

Grupo de Genética de Infecciones Fitobacterianas: Descifrando el movimiento bacteriano en superficie

M^a Jose Soto Misffut

Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos;
Estación Experimental del Zaidín, CSIC Granada

mariajose.soto@eez.csic.es

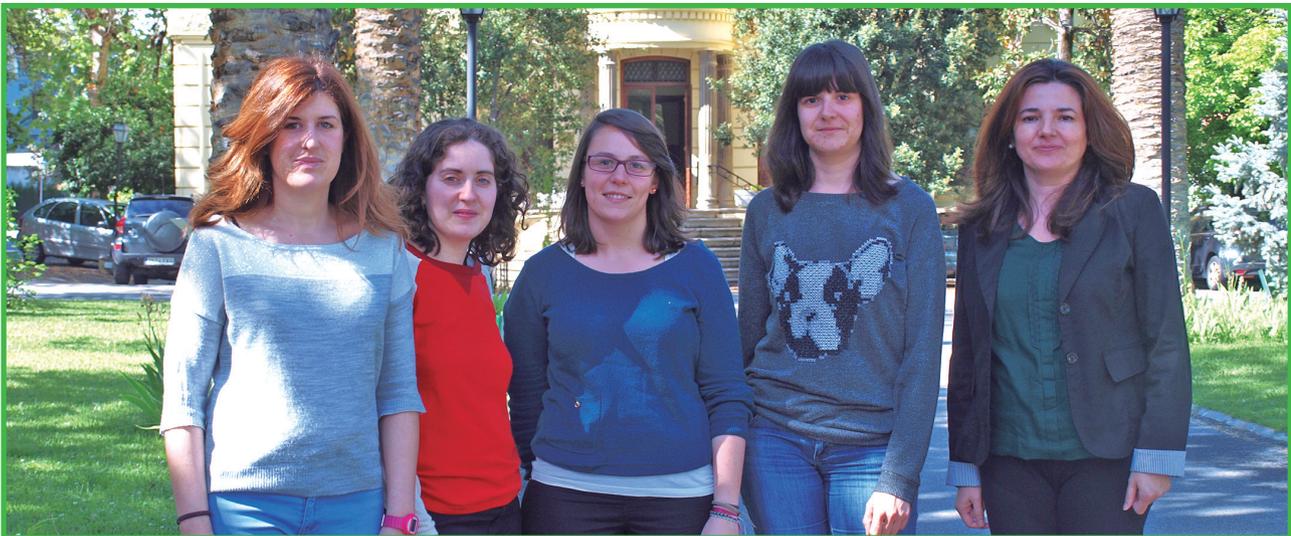


Foto de grupo. De izquierda a derecha: Virginia Cuéllar Maldonado, Lydia M^a Bernabéu Roda, Paloma Durán Ballesteros, M^a de las Nieves Calatrava Morales, M^a José Soto Misffut.

El Grupo de Genética de Infecciones Fitobacterianas (<http://www.eez.csic.es/?q=es/node/6824>) fue creado en junio de 2013 por la Dra. M^a José Soto, tras su escisión del Grupo de Interacciones Planta-Bacteria de la EEZ. El interés del grupo se centra en identificar señales químicas, determinantes genéticos y mecanismos moleculares que permiten el establecimiento de infecciones bacterianas en plantas. Como modelo de estudio utilizamos fundamentalmente la interacción *Sinorhizobium meliloti*-alfalfa, una simbiosis mutualista conocida por su capacidad de formar nódulos fijadores de nitrógeno. Usando la experien-

cia adquirida, la información disponible, y las numerosas herramientas desarrolladas durante las investigaciones en esta simbiosis, nuestros estudios se centran en las etapas más tempranas y menos conocidas de esta interacción como son los procesos de colonización e invasión de la planta, procesos comunes a otras asociaciones planta-bacteria. De hecho, cada vez son más las evidencias que sugieren que para poder colonizar, invadir y establecer una infección crónica en la leguminosa, los rizobios utilizan mecanismos similares a los adoptados por bacterias patógenas (Soto *et al.*, 2006; Soto *et al.*, 2009; Soto *et al.*, 2011).

