

SEM@foro

Revista de la Sociedad Española de Microbiología

DICIEMBRE 2015

N.º 60

www.sem microbiologia.org

Microbiología de Plantas

XXV CONGRESO SEM Pág. 18

HISTORIA DEL BROCK Pág. 25

Junta Directiva de la SEM

Presidente

Antonio Ventosa Ucero

Dpto. Microbiología. Facultad de Farmacia.
Universidad de Sevilla.
C/ Prof. García González, s/n. 41012 Sevilla. ventosa@us.es

Vice-Presidente

Rafael Giraldo Suárez

Centro de Investigaciones Biológicas. CIB-CSIC.
C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid.
rgiraldo@cib.csic.es

Secretario

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid. jayala@cbm.uam.es

Tesorerera

Irma Marín Palma

Departamento de Biología Molecular.
Universidad Autónoma de Madrid.
Cantoblanco, 28049 Madrid. imarin@cbm.uam.es

Editores de publicaciones

International Microbiology

José Berenguer (Codirector - Madrid)

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
Departamento de Biología Molecular.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.
jberenguer@cbm.uam.es

Ricardo Guerrero (Codirector - Barcelona)

Institut d'Estudis Catalans.
C/ Carmen, 47. 08001 Barcelona. rguerrero@iec.cat

SEM@foro

Víctor Jiménez Cid

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad
Complutense. 28040 Madrid. vicjid@uclm.es

NoticiaSEM

Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.
Campus de Cartuja. 18071 Granada. equesada@ugr.es

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Rosa Aznar Novella

Dpto. Microbiología y Ecología.
Facultat de Ciències Biològiques. Univ. de València.
C/ Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot, València.
rosa.aznar@uv.es

Responsable Cursos de Formación Continua on-line

Diego Alejandro Moreno Gómez

Dpto. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales.
ETS Ingenieros Industriales.
Universidad Politécnica de Madrid.
José Gutiérrez Abascal, 2. E-28006 Madrid.
diego.moreno@upm.es

Vocales

M^a José Figueras Salvat

Unitat de Biologia i Microbiologia. Facultat de Medicina i
Ciències de la Salut. Universitat Rovira i Virgili.
C/ Sant Llorenç, 21. E-43201 Reus
mariajose.figueras@urv.cat

Inés Arana Basabe

Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología.
Facultad de Ciencias y Tecnología.
Universidad del País Vasco (UPV/EHU).
C/Barrio Sarriena s/n. E-48940 Leioa, Bizkaia
ines.arana@ehu.es

Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.
Campus de Cartuja, 18071 Granada. equesada@ugr.es

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela.
15706 Santiago de Compostela. (A Coruña).
jesus.romalde@usc.es

Diego A. Moreno Gómez

Dpto. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales.
ETS Ingenieros Industriales. Universidad Politécnica
de Madrid. José Gutiérrez Abascal, 2. E-28006 Madrid.
diego.moreno@upm.es

David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria.
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.
Carretera de Burgos, Km.119. 47071 Valladolid.
ita-rodla@itacyl.es

Presidentes de Grupos

Biodeterioro y Biodegradación

Asunción de los Ríos Murillo

Instituto de Recursos Naturales.
Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC.
Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid.
arios@ccma.csic.es

Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

Humberto Martín Brieva

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense.
Pza. Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid.
humberto@uclm.es

Biología de Microorganismos Patógenos

Ángel Domínguez Olavarrí

Departamento de Microbiología y Genética.
Universidad de Salamanca. 37007 Salamanca.
ado@usal.es

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Francisco Javier Pastor Blasco

Dpto. Microbiología.
Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.
Avda. Diagonal 645. 08028 Barcelona.
fpastor@ub.edu

Microbiología de los Alimentos

Francisco Javier Carballo García

Área de Tecnología de los Alimentos.
Facultad de Ciencias de Ourense.
Campus Universitario, s/n. Universidad de Vigo. 32004 Vigo.
carbatec@uvigo.es

Microbiología Molecular

Bruno González Zorn

Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).
Universidad Complutense.
Av. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid.
bgzorn@uclm.es

Microbiología del Medio Acuático

Juan José Borrego García

Dpto. Microbiología. Facultad de Ciencias.
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.
29071 Málaga.
jjborrego@uma.es

Microbiología de Plantas

Antonio de Vicente Moreno

Dpto. de Microbiología. Facultad de Ciencias. IHSM-UMA-CSIC.
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.
29071 Málaga.
adevicente@uma.es

Protistología

Ana Martín González

Dpto. Microbiología III. Facultad de Biología.
Universidad Complutense.
C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid.
anamarti@bio.uclm.es

Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela.
15706 Santiago de Compostela. (A Coruña).
jesus.romalde@usc.es

Docencia y Difusión de la Microbiología

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genética i de Microbiologia.
Universitat Autònoma de Barcelona.
Cerdanyola del Vallès. 08193 Barcelona.
Montserrat.llagostera@uab.cat

SEM@foro es una publicación semestral de la **Sociedad Española de Microbiología (SEM)**

Director: **Victor Jiménez Cid**. E-mail: vicjid@uclm.es.

Co-editor de la Sección Microbiología de Plantas: **Antonio de Vicente**

Webmaster de la SEM: **Jordi Urmeneta Masó**. E-mail: jurmeneta@ub.edu. Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. E-08028 Barcelona.

La SEM y el Director no comparten necesariamente las opiniones que puedan aparecer en artículos, informaciones o cartas enviados por los socios, ni se responsabilizan de su veracidad.

ISSN: 2254-4399

Depósito Legal: M-12838-2013

Maquetación e Impresión: **Diseño y Control Gráfico, S.L.** Tel.: 91 731 05 13.

E-mail: info.dcg@design2aa.com · www.design-2aa.com

www.semicrobiologia.org/sec/SEM@FORO



Visite la página web
de la SEM:

www.semicrobiologia.org

Encontrará información
actualizada sobre
congresos, reuniones,
cursos y becas

Socios protectores de la SEM:

Francisco Soria Melguizo, S.A.



Fundación Medina



Para solicitar más información,
inscripciones o publicidad,
diríjase a la Secretaría de la

**Sociedad Española
de Microbiología**

C/ Rodríguez San Pedro, 2
Planta 2ª – despacho 210
28015 Madrid

Tel. 91 561 33 81

secretaria.sem@semicrobiologia.org

Nota del Presidente

Antonio Ventosa Ucero 02

Nuestros Grupos

Informes de los grupos especializados..... 04

Tesis doctoral

Resumen de tesis doctoral..... 08

Colección Española de Cultivos Tipo

El papel de la CECT en la conservación, explotación e internacionalización
de los recursos microbianos españoles 09

Microrreportajes

Cultura microbiológica para futuros científicos 11

Homenaje a Ricardo Guerrero en el XXV Congreso SEM 12

Fernando Baquero recibe el Premio André Lwoff de la FEMS por su trayectoria
en el campo de la microbiología *por José Luis Martínez* 13

«Imaginando» microbios *por Rubén Duro* 15

Eutrofización del Lago Sanabria..... 17

Congresos

XXV Congreso Nacional de Microbiología 18

Cursos

XIX Curso de iniciación a la investigación en microbiología 21

Antibióticos y resistencias: un reto recurrente 24

Artículo

Libros de ciencia y ciencia en los libros *xRicardo Guerrero y Michael T. Madigan*..... 25

Microbiología de plantas

El Grupo de Microbiología de plantas, seis años después..... 30

Epidemiología y control integrado de enfermedades bacterianas y fúngicas
en frutales 32

Grupo de Genética de Infecciones Fitobacterianas: Descifrando el movimiento
bacteriano en superficie..... 35

Xanthomonas un género de bacterias fitopatógenas con una alta especialización .. 38

Interacciones beneficiosas entre plantas de interés agrícola
y microorganismos rizosféricos 42

Interacciones planta-microorganismo..... 45

Mecanismos de adaptación de *P. fluorescens* F113 al ambiente rizosférico 48

Mecanismos de activación y evasión de defensas mediados por efectores
tipo III en *Pseudomonas syringae*..... 51

Trichoderma y su aplicación en agricultura como agente de control biológico
y como hongo beneficioso para las plantas 54

