

Aplicaciones biotecnológicas del microbioma rizosférico de cítricos

PEÑALVER R.¹, ALGUACIL MM.², FORNER-GINER MA.³ Y QUIÑONES A.⁴

¹Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Valencia.

²Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CSIC), Murcia.

³Centro de Producción Vegetal y Citricultura, IVIA, Valencia

⁴Centro para el Desarrollo de la Agricultura Sostenible, IVIA, Valencia.

✉ rpenal@ivia.es



Miembros del grupo.

El grupo de “**Biotecnología de Bacterias de la Rizosfera**” del IVIA tiene como objetivo global la selección de bacterias beneficiosas que sirvan de base para el desarrollo de nuevos bioproductos para la industria agroalimentaria y citrícola. Para ello desarrolla tres líneas de investigación; (i) Una línea de investigación básica encaminada a determinar las bases genéticas y genómicas de la interacción beneficiosa *Rhizobium*

rhizogenes K84-planta, como modelo de bacteria altamente adaptada a la vida en la rizosfera. (ii) Generar una colección de potenciales bacterias beneficiosas para el cultivo de los cítricos a partir del estudio de los microbiomas rizosféricos de distintos patrones de cítricos mediante técnicas de alto rendimiento, tanto no dependientes de la cultivabilidad (metagenómica), como dependientes de la cultivabilidad (culturó-

mica), y en tercer lugar, (iii) el aislamiento y caracterización de bacterias diazotróficas y endófitas de cítricos como una posible herramienta para la biofertilización de cítricos y la reducción del abonado químico nitrogenado (bionutrición).

1. Bases genéticas y genómicas de la interacción beneficiosa *Rhizobium rhizogenes* K84-planta. Desde un punto

de vista biotecnológico, es necesario conocer en profundidad el nicho ecológico que se pretende explotar, en este caso la rizosfera de las plantas. Para ello, nuestro grupo lleva más de 30 años estudiando la interacción en las raíces de la bacteria beneficiosa *R. rhizogenes* (antes *Agrobacterium radiobacter*) K84. La cepa K84 coloniza y sobrevive eficazmente en las raíces de un gran número de plantas, desde herbáceas hasta leñosas. Por ello, estamos analizando en profundidad el genoma de K84 con respecto a aquellas funciones relacionadas con la colonización, adaptación y supervivencia en las raíces, que nos puedan revelar las principales claves que dictaminan la vida bacteriana en la rizosfera (genómica funcional). El análisis funcional de su genoma nos ha desvelado cuáles pueden ser las adaptaciones que la convierten en una bacteria rizosférica modelo de amplio espectro. Así, su genoma (6752 genes), codifica gran cantidad de proteínas quimiorreceptoras (21 MCPs), lo que sugiere un estilo de vida complejo, capaz de tactismo hacia compuestos presentes en los exudados de raíces. También posee un gran repertorio de sistemas de transporte (1232 genes ,18,2%), lo que refleja su versatilidad metabólica para utilizar los exudados. Hay que destacar el gran número de reguladores (743 genes, 11%), lo que indica una gran plasticidad para modular su expresión génica y adaptarse rápidamente a estímulos cambiantes en el suelo y en la rizosfera.

2. Obtención de una colección de potenciales bacterias beneficiosas para el cultivo de los cítricos. Las bacterias mutualistas de las raíces tienen una gran repercusión en la fisiología y salud de las plantas, y son potenciales recursos beneficiosos para los cultivos. Uno puede analizar los microbiomas bacterianos con la intención de seleccionar potenciales bacterias beneficiosas para el huésped (Lebeis 2014). Con este objetivo, se seleccionaron 544 OTUs (Figura 1), que reflejarían potenciales bacterias beneficiosas altamente adaptadas a los cítricos y seleccionadas por el huésped. En paralelo a este estudio metagenómico, se llevó a cabo el aislamiento masivo de bacterias cultivables de las mismas plantas y se aislaron

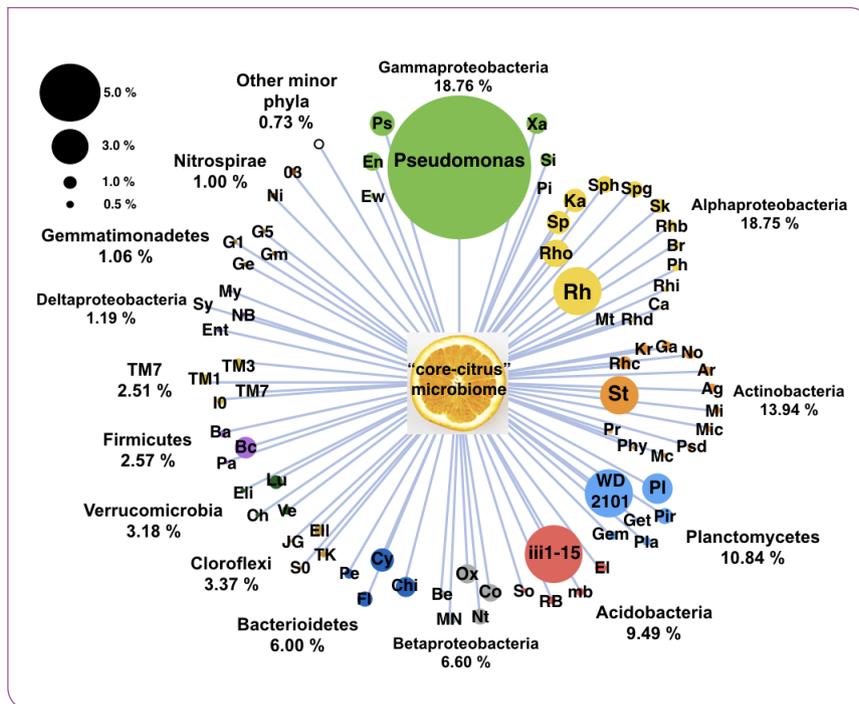


Figura 1. Microbioma rizosférico de cítricos seleccionado que reflejaría bacterias potencialmente beneficiosas para los cítricos.

1188 cultivos puros. Posteriormente, se secuenció el gen 16S rRNA de 482 aislados representativos y las secuencias se compararon con la de los OTUs seleccionados, y así se ha generado una colección de 147 bacterias que estaría teóricamente enriquecida en potenciales bacterias beneficiosas para los cítricos (Penyalver *et al.* 2022).

3. Bacterias endófitas y diazotróficas de cítricos. Se han aislado e identificado 17 bacterias de la endosfera de raíces de cítricos y el estudio de la posible presencia de genes de fijación de nitrógeno de forma libre (genes *nif*) y el crecimiento en medios mínimos sin nitrógeno de los aislados, nos ha permitido seleccionar los aislados de las especies *Beijerinckia fluminensis*, *Rhodococcus rhodochrous* y *Variovorax paradoxus*, como bacterias diazotróficas que podrían servir como posibles bioproductos para el cultivo de los cítricos y así reducir el impacto del abonado químico nitrogenado. En futuros proyectos *in planta* se evaluará su capacidad de aportar nitrógeno a las mismas (bionutrición) así como una posible reducción del abonado químico en el cultivo de cítricos.

Bibliografía

- ▶ Lebeis SL. (2014). The potential for give and take in plant-microbiome relationships. *Front. Plant Sci.* 5:article 287.
- ▶ Penyalver R, Roesh LFW, Piquer-Salcedo JE, Forner-Giner MA y Alguacil MM. (2022). From the bacterial citrus microbiome to the selection of potentially host-beneficial microbes. *New Biotechnology*, 70 (en prensa).