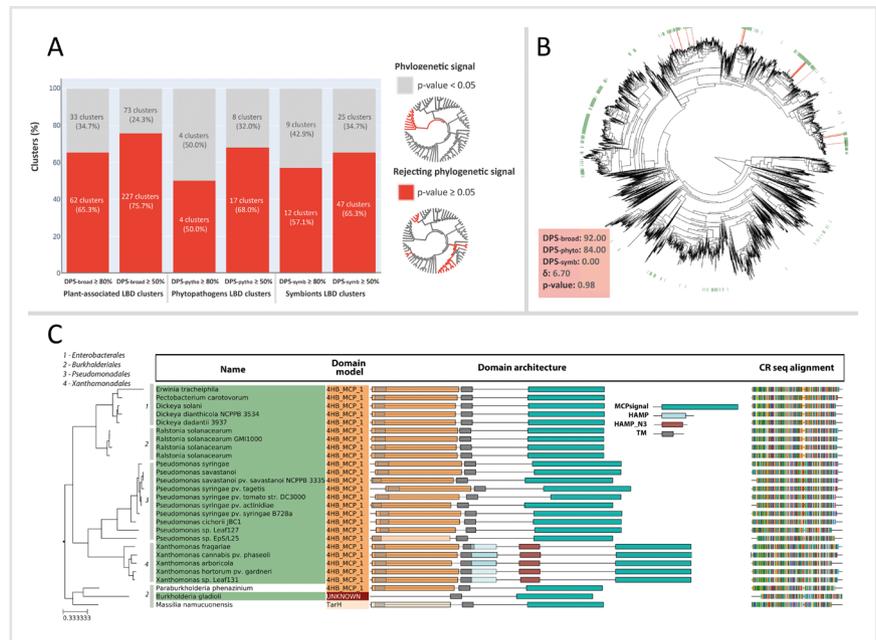
El estilo de vida de las bacterias y la adaptación a su nicho ecológico determinan en gran medida su perfil de quimiorreceptores

CLAUDIA SANCHIS LÓPEZ, J. PAUL CERNA VARGAS, SARAY SANTAMARÍA HERNANDO, CAYO RAMOS, TINO KRELL, PABLO RODRÍGUEZ PALENZUELA, EMILIA LÓPEZ SOLANILLA, JAIME HUERTA-CEPAS, JOSÉ J. RODRÍGUEZ HERVA

✉ jj.rodriguez@upm.es | huerta.jaime@inia.es

Para sobrevivir en su entorno natural los microorganismos deben ser capaces de interpretar y adaptarse a las condiciones cambiantes del medio. Para ello, están equipados con una extensa batería de sistemas de transducción de señal capaces de percibir una gran diversidad de estímulos. Entre dichos sistemas destacan las denominadas rutas de quimio percepción. En estas rutas, la cascada de señalización se inicia mediante la unión de un compuesto 'señal' dado al dominio de unión a ligando (LBD) de un determinado quimiorreceptor (CR) lo que controla, en último término, el movimiento de la bacteria, entre otros procesos. Aunque se sabe que ciertos CRs juegan un papel clave en las interacciones entre la planta y su microbiota, tales como los procesos de colonización o infección bacteriana, se desconocen aspectos como su especificidad filogenética y ecológica.

Usando un nuevo método de agrupación (*clustering*) por homología, en este trabajo se han analizado, atendiendo a sus LBDs, 82.277 secuencias de CRs de 11.806 especies microbianas representativas de toda la filogenia procariota. Esta aproximación ha permitido elaborar un catálogo exhaustivo de los distintos tipos de CRs clasificados en función de su LBD, en el que se incluye un gran número de nuevos tipos potenciales de LBDs. Mediante análisis filogenómicos se han identificado, además, cientos de LBDs localizados de manera predominante en bacterias asociadas a plantas y cuya distribución taxonómica no se puede explicar tomando únicamente como base las relaciones filogenéticas. De hecho, esta investigación demuestra que el perfil de LBDs de una bacteria dada se puede relacionar con la especialización de su estilo de vida, sien-