Papel del segundo mensajero c-di-GMP en bacterias que interactúan
con plantas 56

Grupo de Bacteriología de Plantas (BACPLANT) Bacterias asociadas a plantas
y líquenes: biología y aplicaciones biotecnológicas 59

Intercambio de nutrientes y señales en la simbiosis *Rhizobium-leguminosa* 61

Bacterias fitopatógenas en el IVIA: prevenir es mejor que curar 63

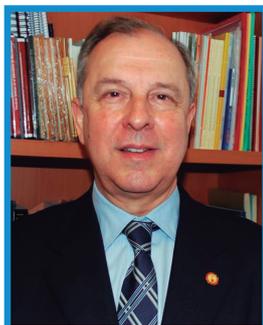
Percepción y adaptación en bacterias durante la interacción con la planta..... 66

Biología y control de enfermedades de plantas 70

Carta al presidente

Jacek Wierzychos (Museo Nacional de Ciencias Naturales) 74

Nota del Presidente



Antonio Ventosa Ucero
Presidente de la SEM

En el número anterior de SEM@foro publicado en junio de este año tuve la oportunidad de dirigirme por primera vez a todos los socios de la SEM como Presidente de nuestra sociedad, agradecerles la confianza depositada en mí y darles una visión general de mis ideas y planes acerca del futuro de la misma. Cuando se publique este número de SEM@foro ya habrá pasado un año desde que asumí el cargo de Presidente y creo que sería adecuado hacer un breve balance acerca de las actividades de la SEM durante este periodo y sobre todo expresar algunas ideas acerca de algunos aspectos que considero sería necesario abordar en cuanto a nuestra proyección hacia el futuro.

Entre los hechos relevantes de este año 2015 me gustaría comenzar por nuestro congreso nacional, en esta ocasión celebrado el pasado mes de julio en la Universidad de la Rioja. La cálida acogida de la ciudad de Logroño y un programa científico que no me equivoco si lo califico de excepcional, nos hicieron pasar unos días magníficos durante los cuales tuvimos la oportunidad de debatir temas de gran actualidad e interés en Microbiología. En esta ocasión celebramos el XXV congreso nacional de nuestra sociedad y quisimos tener un reconocimiento especial hacia la Microbiología Española y a los muchos microbiólogos que a lo largo de los años impulsaron nuestra ciencia. El programa científico comenzó con una magnífica conferencia inaugural de César Nombela y finalizó con otra no menos interesantísima conferencia de Diego Romero Hinojosa, que recibió el Premio Jaime Ferrán de la SEM, e incluyó excelentes simposios, workshops y sesiones de comunicaciones tanto orales como en panel; como siempre, los jóvenes investigadores participaron activamente y fueron nuestros más importantes protagonistas. Por otro lado, también tuvimos la posibilidad de conocer una bonita ciudad y disfrutar de un excelente programa social regado por los incomparables caldos de la zona. Debemos agradecer a Elena González Fandos y a su equipo la magnífica labor realizada en la organización del congreso.

Por otro lado, también me gustaría destacar el importante papel en nuestra sociedad de los grupos especializados, que ya han comenzado a organizar sus reuniones bienales para el próximo año 2016. Uno de los grupos más activos en la actualidad es el grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología (D+D), en el cual también están trabajando con enorme intensidad y entusiasmo los jóvenes investigadores de nuestra sociedad.

Sin duda alguna, uno de los aspectos más relevantes durante este año ha sido la publicación del libro «Relatos Microscópicos», que incluye cinco relatos cortos, entre ellos los ganadores y finalistas del concurso organizado por el grupo D+D. Se trata de una iniciativa que todos los socios debemos valorar y apoyar, de la que debemos sentirnos orgullosos, colaborando en su difusión y sobre todo participando activamente para que sirva como vehículo de difusión de nuestra ciencia en la sociedad en general, y muy especialmente entre los más jóvenes a través de los centros docentes, núcleos familiares, amistades, etc. El libro se presentó formalmente en la Librería Cervantes de Madrid el pasado mes de octubre y el grupo D+D está haciendo gestiones para la distribución de algunos ejemplares en centro docentes, etc.

En septiembre se celebró en Sevilla el VII European Congress of Protistology, organizado por nuestro grupo especializado de Protistología, que por primera vez se organizó conjuntamente con la International Society of Protistologists. Enhorabuena a nuestros compañeros por la excelente organización y por el éxito cosechado.

También considero relevante la reciente firma de un convenio entre las dos sociedades hermanas SEI-MC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y la SEM, que posibilitará el intercambio de información, la organización de actividades conjuntas y la defensa de los intereses de los microbiólogos españoles en los ámbitos de actuación de nuestras sociedades. Por otra parte, hemos iniciado el proceso de

renovación de los Estatutos de nuestra sociedad, que deben ser actualizados y que deben recoger actuales y futuras expectativas de nuestra sociedad científica. En este sentido, creo que sería un momento adecuado para reflexionar acerca del papel de nuestra sociedad, de los objetivos y contribución de la misma en el avance de la ciencia. Por ello, nos gustaría conocer las opiniones de los socios y abrir un debate acerca de estos y otros aspectos que nos permitan elaborar un Plan Estratégico para los próximos años.

Y para finalizar, me gustaría dedicar unas últimas palabras acerca de la celebración del próximo congreso de FEMS en Valencia (7th Congress of European Microbiologists, 9-13 de julio de 2017). Estos congresos se han convertido en un referente mundial y no solo atraen la atención de los microbiólogos europeos. La SEM ha sido partícipe del éxito de los mismos y ya tuvo la oportunidad de organizar el

segundo congreso de FEMS en Madrid en 2006. En esta ocasión y por decisión de la Asamblea General de la SEM celebrada en Logroño nuestro congreso nacional se celebrará conjuntamente con el congreso FEMS. Sin duda alguna este va a ser un gran reto para todos nosotros, que nos va a permitir mostrar al exterior el excelente nivel científico que, a pesar de las actuales circunstancias económicas, poseemos los microbiólogos españoles. El pasado noviembre comenzamos los primeros pasos en dicha organización conjunta FEMS-SEM y me gustaría hacer un llamamiento a todos los socios de la SEM para que participemos activamente en este evento conjunto. Debemos ser capaces de elaborar un programa científico del más alto nivel, que sea atractivo para los congresistas. Todas las iniciativas serán bienvenidas.

Recibe un fuerte abrazo y mis mejores deseos para el año 2016.

Nuevos socios de la SEM

- Boix Amorós, Alba
- Castro, David
- Castro Bravo, Nuria
- Eraso Barrio, Elena
- Garcia-Lara, Jorge
- Lamas Freire, Alexandre
- Ledesma García, Laura
- Llorens Benlloch, Amparo
- Muñoz Jiménez, Raúl
- Plou Gasca, Francisco José
- Quisberth Barrera, Sergio Rodrigo
- Sesma Galarraga, Ane
- Soler Lloréns, Pedro Francisco
- Torres Porras, María Jesús
- Zamaonaindia Martínez, Iratxe

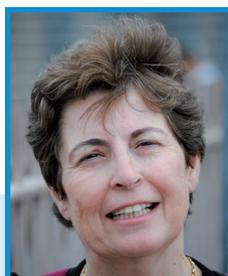
Altas desde el 8/5/2015 hasta 11/11/2015

SEM@foro y **NoticiaSEM** publican artículos de opinión y divulgación sobre Microbiología, así como todo tipo de reseñas e información sobre la actividad de los Grupos Especializados de la SEM, congresos, simposios, seminarios, etc.

Además, **SEM@foro** y **NoticiaSEM** admiten **PUBLICIDAD** de las actividades, servicios o productos de tu empresa o institución.

Solicita los precios de publicidad a los directores de las publicaciones o a secretaria.sem@semicrobiologia.org.

