

Tesis

Unravelling the hidden complexity of *Arcobacter butzleri* biofilms: Functional characterisation of biofilm associated genes and matrix components using both classical methods and genetic analysis of mutants

> Autor:

Adrián Salazar Sánchez
adrian.salazar@ehu.es

> Directores:

Irati Martínez Malax-etxebarria
 Rodrigo Alonso Monsalve

> Centro de realización y presentación:

Facultad de Farmacia de la Universidad del País Vasco EHU

> Fecha de defensa:

06/11/2025. Tesis de mención "Cum Laude" e "Internacional".

> Resumen:

La formación de biopelículas constituye un factor de virulencia esencial en *Arcobacter butzleri*, al favorecer su persistencia y diseminación a lo largo de la cadena alimentaria y aumentar el riesgo de infección en humanos y animales. Pese al creciente interés científico, los mecanismos moleculares que regulan este proceso y la composición detallada de la matriz extracelular permanecen insuficientemente caracterizados. Esta tesis doctoral aborda dichas lagunas mediante un enfoque integrado que combina metodologías microbiológicas y moleculares para analizar las biopelículas de *A. butzleri* desde diversas perspectivas.

Mediante estrategias de mutagénesis dirigida y aleatoria se identificaron seis genes (*flaA*, *flaB*, *fliS*, *luxS*, *pta* y *spoT*) implicados en la formación de biopelículas. A su vez, la mutagénesis por transposición reveló 29 genes adicionales potencialmente

relacionados con este proceso y con otras funciones fisiológicas, como la motilidad, el metabolismo, la resistencia antimicrobiana y la adaptación al frío.

Un aporte destacado es el desarrollo y validación del primer vector "shuttle" capaz de replicarse y expresar genes en *Escherichia coli* y *A. butzleri*, lo que constituye una herramienta clave para futuros estudios de manipulación genética y complementación funcional. Asimismo, se caracterizó la matriz de la biopelícula, compuesta principalmente por proteínas y ADN extracelular, junto con carbohidratos y lípidos. Los carbohidratos presentan una estructura similar a la celulosa, sustentada por múltiples técnicas analíticas.

En conjunto, estos resultados profundizan el conocimiento sobre la biología de las biopelículas de *A. butzleri* y subrayan la necesidad de investigaciones adicionales orientadas a su control en contextos alimentarios, clínicos y veterinarios.

Trichoderma beneficial effects on wheat plants: biostimulation under drought and biocontrol of Fusarium head blight

> Autor:

Alberto Pedrero Méndez
alberto.pedrerom@usal.es

> Directores:

Enrique Monte Vázquez
 M. Rosa Hermosa Prieto

> Institución:

Universidad de Salamanca

> Fecha de defensa:

18 de julio de 2025. Tesis de "Mención Internacional", por compendio de artículos. Premio Extraordinario de Doctorado en Agrobiotecnología.

> Resumen:

Esta Tesis Doctoral se centró en las interacciones de cepas del hongo *Trichoderma* con plantas de trigo y patógenos, y en el papel que desempeña el gen *hex1* en estas relaciones; teniendo como objetivo principal la selección de cepas de *Trichoderma* susceptibles de ser aplicadas en el cultivo del trigo. Los resultados muestran desde cómo la cepa *T. simmonsii* T137, aislada de endosfera de raíz de plantas de trigo sanas, incrementa la tolerancia de plantas de trigo Basileo a un estrés hídrico severo hasta cómo la cepa *T. asperellum*

T25 reduce en más de un 60% el índice de enfermedad de la fusariosis de espiga en trigo Apogee, presentando ambas cepas buenas perspectivas para ser incluidas en ensayos de campo. Además, también muestran cómo otros genes distintos de los que codifican enzimas degradadoras de pared celular o implicados en la producción de metabolitos pueden desempeñar papeles importantes en el biocontrol de *Trichoderma* y sus efectos beneficiosos en las plantas. Estos resultados reflejan el potencial de *Trichoderma* para un cultivo más sostenible del trigo y que su éxito en los sistemas agrícolas requiere de una cuidadosa selección de las cepas.

