

# Tke5: un arma molecular de *Pseudomonas putida* para combatir fitopatógenos recalcitrantes

CARMEN VELÁZQUEZ<sup>1,2</sup>, ALEJANDRO ARCE-RODRÍGUEZ<sup>3</sup>, DAVID ALBESA-JOVÉ<sup>1,2</sup>, PATRICIA BERNAL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Biofísica (CSIC, UPV/EHU), Leioa, España.

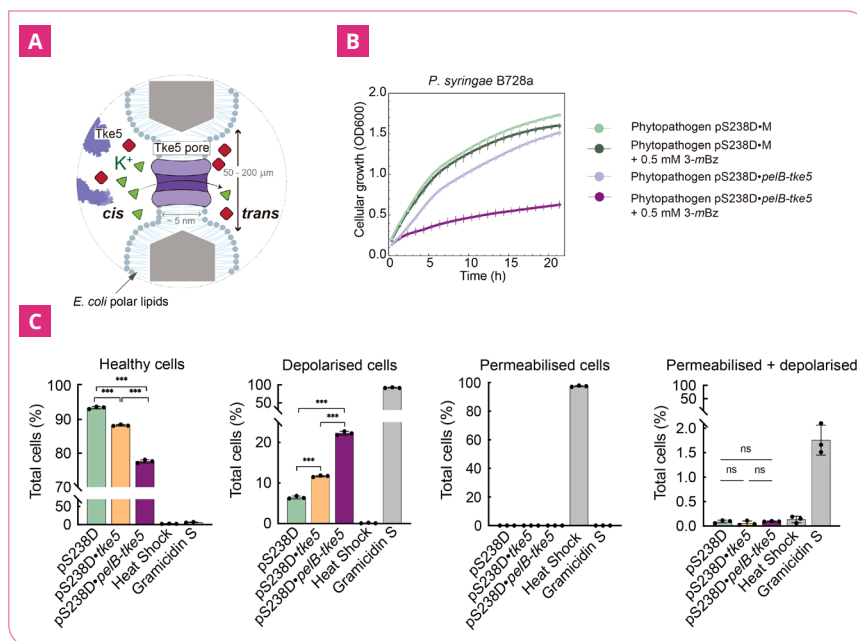
<sup>2</sup>Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa, España.

<sup>3</sup>Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

✉ pbernal@us.es | david.albesa@ehu.es

La bacteria del suelo *Pseudomonas putida* es ampliamente reconocida como un agente de control biológico eficaz gracias a su capacidad para inyectar toxinas en sus competidores mediante el Sistema de Secreción de Tipo VI (T6SS, por sus siglas en inglés). Esta "jeringa molecular" le otorga una ventaja adaptativa en entornos polimicrobianos complejos, como la rizosfera, lo que le permite proteger los cultivos principalmente frente a infecciones bacterianas. En *P. putida* KT2440, la cepa modelo de este estudio, existen tres clústeres de T6SS. Aunque el sistema K1-T6SS ha sido ampliamente estudiado, el repertorio de toxinas de los sistemas K2- y K3-T6SS permanecía en gran medida inexplorado.

En este estudio, presentamos la caracterización funcional y biofísica de Tke5, una potente toxina efectora del sistema K3-T6SS de *P. putida* KT2440. Nuestra investigación demuestra que Tke5 es el primer miembro caracterizado de la familia BTH\_I2691 que actúa como una toxina formadora de poros (PFT, del inglés *Pore Forming Toxin*) que se inserta en la membrana citoplasmática de las bacterias diana permitiendo el paso selectivo de iones. Mediante técnicas de electrofisiología en bicapas lipídicas artificiales, determinamos que Tke5 forma canales subnanométricos (diámetro poro < 1 nm) con preferencia por cationes como el K<sup>+</sup> (10 veces más permeable al K<sup>+</sup> que al Cl<sup>-</sup>). Este flujo iónico descontrolado provoca una despolarización fulminante de la membrana y la muerte celular (efecto bactericida), pero de manera sofisticada: a diferencia de otros



**Figura 1.** Caracterización del efector de tipo VI Tke5. A) Esquema de un sistema de Montal-Mueller para formar una membrana sintética donde se inserta un poro formado por la toxina Tke5, B) Curvas de toxicidad de Tke5 frente al fitopatógeno *P. syringae*, y C) Ensayos de citometría de flujo donde se visualiza la despolarización celular inducida por el efector Tke5.

agentes, Tke5 no compromete la integridad estructural ni causa la lisis inmediata de la célula.

Para evitar la autointoxicación, *P. putida* produce la proteína inmunitaria Tki5, que se localiza en la membrana interna y neutraliza a Tke5 mediante una interacción directa, formando un complejo estable. Un hallazgo clave de este trabajo es la actividad bactericida de amplio espectro de Tke5 contra una gran variedad de fitopatógenos de importancia económica, incluyendo géneros como *Pseudomonas*,

*Ralstonia*, *Agrobacterium*, *Dickeya*, *Xanthomonas* y *Erwinia*.

El descubrimiento del mecanismo de acción de Tke5 no solo amplía nuestro conocimiento sobre las armas de competición bacteriana, sino que también posiciona a *P. putida* como una herramienta biotecnológica fundamental para el desarrollo de estrategias de agricultura sostenible, ofreciendo alternativas naturales y eficaces al uso de pesticidas químicos tradicionales.

Velázquez, C., Arce-Rodríguez, A., Altuna-Alvarez, J., Rojas-Palomino, J., Flores-Ceron, A., Cando-Narváez, C., Ruiz, A., De la Peña Noya, J., Civantos, C., González-Magaña, A., Queralt-Martín, M., Alcaraz, A., Albesa-Jové, D. & Bernal, P. (2026). Tke5 is a *Pseudomonas putida* toxin that kills plant pathogens by depolarising membranes. *Communications Biology*. <https://doi.org/10.1038/s42003-026-09863-w>