PROTISTOLOGÍA



Ana Martín González
Presidenta del Grupo

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



Francisco Javier Carballo
Presidente del Grupo

Desde el día 5 al 10 de septiembre de 2015 tuvo lugar en la ciudad de Sevilla el VII Congreso Europeo de Protistología (ECOP), que se celebró por primera vez de manera conjunta con el de la Sociedad Internacional de Protistólogos (*International Society of Protistologists*, ISOP). Este Congreso, organizado tradicionalmente por la *Federation of European Protistological Societies* (FEPS), delegó esta vez su organización en el Grupo Especializado de Protistología de la Sociedad Española de Microbiología. Esta Reunión Internacional contó con la asistencia de unos 370 participantes, procedentes de 38 países distintos de Europa, América del Norte e Iberoamérica, Asia (Próximo, Medio y Extremo Oriente: R.P. China, Taiwan, Corea, Japón, Vietnam, India, Pakistán, Israel, Turquía y Arabia Saudita), África y Australia. En total se realizaron 363 presentaciones distintas, de las cuales 8 fueron Conferencias Plenarias y 164 Presentaciones Orales. Dichas contribuciones orales se distribuyeron en 11 *Symposia*, 10 *Workshops*, 12 Sesiones simultáneas de Presentaciones Orales, 9 Sesiones Orales Principales y 3 Sesiones Orales Especiales, destinadas a jóvenes investigadores. Las 191 Comunicaciones restantes se exhibieron en forma de paneles durante tres sesiones distintas, en las que los congresistas tuvieron tiempo suficiente para intercambiar opiniones. Todas las Comunicaciones, Orales y en Panel se distribuyeron en 9 Bloques Temáticos Generales: *Evolution/Phylogeny* (78 presentaciones), *Genomics/Molecular Biology* (45), *Cell Biology* (33), *Taxonomy* (34), *Ecology* (52), *Physiology and Metabolism* (16), *Barcoding* (7), *Environmental Microbiology* (48) y *Parasitology* (50).

Los miembros del Comité Organizador estamos realmente satisfechos por el elevado número de participantes en el Congreso y la gran calidad y novedad de todas las contribuciones presentadas. No quisiera acabar esta pequeña crónica sin expresar mi más sincero agradecimiento y felicitación, en nombre del Grupo Especializado de Protistología, a los distintos integrantes del Comité Organizador Local y muy especialmente a los Drs. Aurelio Serrano y Eduardo Villalobos por el arduo trabajo realizado, que han llevado a cabo con dedicación y entrega y que nos ha hecho sentir a todos los participantes del Congreso una gran satisfacción por haber formado parte de este evento científico.

XXV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología

El Grupo de Microbiología de los Alimentos tuvo, como ya es habitual, una presencia relevante en el XXV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología, celebrado el pasado mes de julio en Logroño. Se presentaron, con esta temática, un total de 42 comunicaciones de las cuales 8 se expusieron oralmente y las 34 restantes en forma de póster. Fue destacable la elevada calidad científica de todas ellas y lo cuidado de sus presentaciones. La comunicación titulada «Fagoterapia basada en nanocápsulas lipídicas de bacteriófagos» de los autores Joan Colom, Mary Cano, Jennifer Otero, Susana Campoy, Pilar Cortés, Daniel Maspoch y Montserrat Llagostera, pertenecientes al Departamento de Genética y Microbiología de la Universidad Autónoma de Barcelona, recibió el premio a la mejor comunicación de Microbiología de los Alimentos.

El Grupo celebró su asamblea el día 8 de julio. El punto fundamental del orden del día se centró en el debate sobre la temática de las mesas redondas y las actividades a realizar en el próximo Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos que se celebrará, D.m., en León.

El día 10 de julio se celebró el Simposio titulado «Biofilms microbianos e Industria Alimentaria. El reto continúa», moderado por la Prof.^a Capita García, de la Universidad de León, donde se abordó la problemática de la formación de biofilms en la industria alimentaria y se describieron los últimos avances e investigaciones relacionados con los mecanismos de formación de biofilms bacterianos. El simposio contó con una audiencia muy numerosa (entorno a los 170 asistentes) y a su finalización tuvo lugar un interesante debate en el que se profundizó sobre los aspectos básicos y aplicados de la formación de biofilms, la importancia en la industria alimentaria y el reto que para la ciencia supone el conocimiento de los mecanismos de formación, de cara a combatirlos eficazmente.

XX Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos

El XX Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos tendrá lugar, D.m., durante los días 14, 15, y 16 de septiembre de 2016 en León (Salones de la Real Colegiata de San Isidoro, Plaza Santo Martino, 5). Correrá la presidencia de la organización a cargo del Prof. Don Carlos Alonso Calleja, Profesor Titular de Nutrición y Bromatología de la Universidad de León.

DOCENCIA Y DIFUSIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA



Montserrat Llagostera
Presidenta del Grupo D+D SEM

Estimados colegas,

Como ya os anuncié, se renovaron los cargos de Vicepresidente, Secretario y cinco Vocales de nuestra Junta Directiva en junio de 2015. Como ya viene siendo habitual, las votaciones se realizaron electrónicamente y contaron con una participación del 35,4% (62 votantes), la cual, si bien no es la que quisiéramos, la valoramos como exitosa. Las personas elegidas fueron: Ignacio López-Goñi (Vicepresidente), Inés Arana Basabe (Secretaria-Tesorera) y los Vocales Ignacio Belda Aguilar, Víctor Jiménez Cid, Magdalena Martínez Cañamero, Manuel Sánchez Angulo y María José Valderrama. La nueva Junta se constituyó en el Congreso de Logroño y en la asamblea de Grupo que se celebró se tomaron una serie de acuerdos. A continuación os comento los más destacados:

- La **próxima Reunión de nuestro grupo** se celebrará en Bilbao los días 18 y 19 de julio de 2016 y estará organizada por Inés Arana Basabe y su grupo. Además de nuestras propias actividades, nuestra III Reunión de Grupo será también la sede de la reunión de los delegados europeos de educación de diversas sociedades de microbiología europeas y de la delegada de la propia FEMS. **Anotadlo en vuestras agendas** ya que prevemos que será una reunión muy especial. Es una gran oportunidad para demostrar a los delegados europeos todas nuestras actividades, por lo que os pedimos encarecidamente vuestra participación y asistencia.
- El XX Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología se celebrará en Jaén y será organizado por Magdalena Martínez Cañamero.
- El XXI Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología se celebrará en Valencia, con lo cual coincidirá con nuestro congreso SEM/FEMS, y será organizado por David Ruiz Arahal.
- Se definieron una serie de tareas y se designaron responsables, los cuales ya han empezado a trabajar. Durante este año iréis viendo su fruto.

Por lo que respecta a nuestra participación en el **XXV Congreso Nacional de Microbiología**, las charlas que integraron nuestro Simposio «Actualización de la Microbiología en el currículo del estudiante preuniversitario» fueron muy interesantes y los ponentes junto con los asistentes lle-

garon a la conclusión de que se requiere formar pequeños núcleos a lo largo de la geografía española para dinamizar la conexión entre los microbiólogos de las universidades y los profesores y maestros de niveles preuniversitarios. Ello ha dado lugar a la designación de responsables de áreas y a una coordinadora general (Dolors Vidal E-mail: MariaDolors.Vidal@uclm.es) con la que podéis contactar si estáis interesados en participar en esta iniciativa. Junto a ello, se presentaron 16 pósteres y 6 comunicaciones orales de difusión y docencia de la Microbiología. Aun cuando la asistencia al simposio y a las comunicaciones orales no fue tan elevada como hubiéramos querido, hubo un gran ambiente de intercambio y debate en las sesiones de pósteres, lo cual es una muestra del interés de muchos de los asistentes al congreso por los temas de los que nuestro grupo se ocupa. Además y, sin lugar a dudas, la distribución gratuita del libro *Relatos Microscópicos* entre los asistentes al Congreso fue muy bien acogida. Desde estas líneas agradezco a todos los grupos de la SEM y a su directiva el esfuerzo que han hecho para que este libro pudiera publicarse en formato papel. Y ya que os hablo de nuestro libro, os comento que la dirección de SEM, conjuntamente con nuestro grupo, se ha volcado en promover su difusión. Para ello, hemos iniciado una campaña de distribución gratuita de ejemplares del libro y también una serie de actos de presentación del libro. En este sentido, ya tuvo lugar un acto de presentación en Madrid (librería Cervantes y Cia.) el pasado 20 de octubre y se espera que puedan celebrarse otros actos similares a este en otros lugares de nuestra geografía. Asimismo, estamos valorando la posibilidad de traducir nuestro libro a otros idiomas, como por ejemplo al inglés, con el objetivo de presentarlo en el Congreso de FEMS en Valencia. Por otra parte, y de cara a convocar una segunda edición del concurso *Relatos Microscópicos*, estamos trabajando en conseguir un patrocinador que nos ayude a financiar la publicación en papel del libro que salga de esta segunda edición.