Detección de señal filogenética en los clusters de LBDs asociados a plantas y ejemplo de representación mediante un árbol filogenético de uno de estos clusters, incluida la predicción de dominios para los CRs que forman parte del mismo.

do las bacterias simbiotes de plantas y las fitopatógenas las que presentan un mayor número de LBDs específicos de nicho. Los resultados obtenidos no solo permiten identificar nuevos CRs potencialmente relevantes en la interacción planta-bacteria sino que, además, abren nuevas oportunidades de investigación en el campo de la transducción de señales, tales como analizar si tiene lugar un escenario similar en CRs de bacterias con estilos de vida distintos al de asociación a planta como, por ejemplo, en las que forman parte de la microbiota intestinal.

Este estudio ha sido realizado por investigadores del Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas de la Universidad Politécnica de Madrid-Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (CBGP, UPM-INIA/CSIC) en colaboración con investigadores de la Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC) de Granada y del Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea 'La Mayora' (IHSM-UMA-CSIC) de Málaga.

Sanchis-López, C., Cerna-Vargas, J.P., Santamaría-Hernando, S., Ramos, C., Krell, T., Rodríguez-Palenzuela, P., López-Solanilla, E., Huerta-Cepas, J., Rodríguez-Herva, J.J. 2021. Prevalence and specificity of chemoreceptor profiles in plant-associated bacteria. *mSystems*, e0095121. DOI: 10.1128/mSystems.00951-21

Genes de fitness de *Agrobacterium tumefaciens* implicados en la colonización de tumores y raíces de plantas

MARTA TORRES BEJAR

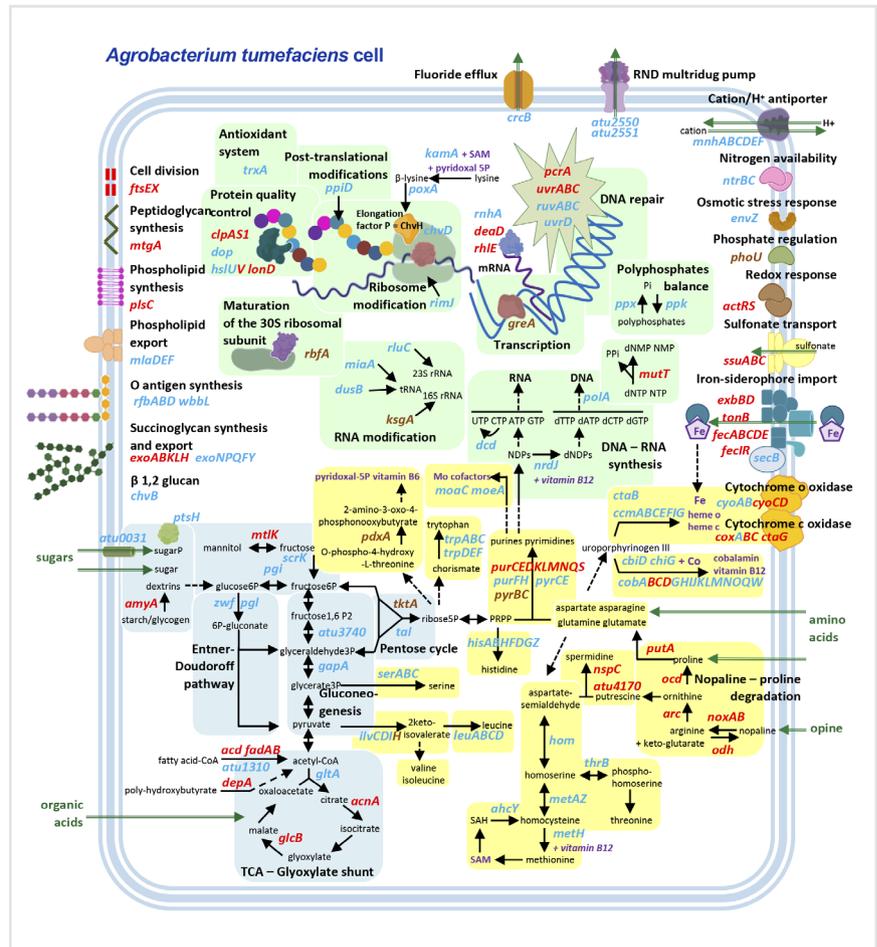
Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich, Zurich, Switzerland

