

Nuevos mecanismos de adaptación de los rizobios a la simbiosis

JOSÉ MANUEL PALACIOS ALBERTI, LUIS REY NAVARRO, MARTA ALBAREDA CONTRERAS

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), Universidad Politécnica de Madrid (UPM/INIA-CSIC)

✉ jose.palacios@upm.es | luis.rey@upm.es | marta.albareda@upm.es

Nuestro grupo de investigación “Asociaciones de bacterias simbióticas con plantas” está dirigido por el profesor José M. Palacios y desarrolla su labor científica en el Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP, UPM-INIA/CSIC) desde su inauguración en 2010. La principal línea de investigación del grupo es el estudio de nuevos mecanismos de adaptación de los rizobios a la simbiosis con plantas leguminosas, un proceso de gran importancia ambiental y agrícola y que contribuye significativamente a la sostenibilidad de diferentes agroecosistemas.

Se persiguen tres objetivos específicos: i) el análisis de los mecanismos de tolerancia al estrés de los rizobios derivados de las limitaciones energéticas, la adquisición de metales y la competencia en la rizosfera; ii) la identificación de las funciones vinculadas a los sistemas de secreción de los rizobios (sistemas tipo III y tipo VI); y iii) la generación de inoculantes de rizobios eficaces y competitivos.

Nuestra hipótesis de trabajo es que conjuntos diferenciales de compuestos/condiciones dependientes de la planta controlan la actividad de las bacterias de forma específica para el huésped. Las bacterias responden a estas diferentes condiciones expresando conjuntos definidos de proteínas que contribuyen a su adaptación al huésped (Durán *et al.*, 2021). Datos obtenidos de la comparación de la simbiosis con dos hospedadores (guisante y lenteja) nos han permitido establecer un catálogo de más de 100 proteínas bacterianas expresadas diferencialmente

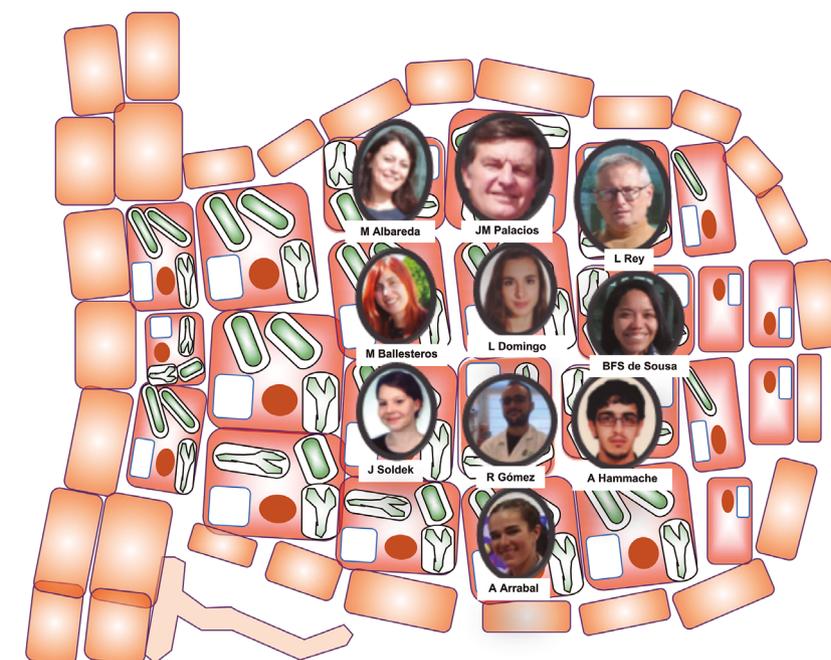


Foto de grupo.