En otro orden de cosas, hemos continuado manteniendo nuestro contacto con FEMS, no tan solo a nivel institucional a nivel de la delegada de educación, sino también con la aportación de las experiencias de miembros de nuestro grupo a la jornada especial sobre Educación en el Congreso FEMS de Maastricht 2015. Aun cuando yo no pude asistir, sí he de juzgar por los comentarios que he recibido, la participación española fue muy destacada. En esta misma línea de internacionalización, nuestro grupo va a participar en el IX Congreso Iberoamericano de Docencia Universitaria que se celebrará el próximo año en Murcia. Por otra parte, como en anteriores ediciones, se celebró en julio con mucho éxito el XIX Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología en Logroño bajo la organización de Elena González Fandos. Como novedad destacada del curso es que se editó un CD y un libro que contienen los resúmenes de las charlas que impartieron los profesores del curso. Ciertamente es una muy buena iniciativa que esperamos mantener, en la medida de lo posible, en futuros cursos.

Junto a todo lo que os he comentado, el grupo JISEM continúa con su actividad y, además, ahora es el contacto de SEM con los alumnos asistentes a las diferentes edicio-

nes del curso. El grupo está también comprometido con la elaboración de un censo de los jóvenes investigadores SEM y de muchas otras tareas. Nuestros grupos de trabajo continúan también con sus tareas, las cuales son tan necesarias como las actividades que os he comentado. Así, es imprescindible la labor de atención a los medios de comunicación ya que cada día nuestra sociedad recibe más y más consultas de los medios. También es necesario que nuestras redes sociales funcionen lo más ágilmente posible, que los responsables de cada grupo especializado suministren a los editores de SEM@foro y NoticiaSEM nuestras publicaciones, o que nuestra web recoja toda nuestra actividad, entre otras tareas. Por todo ello, mi agradecimiento a todos los miembros del grupo D+D SEM que, de forma muchas veces callada, contribuyen a mejorar día a día el buen funcionamiento del grupo y, en consecuencia, de la propia SEM.

Nos encontrareis en <http://www.semicrobiologia.org/ddm/index.php> Muchas gracias a todos por vuestra colaboración.

HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS



Humberto Martín
Presidente del Grupo

Os informamos que nuestro próximo congreso, el XIII Congreso Nacional de Micología, se celebrará en la Universidad de Lleida, del 20 al 22 de junio de 2016 y estará organizado por María Ángeles de la Torre. Como sabéis, en el congreso participa tanto la Asociación Española de Micología (AEM), como nuestro grupo especializado. En esta ocasión el Congreso tendrá una duración algo más reducida que la habitual, y la filosofía que lo impregna es la de dar más participación a los jóvenes a través de charlas breves. En breve el grupo especializado convocará el premio Fleming 2014, galardonado con la charla de clausura del Congreso.

Durante el pasado XXV Congreso Nacional de Microbiología (Logroño, La Rioja, 7-10 de julio de 2015) tuvo lugar el simposio titulado «Los hongos: modelo de estudio de procesos biológicos y biotecnológicos», organizado por nuestro grupo y en el que intervinieron César Roncero, del Instituto de Biología Funcional y Genómica, Salamanca, Ane Sesma, de la Universidad Politécnica de Madrid, María Jesús Martínez, del Centro de Investigaciones Biológicas de Madrid y María Ángeles de la Torre, de la Universidad de Lleida. El premio a la mejor presentación del grupo se concedió a Jorge Barriuso, del Centro de Investigaciones Biológicas de Madrid.

BIODETERIORO, BIODEGRADACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN



Asunción de los Ríos
Presidenta del Grupo

El Grupo ha organizado durante el XXV Congreso de Microbiología SEM, el miércoles 8 de julio del 2015, un simposio de título «Nuevas metodologías aplicadas al biodeterioro, biodegradación y biorremediación» organizado por Constantino Ruibal, con financiación de la empresa Thor Especialidades S.A. e Iberdrola, que contó con un importante número de asistentes y permitió revisar los avances metodológicos recientes en el área y poner de manifiesto la importancia de una aproximación multidisciplinar a la hora de estudiar estos temas. Durante el congreso se dio también el Premio Thor a la mejor comunicación en la temática del biodeterioro, biodegradación y biorremediación, el cual recayó en Juan Antonio López-González, de la Universidad de Almería, por la comunicación titulada «Estudio de la estructura de la microbiota bacteriana del compostaje de residuos vegetales.»

El Grupo trata de tener una hoja web actualizada por lo que os solicitamos que nos enviéis cualquier información que consideréis interesante incluir, de forma que sea una página activa y participativa.

MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA



Francisco Javier Pastor Blasco
Presidente del Grupo

En la última reunión del Grupo Especializado, celebrada en Logroño durante el Congreso SEM 2015, se hizo patente el interés y la importancia de dinamizar el grupo con la incorporación de investigadores jóvenes y con su participación activa en las ponencias y simposios, tanto en el próximo congreso CMIBM 2016, a celebrar en León organizado por José Antonio Gil, como en los futuros congresos nacionales de la SEM. Por este motivo, se anima a los jóvenes doctorandos y postdocs a hacerse miembros del grupo especializado, y a presentar comunicaciones y ponencias en las próximas reuniones científicas y congresos.

Un segundo aspecto tratado fue la importancia de conseguir una mayor representatividad en el grupo especializado de la diversidad de temáticas y proyectos de investigación en Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana llevados a cabo por los microbiólogos españoles. Se hizo patente que la actividad del grupo no refleja la gran actividad en I+D que lleva a cabo en nuestro país. Por ello, y para fomentar una mayor participación de profesores e investigadores se acordó ampliar la junta directiva del grupo especializado a nuevos miembros con el fin de abarcar de forma más completa los diferentes temas de actualidad en el área y aportar nuevos puntos de vista. Como resultado, la Junta Directiva ha sido ampliada con la incorporación de Jesús Manuel Cantoral (Universidad de Cádiz) y Antonio Sánchez-Amat (Universidad de Murcia) como nuevos vocales. Sin duda contribuirán de forma muy positiva a la agilización y funcionamiento del grupo especializado, y a conseguir una mayor implicación del mismo con el sector productivo español.

MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO

Juan José Borrego
Presidente del Grupo



Symposium del grupo en el XXV Congreso Nacional celebrado en Logroño julio 2015

En el XXV Congreso de la SEM (Logroño, 2015) se celebró el Simposio organizado por el Grupo, moderado por el Dr. Manuel L. Lemos, Universidad de Santiago de Compostela, y contando con los siguientes ponentes y ponencias:

- Dra. Isabel Esteve. Universidad Autónoma de Barcelona, titulada: «Efecto de la salinización en las poblaciones

de microorganismos de los tapetes microbianos del delta del Ebro».

- Dr. Carlos P. Dopazo Universidad de Santiago de Compostela, titulada: «Poblaciones de peces salvajes: ¿responsables o sufridores de las patologías virales en acuicultura?».
- Dra. M^a José Figueras. Universidad de Rovira i Virgili, titulada: «Diversidad de *Aeromonas* en el medio acuático y sus implicaciones en la salud humana y animal».
- Dra. Silvia G. Acinas. Instituto Ciencias del Mar, CSIC, Barcelona, titulada: «Diversidad microbiana marina a escala global: ¿a dónde hemos llegado?».

Una comisión formada por miembros del Grupo Especializado se encargó de seleccionar los premios a los mejores póster del Grupo presentados en el Congreso, que recayó en las comunicaciones tituladas: «Estudio de los sistemas de comunicación quorum-sensing en bacterias patógenas marinas» realizado por Reina et al. de las Universidades de Granada y A Coruña; y «Comparación de la técnica MALDI-TOF y de técnicas convencionales fenotípicas para análisis rutinarios en una ETAP» realizado por Sala-Comorera *et al.*, De la Universidad de Barcelona.