La estrategia que empleamos para el logro de nuestro objetivo es la de investigar en la bacteria modelo *S. meliloti*, fenómenos bacterianos asociados a superficie como son la movilidad *swarming* y la formación de biofilm, basándonos en la estrecha conexión de estos fenómenos con la virulencia de bacterias patógenas. El *swarming* es un tipo de translocación bacteriana dependiente de acción flagelar caracterizado por el movimiento rápido y coordinado de toda una población sobre una superficie. Nuestro grupo fue pionero en evidenciar la existencia de *swarming* en un *Rhizobium*, concretamente en un mutante *fadD* de *S. meliloti* (Soto *et al.*, 2002). Aunque ya son varios los trabajos en los que se describe este tipo de movilidad en distintas especies de rizobios, el conocimiento existente sobre los componentes implicados, su control o el papel que desempeña la translocación bacteriana en superficie en el proceso de colonización e infección de la planta es casi inexistente. Durante nuestras investigaciones, realizamos el primer análisis transcriptómico de un *Rhizobium* en condiciones inductoras de *swarming*, lo que nos permitió comprobar que el crecimiento de *S. meliloti* sobre una superficie provoca notables cambios en su fisiología con respecto al crecimiento en medio líquido (Nogales *et al.*, 2010). Uno de los resultados más llamativos fue encontrar la inducción específica de genes relacionados con la captación y metabolismo del hierro en condiciones inductoras de *swarming*. Estos datos nos llevaron a demostrar que el sideróforo rizobactina 1021, un sideróforo muy particular que porta en su estructura un ácido graso que le confiere propiedades surfactantes, es esencial en el desplazamiento en superficie de la bacteria, así como para el desarrollo de biofilms y colonización de la planta (Nogales *et al.*, 2010; Amaya-Gómez *et al.*, 2015). Además, hemos encontrado evidencias que sugieren que en *S. meliloti* existen mecanismos reguladores que, como en otras bacterias, controlan de manera inversa la movilidad *swarming* y la formación de biofilms, mecanismos que parecen ser importantes para conseguir colonizar eficientemente la raíz de la planta hospedadora. Uno de esos mecanismos está controlado por los niveles de hierro en el medio y la proteína reguladora de su homeostasis en *S. meliloti*, RirA. En un segundo mecanismo está implicada la proteína FadD con función en metabolismo lipídico.

Hemos comprobado que el control del desplazamiento en superficie de *S. meliloti* es complejo, pudiéndose encontrar diferencias notables entre distintas cepas (Nogales *et al.*, 2012; Bernabéu-Roda *et al.*, 2015). Así, existen cepas que se desplazan en superficie utilizando exclusivamente la movilidad *swarming*, mientras en otras puede ponerse de manifiesto un desplazamiento independiente de acción flagelar tipo *sliding* o *surfing* en el que la acción de compuestos biosurfactantes (como el sideróforo rizobactina 1021), sistemas de regulación *quorum sensing*, y la producción de ciertos polisacáridos extracelulares desempeñan un papel importante. Interesantemente, cualquiera que sea el caso, la pérdida de función del gen *fadD* promueve el desplazamiento en superficie de estas bacterias, a través de un mecanismo que centra nuestras investigaciones.



Figura 1. Movilidad en superficie de la cepa Rm1021 de *Sinorhizobium meliloti*.

FadD codifica una acil-CoA ligasa específica de ácidos grasos de cadena larga cuya ausencia en *S. meliloti* induce la aparición de *swarming*, altera la expresión de genes simbióticos y de motilidad, y confiere defectos en la capacidad de nodular plantas de alfalfa (Soto *et al.*, 2002). Estos resultados nos llevaron a sugerir que compuestos de naturaleza lipídica relacionados con la actividad FadD, podrían actuar como señales capaces de controlar *swarming* y la capacidad simbiótica de la bacteria, hipótesis en la que trabajamos desde hace ya varios años en colaboración con los Dres. Isabel López-Lara y Otto Geiger del Centro de Ciencias Genómicas de la UNAM (Cuernavaca, Méjico). De estas investigaciones se han obtenido dos importantes resultados: i) FadD es esencial en la utilización de ác. grasos endógenos liberados en un posible proceso de reciclado de lípidos de membrana (Pech-Canul *et al.*, 2011), y ii) la identificación de 2-tridecanona (2-TDC) como compuesto que se acumula en mutantes *fadD* de *S. meliloti* y que es capaz de inducir motilidad en superficie no solo en distintas cepas de *S. meliloti*, sino también en bacterias filogenéticamente alejadas, lo que podría sugerir que 2-TDC es una molécula de señalización en bacterias. Hasta nuestro descubrimiento, la 2-TDC era conocida como un insecticida natural cuya producción en plantas de tomate silvestres las hace especialmente resistentes al ataque de insectos herbívoros. Nuestras investigaciones han revelado que además de alterar comportamientos asociados a superficie en distintas bacterias, la 2-TDC interfiere con el establecimiento de asociaciones planta-bacteria mutualistas y patógenas, resultado que podría ser utilizado en el campo de la prevención de infecciones bacterianas (Soto *et al.*, 2014). En concreto, en la interacción *S. meliloti*-alfalfa,