✉ marta.torres@botinst.uzh.ch

El patógeno *Agrobacterium tumefaciens* provoca daños irreversibles en plantas a través de la modificación genética de las mismas, lo que lleva a la formación de agallas (tumores vegetales). Aparte de en las agallas, *Agrobacterium* también se encuentra en la microbiota de las raíces de las plantas hospedadoras y no hospedadoras. La enfermedad de la agalla de la corona ocasiona pérdidas económicas de millones de dólares cada año. Aunque existen algunos procedimientos de control contra a enfermedad, se espera que las técnicas de gestión progresen gracias a un conocimiento mas profundo de los genes que intervienen en la colonización de las plantas por parte del patógeno.

Décadas de investigación han producido un sólido *corpus* de conocimiento sobre la transferencia de ADN-T, la tumorigénesis y la colonización de las raíces por *A. tumefaciens*. Sin embargo, todavía falta una imagen global y comparativa de los genes de *fitness* de *A. tumefaciens* implicados en la colonización competitiva de tumores y raíces. Para abordar esta cuestión, utilizamos la secuenciación de transposones (*transposon sequencing*; Tn-Seq), que permite el cribado de una colección de mutantes, identificando así los genes y las vías que permiten que el patógeno sobreviva y prolifere competitivamente en un entorno determinado.

En este trabajo hemos inoculado una población de mutantes Tn de *A. tumefaciens* C58 en raíces y tallos de la planta hospedadora *Solanum lycopersicum*, para identificar los genes de *fitness* implicados en la colonización de dicha planta. Hemos



Genes y vías metabólicas de Agrobacterium tumefaciens implicadas en la colonización de tumores y raíces de tomate. Los genes de fitness están relacionados con tres procesos generales: el metabolismo del carbono y el nitrógeno (cuadros azules y amarillos), la síntesis y reparación del ADN, el ARN y las proteínas (cuadros verdes) y las funciones de la envoltura y la superficie celular (a lo largo de la representación de la envoltura bacteriana). Los genes necesarios para la colonización de los tumores de tomate se indican en rojo, para la colonización de las raíces en naranja oscuro y para los tumores de tomate y las raíces, en azul. No están representados todos los genes de fitness identificados, se omiten los que codifican funciones desconocidas.

identificado 216 genes de *fitness* importantes para la colonización de las raíces y 428 para la colonización de los tumores, siendo 159 los genes comunes entre las dos condiciones (Figura). Dado que *A. tumefaciens* coloniza un amplio espectro de plantas, extendimos nuestro enfoque Tn-Seq a los tumores de un hospedador leñoso, *Populus trichocarpa*, y a las raíces de una planta no hospedadora, *Zea mays*. Tn-Seq reveló que 62 genes son importantes para el *fitness* de *A. tumefaciens* en las cuatro condiciones investigadas. Otros genes de *fitness*

son más específicos para una única condición. Entender esta especificidad será un reto para futuras investigaciones.

Por último, nuestra hipótesis es que los tratamientos químicos o de biocontrol dirigidos a las vías identificadas como importantes para el *fitness* podrían limitar la colonización de las plantas por *A. tumefaciens*. Como prueba de concepto, nuestro estudio demostró que la quelación del hierro es un enfoque eficaz para impedir la colonización de las raíces de plantas de

tomate en presencia del agente de biocontrol *Pseudomonas protegens* CHA0, y la tumorigénesis en presencia de ácido tánico. Investigaciones posteriores deberán evaluar el impacto de estos tratamientos en la microbiota del suelo.