Además, el Grupo celebró su Asamblea Anual donde se proclamaron los resultados de las elecciones a cargo, que se especificaron en el anterior informe. Así mismo, se aprobó la sede y organización del XI CONGRESO DE MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO, organizado por el Dr. José Agustín Guijarro de la Universidad de Oviedo.

XI CONGRESO DE MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO: Que se celebrará en Oviedo los días 20, 21 y 22 de julio de 2016, organizado por el Prof. J. Agustín Guijarro de la Universidad de Oviedo. Ya está toda la información disponible en la página web: <http://ximma16.uniovi.es>

Premio de tesis doctoral

Convocatoria del Premio a la mejor Tesis Doctoral leída durante los años 2014 y 2015.

Plazo de solicitud: Hasta 31 de marzo de 2016.

La convocatoria se enviará a todos los socios del grupo antes de Diciembre de 2015.

IN VITRO BIOACCESSIBILITY OF OCHRATOXIN A AND ASSESSMENT OF ITS CYTOTOXICITY AND GENOTOXICITY IN HUMAN CELL CULTURE

Autora: Cyndia Azucena González Arias.

Directores: Dr. Antonio J. Ramos Girona y Dr. Vicente Sanchis Almenar.

Centro de realización: Dpto. Tecnología de Alimentos- Universitat de Lleida.

Centro de defensa: Universitat de Lleida.

El uso de microorganismos para la bioremediación de metales pesados y radionúclidos presentes en muchos ecosistemas —por causas naturales así como consecuencia de actividades antropogénicas— es especialmente interesante en condiciones de pH neutro. Los minerales de hierro que incrustan estas bacterias (BIOS por sus siglas en inglés), debido a que tienen una estructura poco cristalina y a su gran reactividad y superficie específica, son excelentes materiales para la recuperación de contaminantes inorgánicos.

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida por varias especies de mohos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Es bien conocido que la OTA es una de las micotoxinas más ubicuas, ya que se ha encontrado en una gran variedad de alimentos tanto de origen vegetal como animal. El vino es un alimento que se encuentra contaminado con frecuencia con OTA y que puede tener una importante contribución a la exposición humana a esta micotoxina. Estudios en roedores han demostrado que la OTA es capaz de promover el desarrollo de tumores renales y hepáticos. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha clasificado a la OTA en el grupo 2B (posible compuesto carcinógeno para el hombre), porque los datos que demuestran la carcinogenicidad de la OTA en humanos aún son insuficientes.

Esta tesis doctoral tuvo dos objetivos generales: i) evaluar la bioaccesibilidad de la OTA en vino tinto, y ii) evaluar la citotoxicidad, genotoxicidad y la modulación de la expresión génica por la OTA.

En el caso de la bioaccesibilidad de la OTA, se llevó a cabo un estudio en vino tinto con tres niveles de contaminación de OTA (1,0-4,0 µg/L) en un sistema *in vitro* de digestión dinámica simulada. Los resultados de este estudio mostraron que la OTA es altamente bioaccesible en jugo gástrico (103-128%), pero poco bioaccesible en el jugo intestinal (<26%). En este sistema se evaluó también la transformación de la OTA a OTα, encontrando que la cantidad de OTα generada en la digestión gástrica varió

entre el 5,1-19,1%, mientras que en el compartimento intestinal no excedió del 5%.

La evaluación de la citotoxicidad de la OTA fue llevada a cabo usando varios ensayos *in vitro*, y tres tipos de cultivos celulares (linfocitos humanos, y las líneas celulares Caco-2 y HepG2). Los ensayos de viabilidad mostraron que bajas dosis de OTA (0,075-45 µM) no causan viabilidades por debajo del 65%. Aplicando estas mismas dosis, tras 24 h de exposición se detectó un daño significativo en la integridad de la membrana celular de las células Caco-2 diferenciadas y un efecto citostático en linfocitos humanos tratados con 15 µM de OTA.

En el caso de las células Caco-2, se estudió el efecto de la exposición a bajas dosis de OTA, sola o de forma conjunta con la micotoxina deoxinivalenol (DON), y se evaluó el presunto efecto protector del antioxidante resveratrol (RES), compuesto naturalmente presente en el vino tinto. La co-exposición a ambas micotoxinas aumentó significativamente la citotoxicidad de ambos compuestos en las células Caco-2, sin aumentar por ello la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO). La co-exposición de OTA o DON con RES no disminuyó la citotoxicidad, más bien al contrario, se observó un aumento de la citotoxicidad no asociado con un aumento en la producción de ERO.

Se usaron dosis bajas de OTA, inferiores a 45 µM, para evaluar la expresión de genes del sistema biotransformador de xenobióticos (genes del grupo CYP P450), así como la de los genes COX-2, LOX-5, y MRP2. Para ello se empleó un sistema de co-cultivo de células Caco-2 y HepG2 (placas de cultivo *transwell*) para simular la absorción intestinal y el metabolismo hepático. Los resultados indican que la OTA es capaz de modular fuertemente la expresión de los genes estudiados, teniendo, por lo general, el tiempo de exposición a la OTA un mayor efecto sobre la modulación de los genes y la integridad de la membrana (medida por la resistencia eléctrica transepitelial) que las diferentes dosis de toxina utilizadas en los tratamientos.

En cuanto a la evaluación de la genotoxicidad de la OTA, se ha demostrado que la OTA es una micotoxina genotóxica capaz de inducir formación de micronúcleos en linfocitos humanos, así como de, en un ensayo cometa, incrementar el porcentaje de ADN en el cometa, y causar la acumulación del mismo en las colas de los cometas mediante un retraso en el sistema de reparación del ADN.

Los resultados obtenidos indican que se deben realizar mayores esfuerzos para entender el modo de acción de la OTA, especialmente teniendo en cuenta su posible relación con el desarrollo del cáncer en los seres humanos. Los hallazgos sobre la citotoxicidad y genotoxicidad de la OTA a bajas dosis apoyan la teoría de que la OTA debería de ser considerada un carcinógeno sin umbral.

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

SEM@foro publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas por miembros de la SEM. Deben enviarse a la Secretaría de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al Director Editorial (vicjcid@farm.ucm.es) por correo electrónico, siguiendo el formato: Título, Autor, Director(es), Centro de realización, Centro de presentación (si es distinto) y Resumen (máximo, unas 200 palabras).

SEM@foro se reserva el derecho a no publicar la información si el resumen es excesivamente largo o el tema del trabajo no guarda suficiente relación con la Microbiología.

El papel de la **CECT** en la conservación, explotación e internacionalización de los recursos microbianos españoles



Rosa Aznar Novella

Catedrática del Departamento de Microbiología y Ecología
y directora de la CECT, Universidad de Valencia



Aurora Zuzuarregui Miró

Gestora del Centro de Recursos Microbianos, CECT,
Universidad de Valencia

Los recursos biológicos son la fuente de los materiales para la investigación científica y para actividades de I+D que conducen a descubrimientos que sustentarán el avance de la biotecnología y las bio-industrias, tal y como reconoce la OCDE¹. De ellos, los microorganismos conservados en colecciones de investigación, así como los albergados en colecciones públicas, representan el mayor potencial biotecnológico aun por explorar.

Valorizar y facilitar el acceso a dichos recursos microbianos son los principales objetivos de **MIRRI**², una de las Infraestructuras de Investigación (RI) **BioMédicas** del entorno de ESFRI, en cuyo diseño participa la CECT, y de la que ya se ha informado en números anteriores (n.º 55 junio 2013 y n.º 57 junio 2014). Dada la buena trayectoria y futuras perspectivas de MIRRI, a continuación ofrecemos una información más detallada para conocimiento de los microbiólogos españoles, muchos de los cuales han respondido muy favorablemente a alguna de las iniciativas derivadas del mismo:

Primeros pasos hacia la construcción de MIRRI. La fase preparatoria para el diseño de la infraestructura ha sido financiada por el proyecto FP7 n.º 312251, entre noviembre de 2012 y octubre de 2015, y sus resultados fueron valorados positivamente por la Comisión Europea (Mid-term review, junio 2014). En enero del presente año 2015, fue calificada por la Comisión como «altamente factible para su implementación» por lo que permanecerá en la hoja de ruta de ESFRI hasta 2020. Recientemente ha sido concedida una extensión de 6 meses, justificada por la necesidad de ajustar la propuesta sobre buenas prácticas de MIRRI a la nueva normativa europea (referente al marco legal de utilización de recursos genéti-

cos, Protocolo de Nagoya). Una vez se publiquen los actos de implementación del reglamento, que entrarán en vigor el 9 de Noviembre de 2015, se elaborará un Manual de Buenas Prácticas sobre Acceso y Reparto de Beneficios derivados de la utilización de recursos microbianos.