Aislamiento, selección y mejora genética de levaduras no-*Saccharomyces* para elaborar vinos tranquilos y espumoso tradicional

➤ Autor:

Alberto Martínez Brígido

albertomb@unex.es

➤ Directores:

Manuel Ramírez Fernández
Luis Miguel Hernández Martín
Joaquín Bautista Gallego

➤ Centro de realización:

Departamento de Ciencias Biomédicas, Área Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura, Badajoz, España.

➤ Resumen:

La selección de nuevas levaduras killer no-*Saccharomyces* de amplio espectro antifúngico supone ventajas tecnológicas interesantes para elaborar vinos tranquilos y espumosos. Es conveniente mejorar genéticamente estas estirpes para optimizar su eficiencia en aplicaciones biotecnológicas. Con este objetivo, hemos seleccionado nuevas levaduras aisladas de viñedos y frutas sobremaduras en descomposición para, posteriormente, ser mejoradas genéticamente por métodos clásicos sin generar levaduras transgénicas.

Para abordar esta tarea, procede analizar paralelamente algunos aspectos relacionados con el fenotipo killer, la dotación genética, la reproducción sexual, y el ciclo de vida de estas levaduras no convencionales.

Una estrategia de mejora ha sido obtener clones-espora mejorados a partir de las levaduras seleccionadas previamente. También se ha ensayado con éxito la obtención de "híbridos" interespecíficos

mediante mezcla de esporas o células vegetativas de diferentes especies, mejorando así las propiedades de las levaduras parentales. Finalmente, hemos mejorado la eficacia fermentativa de nuestras levaduras *Torulaspota delbrueckii* incrementando su dotación genética para asimilarla a la de *S. cerevisiae*.

La selección final de clones mejorados, levaduras hibridadas e inóculos de levaduras poliploides nos permite ofrecer a los bodegueros una gama de levaduras más completa y eficaz para controlar la fermentación y diseñar *a priori* el perfil organoléptico del vino.

Comunidades procariotas en ambientes hipersalinos: análisis metagenómico de su diversidad, funciones y estrategias de osmorregulación

➤ Autor:

Alicia García Roldán

agroldan@us.es

➤ Directores:

Antonio Ventosa Utero
Cristina Sánchez-Porro Álvarez

➤ Institución:

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

➤ Resumen:

Los ambientes hipersalinos son hábitats extremos cuyas altas concentraciones salinas determinan la diversidad, estructura y adaptación de las comunidades procariotas. El objetivo de esta Tesis Doctoral fue analizar la diversidad, metabolismo, relaciones de cooperación y mecanismos de adaptación de los procariotas en el gradiente salino de una salina.

Para ello, se estudiaron 34 metagenomas que revelaron que la diversidad procariota era relativamente elevada y estable en las salinidades intermedias, seguida por una zona de transición ecológica en torno al 32% (p/v) NaCl, a partir de la cual disminuía gradualmente. El estudio metabólico mostró una comunidad dinámica y cooperativa formada por donadores y aceptores que intercambiaban compuestos esenciales, como la biotina o carotenoides, e incluso alternaban sus propios papeles, evitando el colapso de la comunidad. Finalmente, tras una revisión exhaustiva de las estrategias de adaptación a la salinidad, se elabo-

ró una lista de más de 70 genes asociados a los mecanismos *salt in* y *salt out*. El análisis de más de 2.000 MAGs de taxones halófilos demostró la ruptura de la tradicional dicotomía establecida entre dichos mecanismos y el dominio *Archaea* y *Bacteria*.

Estos hallazgos contribuyen a profundizar y comprender la verdadera naturaleza de estos ambientes.