la presencia de 2-TDC provoca un retraso y reducción en el número de nódulos desarrollados por la planta. Nuestras investigaciones se centran actualmente en identificar el mecanismo por el cual la 2-TDC es capaz de interferir en el establecimiento de asociaciones planta-bacteria. Para ello, empleamos distintos abordajes. Por un lado, investigamos en profundidad los efectos producidos por la metilcetona en la biología de nuestra bacteria modelo *S. meliloti*, y en colaboración con el Dr. Miguel Cámara (Univ. Nottingham, UK) analizamos también sus efectos en bacterias alejadas filogenéticamente del género *Pseudomonas*. Por otro lado, estamos llevando a cabo la identificación de genes que responden a 2-TDC y que participan en su mecanismo de acción mediante distintas estrategias. Además en colaboración con los Dres. López-Lara y Geiger investigamos a nivel bioquímico el origen y funcionalidad de lo que parece ser una nueva molécula señal entre bacterias. Con el conocimiento adquirido esperamos desarrollar nuevas herramientas biotecnológicas que permitan el control de bacteriosis en plantas y/o la producción de biofertilizantes más efectivos con los que se incremente la producción vegetal, siendo respetuosos con el medioambiente.

REFERENCIAS

- Amaya-Gómez CV, Hirsch AM, Soto MJ.** (2015). Biofilm formation assessment in *Sinorhizobium meliloti* reveals interlinked control with surface motility. *BMC Microbiol* 15: 58 DOI 10.1186/s12866-015-0390-z.
- Bernabéu-Roda L, Calatrava-Morales N, Cuéllar V, Soto MJ.** (2015). Characterization of surface motility in *Sinorhizobium meliloti*: regulation and role in symbiosis. *Symbiosis* DOI 10.1007/s13199-015-0340-4.
- Nogales J, Bernabéu-Roda L, Cuéllar V, Soto MJ.** (2012). ExpR is not required for swarming but promotes sliding in *Sinorhizobium meliloti*. *J Bacteriol* 194: 2027-2035.
- Nogales J, Domínguez-Ferreras A, Amaya-Gómez CV, van Dillewijn P, Cuéllar V, Sanjuán J, Olivares J, Soto MJ.** (2010). Transcriptome profiling of a *Sinorhizobium meliloti fadD* mutant reveals the role of rhizobactin 1021 biosynthesis and regulation genes in the control of swarming. *BMC Genomics* 11: 157.
- Pech-Canul A, Nogales J, Miranda-Molina A, Alvarez L, Geiger O, Soto MJ, López-Lara IM.** (2011). FadD is required for utilization of endogenous fatty acids released from membrane lipids. *J Bacteriol* 193: 6295-6304.
- Soto MJ, Nogales J, Olivares J, Sanjuán J.** (2014) Método para prevenir y/o controlar infecciones bacterianas. PCT/ES2013/070570. W02014020224 A1 6 Feb 2014.
- Soto MJ, Nogales J, Pérez-Mendoza D, Gallegos MT, Olivares J, Sanjuán J.** (2011). Pathogenic and mutualistic plant-bacteria interactions: ever increasing similarities. *Cent Eur J Biol* 6: 911-917.
- Soto MJ, Domínguez-Ferreras A, Pérez-Mendoza D, Sanjuán J, Olivares J.** (2009). Mutualism versus pathogenesis: the give-and-take in plant-bacteria interactions. *Cell Microbiol* 11: 381-388.
- Soto MJ, Sanjuán J, Olivares J.** (2006). Rhizobia and plant-pathogenic bacteria: common infection weapons. *Microbiology* 152: 3167-3174.
- Soto MJ, Fernández-Pascual M, Sanjuán J, Olivares J.** (2002). A *fadD* mutant of *Sinorhizobium meliloti* shows multicellular swarming migration and is impaired in nodulation efficiency on alfalfa roots. *Mol Microbiol* 43: 371-382.