Etapa de transición. Dado que la financiación finaliza con el proyecto, durante la etapa de transición hasta la construcción de MIRRI, las colecciones y grupos de investigación participantes deberemos realizar un esfuerzo adicional y una inversión de recursos propios para continuar la labor de difusión y atracción de inversores que apoyen la infraestructura. En este sentido, Alemania contribuirá financiando a tiempo parcial el contrato del coordinador, para mantener un mínimo de cohesión en las acciones que se lleven a cabo durante esta fase.

Características de la infraestructura. MIRRI se constituirá como una entidad sin ánimo de lucro formada por una Unidad Central (Central Coordinating Unit, CCU) y diferentes Nodos Nacionales que coordinarán a las colecciones, instituciones y expertos que se adhieran a la infraestructura. Estará sostenida por un modelo de financiación mixto que implica un soporte económico, especialmente al inicio, a cargo de los Estados Miembros participantes a la que se añadirán los beneficios derivados de las actividades coordinadas desde la CCU. Los documentos que sustentarán MIRRI (estatutos, plan de financiación, reglas de funcionamiento, contrato de socio, etc.) están prácticamente finalizados y cuenta con el apoyo de al menos 8 países, 4 de los cuales (España, Francia, Polonia y Grecia) han firmado el «Memorandum of Understanding (MoU)». A nivel nacional también la Generalitat Valenciana

ha firmado el MoU, y numerosos organismos de investigación (CSIC, INIA), empresas (BIOPOLIS S.L., IMEGEN S.L.), otros ministerios (MAGRAMA) y asociaciones científicas (ASEBIO, BIOVAL, SEM) han manifestado su interés.

Últimas actuaciones. Los pasados días 8-10 de octubre tuvo lugar en Ámsterdam la reunión final de la fase preparatoria del proyecto, a la que fueron invitados los representantes de los gobiernos de 9 de los países participantes en MIRRI, entre ellos el representante español de MINECO. Dicha reunión ha supuesto un importante avance en la construcción de la infraestructura. A propuesta de los allí reunidos, a principios de 2016 el coordinador convocará un segundo encuentro, invitando a todos los países participantes en MIRRI, con el objetivo de decidir cuál será el país que acogerá la CCU y convenir el marco legal operativo de la infraestructura. Una vez decidida la localización de la sede estatutaria de MIRRI, el país correspondiente comenzará los trámites necesarios para el establecimiento legal del consorcio.

Resultados más relevantes de MIRRI hasta la actualidad. El proyecto MIRRI en sí mismo ya ha supuesto un gran avance en la coordinación de las colecciones de cultivos europeas y su conexión con otras colecciones a nivel internacional. Durante los 3 años de duración, además de los hitos y entregables planificados para el proyecto, que se pueden consultar a través de su página web², se han conseguido grandes logros. Entre ellos cabe mencionar que, por primera vez, los directores de las principales colecciones de cultivo europeas, entre ellas la CECT, se han reunido en varias ocasiones para discutir sobre aspectos como la política de incorporación de cepas, en aras de establecer una estrategia común que permita ampliar el rango de microorganismos accesibles a la comunidad científica, de modo sostenible, optimizando los recursos y evitando solapamientos. Otro de los logros ha sido el diseño de la plataforma que facilitará la colaboración activa y eficiente entre profesionales del ámbito de la microbiología, denominada «Espacio de Trabajo Colaborativo de MIRRI (MIRRI Collaborative Working Environment)». Dicha plataforma constituirá el núcleo de funcionamiento de MIRRI y permitirá compartir experiencias, acceder a servicios y formación, así como promover e incentivar la participación en proyectos de investigación. En esta línea, ya han sido financiados tres proyectos en el marco del Horizonte 2020 encaminados a ejemplarizar el funcionamiento sinérgico de infraestructuras de investigación de ESFRI. Por su parte, la CECT participa en la solicitud de una nueva propuesta de proyecto destinado a explorar y valorizar el potencial biotecnológico de recursos microbianos de origen marino.

Por otro lado, a nivel nacional, la CECT trabaja para implementar las lecciones aprendidas tras su participación en proyectos dedicados a la conservación de la diversidad microbiana, como MIRRI, y otros proyectos internacionales previos (MINE³; EMbaRC⁴; GBRCN⁵). Entre los hitos destacables durante los últimos años están:

- El establecimiento de contactos y las reuniones mantenidas con los correspondientes representantes gu-

bernamentales tanto a nivel nacional como autonómico consiguiéndose, entre otros, el apoyo de España y de la Comunidad Valenciana a su participación en la fase de construcción de MIRRI mediante la firma del MoU.

- El diálogo fluido entre el MAGRAMA y la CECT para resolver dudas acerca de la implantación del Protocolo de Nagoya y las normativas europea y nacional relacionadas;
- La participación de la CECT en foros nacionales sobre biodiversidad, así como en la elaboración del «Informe nacional sobre el estado de la biodiversidad para la alimentación y la agricultura de la FAO».
- La constitución de la Red Española de Microorganismos «REDESMI» (ver Sem@foro n.º 59 Junio 2015), iniciativa de la CECT financiada por la acción complementaria INIA (AC2013-00028). REDESMI tiene como misión mapear los recursos genéticos microbianos conservados en España y apoyar a los grupos de investigación que los mantienen: i) compartiendo buenas prácticas de gestión, caracterización y conservación de cepas; ii) dando visibilidad tanto a los recursos como a la experiencia de los laboratorios de investigación que los han generado y iii) desarrollando una base de datos de cepas con valor añadido, e.g. alto potencial biotecnológico.

La CECT, con sus 55 años de servicio y su liderazgo en el diseño de la RI MIRRI y de REDESMI, cuenta con la experiencia en gestión de recursos microbianos necesaria así como con el reconocimiento a nivel nacional, europeo e internacional para dar soporte a la participación de España en MIRRI. Está capacitada para actuar como **Nodo Nacional (NN)**, constituyendo el eje de los recursos microbianos españoles, a través de REDESMI, e incluso para ser la sede de la CCU, si fuera de interés nacional. Ello le daría una relevancia a España como país líder de una de las infraestructuras europeas más ambiciosas por su potencial en los próximos años. Para ello se requiere de financiación, como complemento a los fondos derivados de la Universidad de Valencia (UVEG) y de su actividad como servicio, que garantice la ejecución de sus funciones durante la etapa de transición y posterior construcción de la infraestructura.

La participación de España en MIRRI potenciará la visibilidad de los recursos microbianos españoles, no solo de los albergados en la CECT sino también de los inventariados a través de REDESMI, con gran potencial económico en áreas de crucial importancia biotecnológica como la enología, la agricultura o la industria láctea, entre otros.

