

Historia del Grupo de Genética, Genómica y Microbiología de la Universidad Pública de Navarra

LUCÍA RAMÍREZ NASTO, ANTONIO G. PISABARRO, JOSÉ OGUIZA TOMÉ, GÚMER PÉREZ GARRIDO Y MIRIAM OSÉS-RUIZ

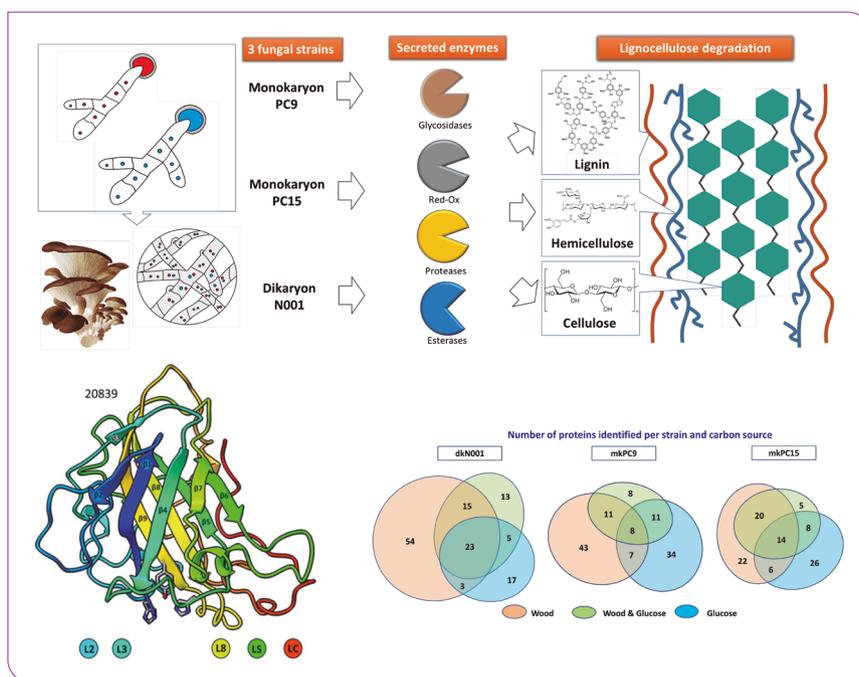
Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA).

✉ gpisabarro@unavarra.es

El Grupo de Investigación Genética, Genómica y Microbiología (GENMIC) de la Universidad Pública de Navarra (UPNA) se formó en la década de los 90 poco después de la fundación de la universidad. Su origen viene de combinación de las trayectorias de sus dos fundadores: Lucía Ramírez Nasto (actualmente catedrática de Mejora Vegetal) procedente del mundo de la genética y la biología molecular de plantas y Gerardo Pisabarro procedente del campo de la bacteriología. En el momento actual, el personal de plantilla del grupo incluye, además de los citados, un Profesor Titular de Universidad (José Oguiza Tomé), una Profesora Contratada Doctor (Gúmer Pérez) y tres estudiantes de doctorado. Además, el grupo mantiene desde hace años una colaboración estrecha con un grupo del Departamento de Tecnología y Química Farmacéuticas de la Universidad de Navarra liderado por María Isabel Calvo Martínez.

En aquel momento, la UPNA estaba impartiendo sus primeros cursos de la titulación de Ingeniero Agrónomo, de Ingeniería Técnica Agrícola y la diplomatura en Enfermería y, en ese contexto, fue necesario poner en marcha una línea de investigación que pudiera consolidarse en un entorno en el que debía echar a andar no solo el grupo de investigación en sí, sino toda la universidad. Eran tiempos de crear una línea y crear una universidad.