Análisis genómicos comparativos de nuevas haloarqueas sugieren nuevas capacidades metabólicas en los géneros *Halosegnis* gen. nov. y *Halomicroarcula*

ANA DURÁN-VISERAS

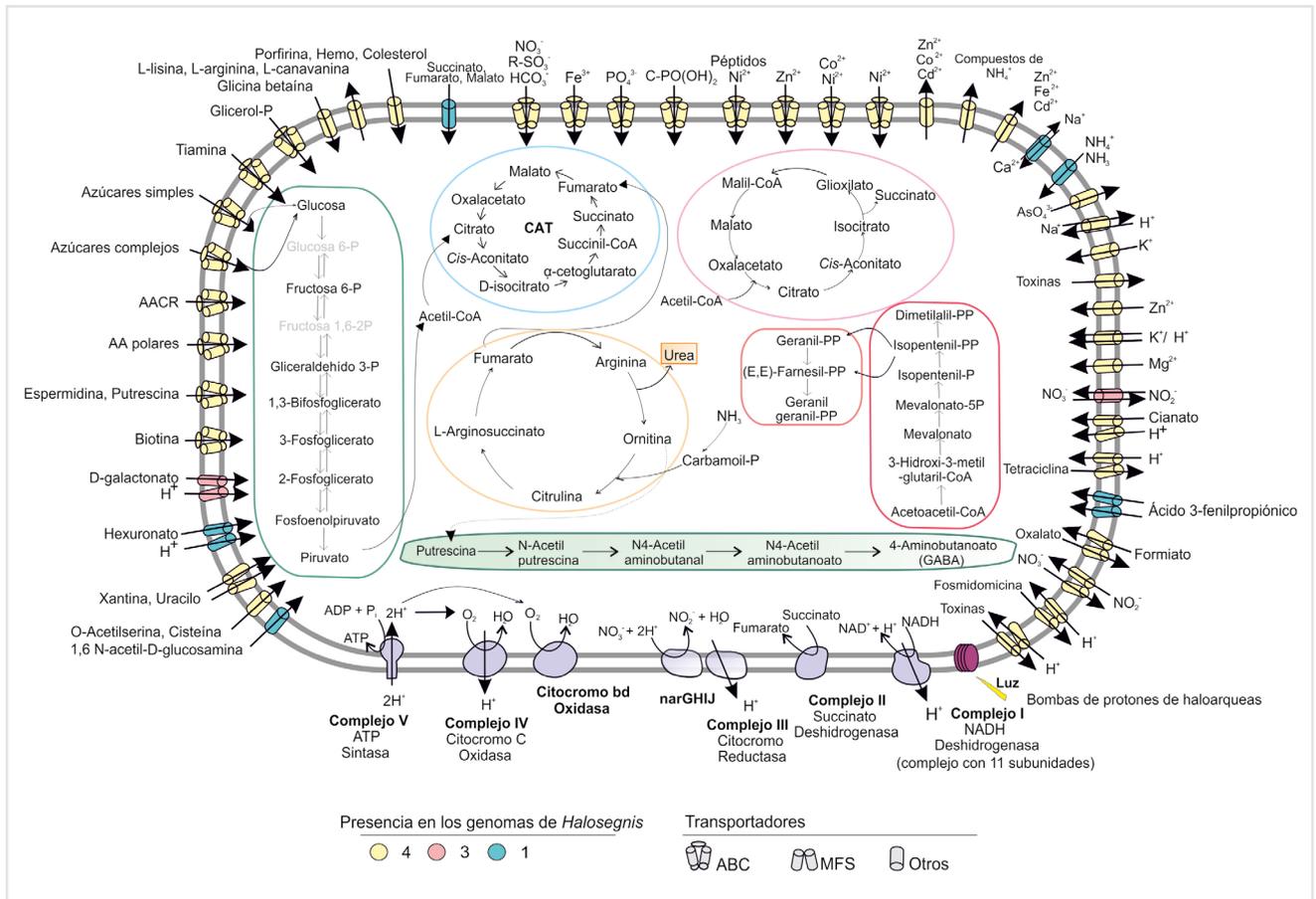
Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

✉ anaduran@us.es

Estudios metagenómicos previos llevados a cabo en las salinas de Isla Cristina y en suelos hipersalinos de las marismas del Odiel, en la provincia de Huelva, revelaron que la mayor parte de la diversidad microbiana presente en estos ambientes se desconoce y aún no ha podido ser aislada en cultivo puro. Muchas de estas secuencias, además, reflejaban una gran flexibilidad ecológica y nutricional. En este estudio, hemos empleado la culturómica como aproximación para el aislamiento de nuevos microorganismos extremófilos a partir de diferentes ambientes hipersalinos (salinas de Isla Cristina e Isla Bacuta, y suelos hipersalinos de las marismas del Odiel). Siguiendo esta estrategia, hemos conseguido aislar un elevado número de cepas microbianas, de las cuales, hemos seleccionado ocho haloarqueas, que constituyen grupos de arqueas relativamente abundantes en ambientes hipersalinos y que no se han descrito hasta la fecha.