1. **OECD Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres**, 2007. www.oecd.org/sti/biotech/38777417.pdf
2. **Microbial Resources Research Infrastructure, MIRRI**. www.mirri.org
3. **Microbial Information Network Europe, MINE**. http://cordis.europa.eu/project/rcn/4071_en.html
4. **European Consortium of Microbial Resources Centres, EMbaRC**. www.embarc.eu
5. **Global Biological Resource Centre Network, GBRCN**. www.gbrcn.org

Cultura microbiológica para futuros científicos

El pasado 20 de octubre se presentó el libro «Relatos microscópicos»: un hito divulgativo en la SEM

Víctor J. Cid

SEM@foro

La cita tuvo lugar en una acogedora librería de la madrileña calle del Pez, entre amigos y con la presencia de nuestro Presidente, Antonio Ventosa, y dos de las autoras premiadas en el concurso que precedió a la edición del libro, las profesoras Esperanza Gómez-Lucía Duato y María del Carmen de la Rosa Jorge. Más que un acto oficial, esta puesta de largo era una celebración, la culminación de una meta tras un largo camino. Este libro de cuentos, como los clásicos, tiene sus hadas madrinas y sus malvados. Las tres hadas buenas de estos cuentos, sin cuya guía y aliento nos habríamos perdido en el proceloso camino lleno de peligros son, a saber: Alicia Irurzun, nuestra hada madrina en la Editorial Hélice; Montserrat Llagostera, al mando del prolífico Grupo de Docencia y Difusión (D+D SEM), una especie de «Factoría Disney» de la Microbiología sin ánimo de lucro; y Emilia Quesada, la co-autora ganadora y reina del concurso, sin cuyas inyecciones de emoción nos habríamos retirado antes del final feliz. Los malos malísimos del cuento, además de alguno de los protagonistas, como ese beligerante VIcHo que encarna al virus del SIDA en el cuento de Esperanza, han sido una serie de fatalidades personales, la falta de previsión de los promotores literarios más novatos con que uno pueda toparse (como quien firma este artículo) y,



Esperanza Gómez-Lucía (autora), Víctor J. Cid (D+D SEM), Antonio Ventosa (Presidente SEM) y M^a del Carmen de la Rosa (autora) durante el debate con el público en la presentación del libro.

sobre todo, un tiempo de crisis financiera a la que la SEM no ha sido ajena, avatares de los que solo los héroes del cuento, nobles damas y caballeros de la tabla redonda de la Junta Directiva SEM a las órdenes de un artúrico Antonio Ventosa nos salvaron en el momento crítico aportando donaciones de sus cajas para sacar a flote el proyecto. Algunos colegios e institutos en toda España, y muchos socios asistentes al XXV Congreso SEM en Logroño ya tienen en sus manos uno de los 2000 ejemplares del libro, a la venta en librerías y la Editorial por 12 €. Ya saben cómo el empático Mouldy ayudó secretamente a Fleming a descubrir la penicilina, conocen a los coloridos personajes de ciertos ambientes acuáticos como Prodi y Jantino, han sido testigos de la inútil batalla a muerte entre Malaquías y VIcHo, han acompañado a un inquieto *Pseudomonas* multirresistente en su mudanza desde la UCI de un hospital hasta un ambiente menos claustrofóbico y, por último, han leído indiscretamente el diario de una reivindicativa *Escherichia coli* de laboratorio que es todo un carácter. Modesta pero honestamente, creemos que, tanto en lo narrativo como en lo visual el resultado de nuestro trabajo coral es de una calidad excelente. Quizás es ésta la iniciativa con más proyección de la SEM, su inversión a más largo plazo, pues quienes hoy leen ese libro en la biblioteca de su cole o instituto o en su cama antes de dormir no son otros que la siguiente generación de microbiólogos... Nuestros futuros discípulos, nuestro relevo.



Homenaje al Ricardo Guerrero en el XXV Congreso SEM

Víctor J. Cid

SEM@foro

Tras ocho años de servicio como Presidente de la SEM, muchos más como director de *International Microbiology* y, entre otros muchos méritos, «columnista» habitual de esta publicación y las que le precedieron, el Prof. Ricardo Guerrero (Universidad de Barcelona), merecía un reconocido homenaje por parte de la Sociedad que ha presidido. Los que conocemos al incansable Prof. Guerrero, hombre de mundo mientras sigamos viviendo en un mundo esencialmente microbiano, amante hasta la obsesión de la literatura, la gramática, la semántica, la etimología, la tipografía y todo lo que huelga a tinta en general y traductor al castellano de algunos de los textos más paradigmáticos de la microbiología, sabemos que más que una persona es un personaje. Como tal ha impreso en negrita su carácter personal a la SEM, lo que se traduce en la Sociedad que tenemos ahora, con sus luces, sus sombras, y todos los matices de claroscuros que caracterizan un colectivo tan complejo. Durante el XXV Congreso SEM en Logroño, a instancias de la Junta Directiva, se le ofreció un cumplido homenaje, en el que no faltó el guiño personal de sus colaboradores más cercanos, que celebraron con el *collage*

que aquí publicamos, ante todo, una vida dedicada a la Microbiología. Unas semanas antes, Ricardo había recibido el *GSK International Member of the Year Award* de la ASM en Louisiana. Enhorabuena.



Fernando Baquero recibe el Premio André Lwoff de la FEMS por su trayectoria en el campo de la microbiología

José Luis Martínez

CNB-CSIC, Madrid

«¿Cuál es la diferencia esencial entre la profesión de la fe de don Quijote, basada en el testimonio de los libros de caballerías, y la profesión de la fe de cada cristiano, basada en el testimonio de los libros hagiográficos y bíblicos?»

Esta frase, entresacada de un ensayo dedicado a analizar el Quijote, escrito por Fernando Baquero Mochales, refleja la curiosidad intelectual de nuestro compañero, merecidamente homenajeado por la FEMS con el premio André Lwoff por su excelencia como microbiólogo, pero también interesado en muchos otros aspectos del conocimiento humano. Fernando, uno de los más jóvenes (o quizá el más joven) presidentes de nuestra sociedad ha sido también un precursor en el desarrollo de la microbiología clínica y la infectología en nuestro país. Resulta llamativo que, a pesar de su reconocida aversión por el trabajo administrativo y organizativo, la pujanza de la microbiología y el papel crucial que tienen los servicios de microbiología y los de enfermedades infecciosas en los hospitales españoles no se entienden sin el impulso directo de Fernando Baquero en su desarrollo. Es posible que este aspecto de Fernando, en el sentido de que las cosas que hay que hacer (nos gusten o no), hay que hacerlas bien, sea de algún modo reflejo del espíritu de su padre, Don Gregorio, microbiólogo de primer orden y escritor barojiano que, a tenor de lo que Fernando nos ha ido contando a lo largo de los años, era un referente de integridad moral y respeto por el trabajo bien hecho.

A nadie le ha sorprendido el premio recibido por Fernando, pero este premio cubre tan solo una de las muchas facetas de su interés por el conocimiento. Los que le conocen de cerca saben que Fernando Baquero es en esencia un biólogo evolutivo que aborda el conocimiento al modo renacentista. Sabe mucho de muchas cosas y es capaz de transmitir este conocimiento de modo ameno y entusiasta. En la novela de Camilo José Cela «La Colmena» aparece un inventor de palabras, Matías Martín, que ofrece las mismas a quien quiera escucharle. En ocasiones hay también brillantes inventores de palabras en el ámbito científico que consiguen envolver con una nueva y fascinante terminología estudios de no demasiada novedad. A diferencia

de ellos, Fernando es un inventor de conceptos, una labor mucho más difícil, al alcance de solo unos pocos y sin la cual la Ciencia solo sería un catálogo de resultados sin un marco interpretativo de los mismos.

El trabajo de Fernando Baquero solo se entiende en base a tres características de su persona: Una enorme curiosidad, una capacidad de ilusionarse con nuevos proyectos que, aunque sea irreverente decirlo, solemos perder cuando dejamos de ser niños y una imaginación fuera de lo común. Estas características tamizadas por una impresionante capacidad de trabajo y un excelente rigor intelectual hacen de Fernando Baquero Mochales un referente para todos nosotros.

Enhorabuena amigo y te deseo que continúes, junto con Ros, manteniendo esa envidiable alegría por disfrutar lo que la vida ofrece.



Fernando Baquero (izqda.), junto con Jean-Claude Piffaretti, Presidente de FEMS (dcha.), en Maastricht el pasado mes de junio, donde recibió el prestigioso Premio Lwoff.

«Imaginando» microbios

Rubén Duro

Microbiólogo y documentalista

Más allá de lo que pueden captar nuestros ojos desnudos se esconde un mundo habitado por una pléyade de seres vivos diminutos y extraordinarios. Seres de una extraña belleza que aparecen de repente ante nuestra vista y nos regalan un extenso abanico de formas y colores. Ellos conforman nuestro otro mundo. Un mundo apenas perceptible directamente por nuestros sentidos y que, sin embargo, posee una extraordinaria importancia tanto para nuestra propia existencia como para la existencia y el funcionamiento de lo que conocemos con el nombre de Biosfera.

Y es que, más allá de su belleza, de su extraña y sorprendente apariencia, estos diminutos seres son los responsables últimos de que la vida en nuestro planeta exista tal y como la conocemos y de que la Tierra posea las características que la convierten en un lugar tan especial en nuestro Sistema Solar.