en ambos hospedadores. Estas proteínas incluyen transportadores de diferentes sustratos, reguladores transcripcionales, proteínas de respuesta al estrés (sHSPs, USPs), enzimas implicadas en el metabolismo bacteriano del C y el N y una hidrogenasa. Durante mucho tiempo hemos estudiado el papel de la hidrogenasa en la simbiosis (Sotelo *et al.*, 2021; Irisarri *et al.*, 2021), ahora comparando diferentes cepas vamos a evaluar si el H₂ podría actuar también como combustible para bacterias de la rizosfera de plantas que crecen junto a las leguminosas. El estudio de una potencial proteína de unión al zinc, RLV_3444, sobreexpresada en la simbiosis con guisantes indica un papel en la importación de zinc a los bacteroides de guisante. Otra proteína de interés es una escilo-inositol

aminotransferasa codificada en el plásmido simbiótico (RLV_1940, **Figura 1A**) que podría participar en la síntesis de rizopinas junto con una inositol deshidrogenasa (RLV_5886). La capacidad de utilizar rizopinas se ha citado como un factor importante para la competitividad en la rizosfera.

También estamos estudiando el papel que desempeñan las proteínas rizobianas (efectores) secretadas a través de los sistemas de secreción de tipo III o de tipo VI que podrían tener un papel en la rizosfera, en el establecimiento de una simbiosis efectiva y en la definición del rango del hospedador. El análisis de los sistemas de secreción de tipo VI han mostrado que los mutantes en dicho sistema en rizobios de judía y de altramuz están comprometidos

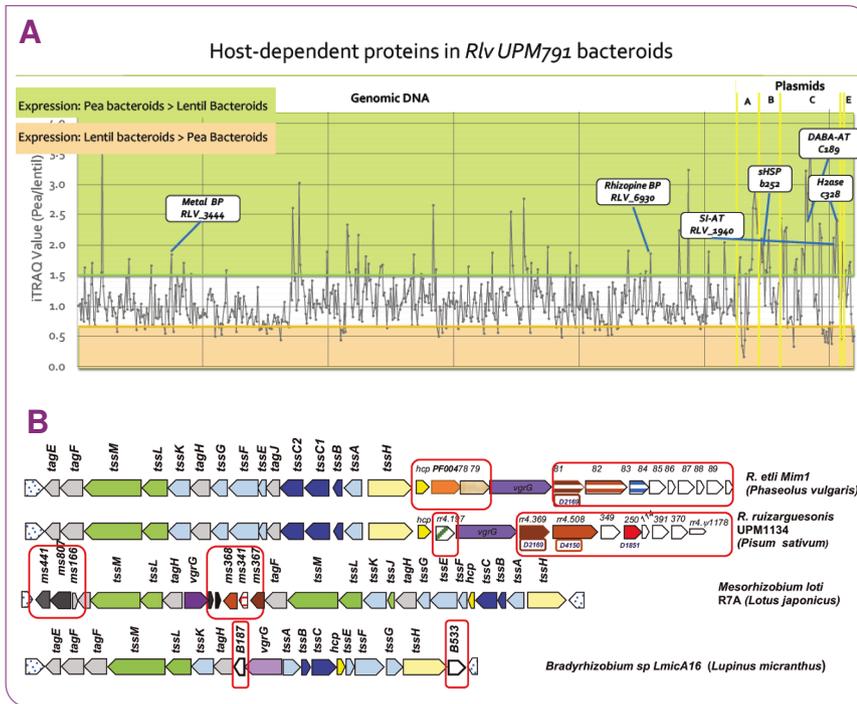


Figura 1. A. Identificación de proteínas con expresión dependiente del huésped en *Rlv UPM791*. Los trazos representan valores comparativos guisante/lenteja de un análisis proteómico de bacteroides (Durán et al., 2021). Los valores >1,5 se consideran sobreexpresados en guisante (área verde), mientras que < 0,67 (área naranja) están sobreexpresados en lenteja. Las proteínas relevantes están resaltadas. **B.** Agrupaciones génicas de T6SS de rizobios estudiados en el grupo. Los recuadros rojos destacan genes no conservados entre especies.

en la capacidad simbiótica y en la competencia interbacteriana (Salinero-Lanzarote et al., 2019, Tighilt et al., 2021). Actualmente estudiamos el papel de este sistema en rizobios de guisante y de *Lotus* (en colaboración con el Dr Garrido-Oter, Colonia, Alemania). Muchos efectores dependientes de T6SS se han descrito en patógenos de plantas y animales con actividad antibacteriana. El sistema tipo VI es poco conocido en rizobios y aún no se ha caracterizado ningún efector en estas bacterias que parecen codificar mayoritariamente efectores diferentes de los hasta ahora descritos (De Sousa et al., 2021).