Los análisis filogenéticos y filogenómicos de cuatro de dichas cepas (F12-1^T, F17-44^T, F18-79 y F19-13), así como los índices genómicos ANI, AAI e hibridación ADN-ADN *in silico* han demostrado que éstas constituyen un nuevo género dentro de las haloarqueas, constituido a su vez por dos especies diferentes, para las cuales proponemos los nombres de *Halosegnis longus* sp. nov. y *Halosegnis rubeus* sp. nov. Asimismo, los análisis llevados a cabo en las otras cuatro cepas seleccionadas (F24A^T, F28, F27^T y F13^T) nos han permitido determinar que éstas constituyen tres nuevas especies del género *Halomicroarcula*, dentro de la clase *Halobacteria*, para las cuales hemos propuesto los nombres de *Halomicroarcula rubra* sp. nov., *Halomicroarcula nitratireducens* sp. nov. y *Halomicroarcula salinisoli* sp. nov. La reconstrucción metabólica resultante del análisis genómico detallado de las nuevas cepas del género *Halosegnis* indica que los miembros de este nuevo

género de haloarqueas presentan un estilo de vida aerobio y fotoheterótrofo, con un comportamiento de tipo *salt-in*. Además, en estos genomas se ha identificado el conjunto de genes codificantes de la ruta completa de síntesis del ácido γ -aminobutírico (GABA) (véase figura), sugiriendo así su posible potencial biotecnológico. El porcentaje de secuencias relacionadas con el gen ARNr 16S y los reclutamientos genómicos demuestran la amplia distribución global del género *Halosegnis* en ambientes hipersalinos, donde, además, conforman una proporción importante de la microbiota de estos ambientes, especialmente en hábitats con salinidades intermedias, en los que pueden constituir hasta un 8% de la misma. Por otro lado, el estudio genómico detallado de las tres nuevas especies descritas del género *Halomicroarcula*, así como de las especies de este género ya descritas previamente, ha revelado la gran versatilidad metabólica



Reconstrucción metabólica del género *Halosegnis sp. nov.*

de los representantes de este género, así como, su capacidad para sintetizar diversos metabolitos secundarios. Asimismo, el estudio detallado de sus mecanismos de osmorregulación indica el uso de una estrategia de tipo *salt-in*. No obstante, la identificación por primera vez en haloarqueas de las rutas completas de síntesis de los solutos compatibles trehalosa y glicina-betaína, sugiere la capacidad del

género *Halomicroarcula* de utilizar estrategias de osmoadaptación alternativas a la clásicamente descrita para haloarqueas. Dichas estrategias alternativas suponen una gran ventaja ecológica y fisiológica, y justificarían su versatilidad metabólica y su capacidad para crecer no sólo en ambientes extremos con concentraciones altas de sal, si no también en ambientes con salinidades intermedias y bajas. Estos recientes

estudios abren nuevas perspectivas en el conocimiento de los ambientes acuáticos y terrestres salinos e hipersalinos, tanto desde un punto de vista ecológico, como metabólico y de interés biotecnológico de las haloarqueas.

A. Durán-Viseras, A.-S. Andrei, B. Vera-Gargallo, R. Ghai, C. Sánchez-Porro & A. Ventosa (2021). Culturomics-based genomics sheds light on the ecology of the new haloarchaeal genus *Halosegnis*. *Environ. Microbiol.* 23: 3418-3434.

A. Durán-Viseras, C. Sánchez-Porro & A. Ventosa (2021). Genomic insights into new species of the genus *Halomicroarcula* reveals potential for new osmoadaptive strategies in halophilic archaea. *Front. Microbiol.* 12: 751746.