Físicamente, el grupo se localizó en el Departamento de Producción Agraria de la Escuela Técnica superior de Ingenieros Agrónomos (ahora todas estas unidades administrativas y docentes han sido modificadas) lo que contribuyó a orientar la línea de investigación en sus inicios. Un día se puso en contacto con nosotros una empresa que necesitaba un sistema de identificación y protección de sus variedades de champiñón (*Agaricus bisporus*) y de seta ostra (*Pleurotus ostreatus*) frente a competidores. A partir de ese encargo, que pudo ser resuelto con



Nuestro grupo trabaja en la identificación y caracterización de proteínas fúngicas con interés aplicado. Un modelo de trabajo es el de las enzimas producidas por *Pleurotus ostreatus* para degradar lignocelulosa. La producción de estas enzimas depende de la condición monocariótica o dicariótica del hongo y de las características del medio de cultivo. Por otra parte, la gran riqueza en transposones de esta especie aporta variabilidad enzimática que estudiamos utilizando aproximaciones de predicción de estructura y de análisis funcional.

facilidad usando los sistemas de marcadores moleculares que había en la época, se inició nuestra trayectoria en biología molecular, genética y genómica de hongos basidiomicetos cultivados industrialmente.

Para diseñar procesos de mejora de cepas cultivadas de hongos comestibles fue necesario, en primer momento, disponer de un modelo de trabajo que fuera accesible a las técnicas genéticas clásicas. La elección fue la seta ostra porque su sistema reproductivo permite hacer fácilmente cruzamientos dirigido, su ciclo biológico es corto y simple y puede completarse en el laboratorio en menos de un mes.

Las primeras etapas del trabajo de la línea se dirigieron a la determinación de los factores genéticos que controlan el sistema de apareamiento en este hongo: un sistema bifactorial tetrapolar. Esto significa que el apareamiento de dos micelios haploides (monocarióticos porque en cada una de las células hay un único núcleo) está controlado por dos loci no ligados en los que se debe conseguir la heterocigosis para que se pueda producir el apareamiento como resultado del cual se genera un micelio dicariótico (los dos núcleos de los micelios monocarióticos compatibles apareados no se fusionan, sino que se mantienen separados en las células durante el crecimiento vegetativo).

El ciclo de vida dicariótico ofrece una gran oportunidad para la investigación de varios problemas básicos de la organización genética de este sistema biológico. En primer lugar, la construcción de mapas genéticos de ligamiento es posible porque se puede conocer el genotipo de los monocariontes parentales y el de los descendientes, todos ellos haploides, con rapidez usando marcadores moleculares. Eso nos permitió construir mapas de ligamiento de caracteres cualitativos (marcadores moleculares y genes) y cuantitativos, estos últimos de vital importancia para realizar procesos de selección y mejora genética de variedades de setas comestibles comercializables. Fueron años de una gran actividad en los que pasaron por el grupo GENMIC un gran número de estudiantes de trabajos y proyectos Fin de Carrera, algunos de los cuales han seguido después una labor de investigación en universidades y centros de investigación españoles y extranjeros.

A principio de la década de los 2000 el proyecto de construcción del primer borrador del genoma humano estaba completándose. La disponibilidad de grandes equipos de secuenciación permitió abordar otros proyectos de secuenciación y el grupo GENMIC entró en contacto con uno de los grandes centros de secuenciación: el *Joint Genome Institute* (JGI) del Departamento de Energía en la Universidad de California. Nuestro grupo propuso y lideró el proyecto de secuenciación de *P. ostreatus* en un consorcio que incluyó varios grupos españoles y de otros países.

El JGI dedicaba su esfuerzo principal al estudio de microorganismos que jugaran un papel importante en el ciclo global del carbono o que pudieran ser utilizados en procesos de transformación de material vegetal para la producción de biocombustibles. Las polémicas sobre el uso de cereales y tubérculos comestibles para la producción de bioalcohol impulsaron la búsqueda de fuentes alternativas, siendo la madera y los residuos vegetales la elección. La lignocelulosa vegetal es, de forma global, el mayor depósito de carbono biológico en la tierra. Sin embargo, la deconstrucción de la lignina y el ataque de la celulosa de la madera es una tarea que muy pocos organismos pueden hacer. *P. ostreatus* es uno de ellos: pertenece al grupo de hongos que se denomina *de podredumbre blanca* porque degradan la lignina sin consumir masivamente la celulosa que puede ser utilizada, posteriormente, como sustrato para la fermentación.

En este contexto se inició una colaboración de nuestro grupo con el JGI que dura hasta la actualidad y que nos ha llevado a participar en la coordinación de varios proyectos de secuenciación de especies fúngicas y de entornos naturales forestales contribuyendo a la construcción de la gran base de datos accesible *on line* en el portal MycoCosm del JGI.