Nuestro grupo dispone de más de 100 aislados de rizobios de suelos obtenidos de zonas tradicionales de lenteja y veza en las IGP Tierra de Campos y Alcalá de Henares, respectivamente. Algunas de estas cepas se están caracterizando como potenciales candidatas para elaborar inoculantes de lenteja y veza en base a su alto rendimiento simbiótico en condiciones de invernadero (Ballesteros et al., Álvarez et al., manuscritos en preparación).

En colaboración con el Dr. Juan Imperial y con grupos de investigación de Argelia (Dra F Boulila) y Túnez (Dr A Msaddak), estamos caracterizando nuevos rizobios de leguminosas que incluyen varias especies de la tribu *Genisteeae* como altramuces y retamas de gran valor alimentario y ecológico (Msaddak et al., 2021, Jorrin et al., 2020, Ahnia et al., 2018).

Bibliografía

- ▶ Ahnia H, Bourebaba Y, Durán D, Boulila F, Palacios JM, Rey L, Ruiz-Argüeso T, Boulila A, Imperial J. (2018). *Bradyrhizobium algeriense* sp. nov., a novel species isolated from effective nodules of *Retama sphaerocarpa* from Northeastern Algeria. Syst Appl Microbiol 41:333-339.
- ▶ De Sousa BFS, Castellane TCL, Tighilt L, de Macedo Lemos E G, Rey L. (2022). Rhizobial Exopolysaccharides and Type VI Secretion Systems: A Promising Way to Improve Nitrogen Acquisition by Legumes. Frontiers in Agronomy 3:661468

- ▶ Durán D, Albareda M, García C, Marina AI, Ruiz-Argüeso T, Palacio, JM. (2021). Proteome Analysis Reveals a Significant Host-Specific Response in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* Endosymbiotic Cells. Molecular & Cellular Proteomics 20:100009.

- ▶ Irisarri P, Imperial J, Lattanzi FA, Monza J, Palacios J, Sanjuan J, Grossman, J. (Eds.). (2022). Maximizing Nitrogen Fixation in Legumes as a Tool for Sustainable Agriculture Intensification. *Frontiers in Agronomy* 3:796717.

- ▶ Jorrin B, Palacios J M, Peix Á, Imperial J. (2020). *Rhizobium ruizarguesonis* sp. nov., isolated from nodules of *Pisum sativum* L. Systematic and Applied Microbiology, 43(4), 126090.

- ▶ Msaddak A, Rey L, Imperial J, Palacios JM, Mars M, Pueyo JJ. (2021). Phylogenetic Analyses of Rhizobia Isolated from Nodules of *Lupinus angustifolius* in Northern Tunisia Reveal *Devosia* sp. as a New Microsymbiont of Lupin Species. *Agronomy* 11, 1510.

- ▶ Salinero-Lanzarote, A, Pacheco-Moreno, A, Domingo-Serrano, L, Durán, D, Ormeño-Orrillo, E, Martínez-Romero, E, Albareda, M, Palacios, JM, Rey, L. (2019). The type VI secretion system of *Rhizobium etli* Mim1 has a positive effect in symbiosis. FEMS Microbiology Ecology fiz054.

- ▶ Sotelo M, Ureta AC, Muñoz S, Sanjuán J, Monza, J, Palacios J. (2021). Introduction of H2-Uptake Hydrogenase Genes Into Rhizobial Strains Improves Symbiotic Nitrogen Fixation in *Vicia sativa* and *Lotus corniculatus* Forage Legumes. *Frontiers in Agronomy*, 3, 44.

- ▶ Tighilt L, Boulila F, De Sousa BFS, Giraud E, Ruiz-Argüeso T, Palacios JM, Imperial J, Rey L. (2021). The *Bradyrhizobium* Sp. LmicA16 Type VI Secretion System Is Required for Efficient Nodulation of *Lupinus* Spp.. *Microbial Ecology* 1–12.