Al disponer de la secuencia genómica de *P. ostreatus* y de los estudios transcriptómicos que pudieron ir haciéndose de manera más masiva durante la década de 2010-2020 se plantearon nuevas cuestiones de trabajo entre las que destacaron el estudio de las variaciones epigenéticas y su efecto sobre la producción y, especialmente, el estudio de la estabilidad del genoma de estos hongos identificando y mapeando los elementos transponibles de diversas familias presentes en su genoma. Especialmente relevante en este campo, fue la identificación de una nueva familia de transposones diferente de la de los elementos clásicos de tipo I y II: familias de helitrones capaces de modificar el genoma alterando patrones de expresión génica y modificando la posición genómica de otros genes que capturan en su transposición.

Una cuestión constante en el trabajo del grupo GENMIC ha sido el de determinar las bases genéticas y moleculares causantes de diferencias en la velocidad de colonización del sustrato de cultivo: de la velocidad de crecimiento del hongo, lo que es de gran importancia a la hora de establecer cultivos industriales. El estudio de los elementos que influyen en este parámetro nos ha llevado a investigar el papel de la oxidasa alternativa (AOX), una enzima de la cadena respiratoria que desacopla parcialmente el transporte de electrones de la producción de ATP, cuya expresión varía de forma muy significativa en cepas de crecimiento rápido y lento. Los hongos basidiomicetos crecen en sus ambientes naturales en condiciones de microaerobiosis lo que causa la necesidad de tener sistemas de respuesta y protección frente a compuestos oxidantes generados en la respiración y en los procesos de ataque oxidativos de los sustratos (la lignocelulosa, por ejemplo).

De forma paralela, nuestro grupo ha estado trabajando en la detección, identificación y producción de enzimas y proteínas producidas (hidrofobinas, LPMOs y lipoxigenasas) y de compuestos naturales (antioxidantes) producidos por basidiomicetos, tanto cultivados como silvestres.

En resumen, nuestro grupo acumula treinta años de trabajo en la genética y genómica de basidiomicetos destinados a la producción industrial de alimentos, primero, y a la detección y producción de proteínas y de compuestos naturales bioactivos procedentes de hongos del bosque.

Recientemente, se ha incorporado al grupo una nueva línea de trabajo asociada de hongos filamentosos fitopatogenos que lidera la investigadora del Programa Ramón y Cajal Miriam Osés-Ruiz y centrada en el estudio de los mecanismos moleculares usados por el hongo *Magnaporthe oryzae* para causar la infección denominada quemado del arroz (Rice Blast disease) y poder diseñar estrategias de control contra la enfermedad que causa. Anualmente este hongo es capaz de destruir más del 30% de la producción de arroz mundial, lo que equivale a cantidades de arroz para alimentar a más de 60 millones de personas en el mundo. Además, *M. oryzae* infecta cultivos de cereales como trigo (*Triticum aestivum*), cebada (*Hordeum vulgare*), raigrás (*Lolium multiflorum*), centeno (*Secale cereale*), triticale (x Triticosecale Wittmack) y avena (*Avena sativa*).

Para infectar, *M. oryzae* desarrolla una célula especializada llamada apresorio capaz de romper la cutícula de la planta y penetrar en las células causando las lesiones. La formación del apresorio es fundamental para la infección y la interrupción de su formación ya sea química o genéticamente, hace imposible la infección.

En esta línea el laboratorio trabaja en tres áreas para identificar nuevos genes diana y mecanismos de infección que permitan el diseño fungicidas y soluciones alternativas que sean respetuosas con el medio ambiente: i) Regulación transcripcional jerárquica, para determinar cascadas transcripcionales de regulación relacionadas con la infección; ii) Regulación del ciclo celular mitótico y daño al DNA celular, donde queremos elucidar los mecanismos celulares asociados a la mitosis y el daño al DNA para entender la conexión entre la morfogénesis e infección; iii) heterogeneidad celular, donde queremos entender los mecanismos que llevan a que se genere heterogeneidad transcripcional en las células del hongo. De esta forma contribuimos a garantizar la seguridad alimentaria a nivel mundial.