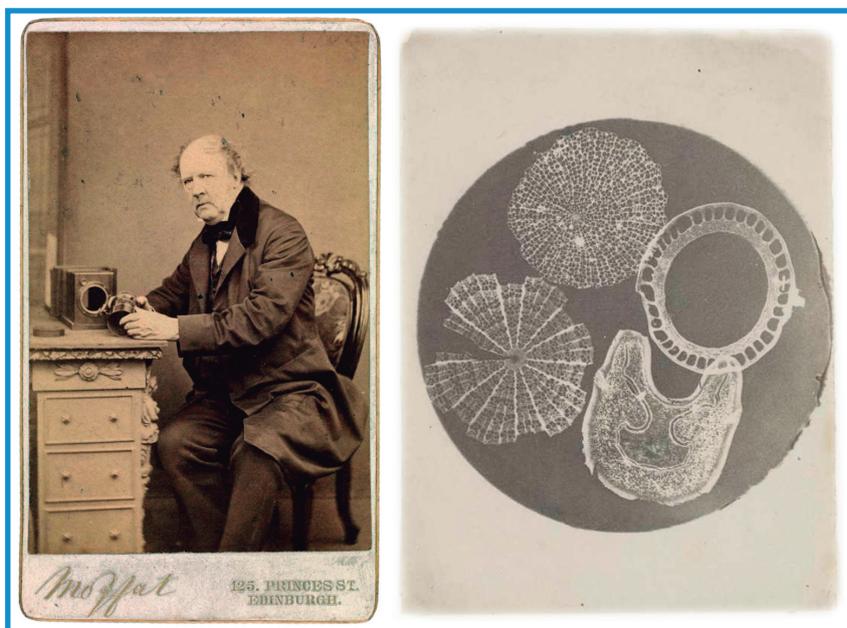
Son las bacterias, los protozoos, las algas microscópicas, a las que se unen algunos diminutos animales que, durante las etapas iniciales de su vida, comparten el micromundo con ellos. Ninguno de ellos pertenece «como alguien dijo en algún momento», a la «jet set» de la naturaleza, y por eso no aparecen en las portadas de las revistas y magazines generalistas. Pero, como sucede habitualmente, son ellos los que mantienen el sistema con su actividad, con su trabajo. Son los componen-

tes de lo que se podría denominar «clase obrera» y, como tales, merecen todo nuestro reconocimiento y nuestra atención.

La observación de la vida microscópica resulta fascinante. Los colores, las formas e incluso las actividades de los seres microscópicos, han sorprendido a los observadores desde el mismo instante en el que los instrumentos ópticos permitieron profundizar en los mundos invisibles, ir un poco (o un mucho) más allá del ojo humano.

Y esa fascinación de los primeros observadores ante la belleza de lo extremadamente pequeño, su asombro ante el nuevo e inexplorado mundo que sus ojos desvelaban, hizo que naciera en ellos la irresistible necesidad de mostrarlo, de contarlo, de explicárselo a los demás.

La narración, oral o escrita, abre la puerta a la imaginación, a la suposición, a que el oyente o lector atribuya los hechos narrados a la fantasía del narrador, o a que incorpore sus propias fantasías al relato. Evidentemente, no era ese el deseo de los primeros «contadores» del mundo de los microbios. Ni fantaseaban (la mayoría de ellos pretendían ser rigurosos científicos) ni querían que los receptores de su mensaje lo desvirtuasen con su propia imaginación. Así que fue necesario emplear otros medios, otras técnicas, para contarlo, y el dibujo (arte para el que muchos de ellos estaban especialmente dotados) fue la primera técnica empleada.



William Henry Fox Talbot fotografiado en su estudio (izqda.) y microfotografía pionera de diatomeas por realizada por Talbot, c 1840 (dcha). The National Media Museum, Bradford.



Una colonia creciendo sobre agar se asemeja al iris de un ojo humano.

Surgieron entonces auténticas obras maestras, entre las que destaca «Micrographia», publicada por el científico inglés Robert Hooke (1635–1703) en 1665. Con tan solo 57 ilustraciones y observaciones realizadas a través del microscopio, y otras tres realizadas mediante telescopio, la obra de Robert Hooke se convirtió en el primer «best-seller» de carácter científico y logró despertar un enorme interés por la microscopía fuera del ámbito puramente académico. Sin embargo, igual que sucedía con los «Bestiarios» medievales, también el dibujo podía representar más la fantasía del observador que la realidad de lo observado. Solo el prestigio del observador, prestigio que poseía Hooke, hacía creíbles sus descripciones ante las escépticas opiniones iniciales de los académicos contemporáneos.

Fue precisamente el prestigio de Hook el que le permitió defender, ante la Royal Society, las extraordinarias contribuciones de Anthony van Leeuwenhoek (1632–1723), puestas en duda por los académicos debido a su carencia de formación científica.

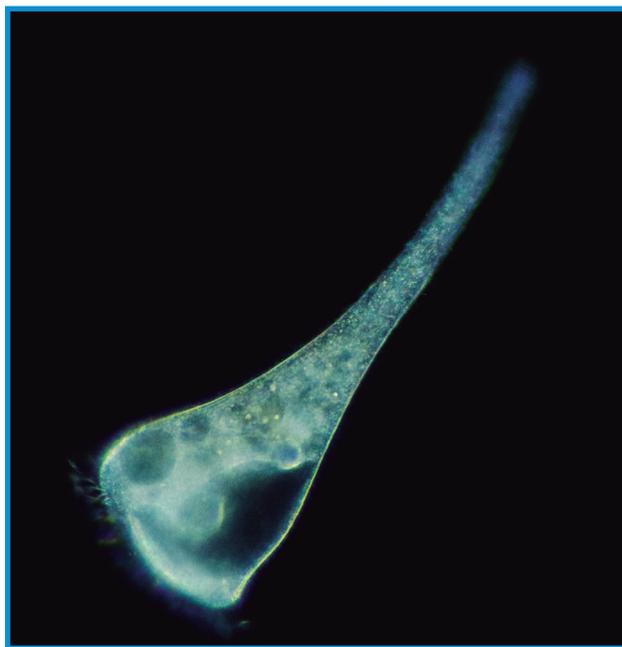
A principios del siglo XIX tuvo lugar un acontecimiento de extraordinaria importancia: el científico francés Nicéphore Niepce (1765–1833) obtuvo las primeras imágenes foto-

gráficas. Y no hizo falta esperar mucho tiempo hasta que la microscopía y la fotografía se encontraran. Parece ser que fue el inventor y político (entre otras muchas cosas) inglés William Fox Talbot (1800–1877) el primero que logró fijar fotográficamente en 1834 una imagen obtenida a través de un microscopio. Y a ese primer logro siguieron otros muchos. Cada uno de ellos con mejoras en el proceso y, evidentemente, también en el resultado.

Las posibles dudas sobre la veracidad de las observaciones, sobre la fantasía del observador, quedaban disipadas. La cámara fotográfica no hacía otra cosa que captar la imagen procedente del microscopio, la imagen de lo observado. Y el observador podía mostrar sus descubrimientos de forma directa. Las interpretaciones, siempre posibles e incluso necesarias, vendrían después. Como ya dejó escrito Leonardo da Vinci (1452–1519), «...el ojo, como señor de los sentidos, cumple con su deber impidiendo las disputas confusas y engañosas, que nada tienen que ver con la ciencia...»

Han transcurrido ya casi doscientos años desde que se tomaron aquellas primeras fotomicrografías, y aunque la esencia es exactamente la misma, capturar la imagen que nos ofrece el microscopio, los avances tecnológicos nos permiten actualmente alcanzar niveles extraordinarios de precisión.

La incorporación del color a la fotografía, la mejora de los procesos de fabricación de las lentes de los microscopios, la introducción de nuevos y sofisticados sistemas de iluminación o el desarrollo de la fotografía digital, son avances técnicos que han permitido que la fotomicrografía nos permita actualmente obtener unas imágenes maravillosas de un mundo que, sin embargo, continúa siendo un gran desconocido. Unas imágenes que no sirven solo para



Una vorticela en microscopía de campo oscuro.

sorprendernos, para fascinarnos, ante el mundo microbiano, sino también para estudiarlo.

La fotografía y el vídeo realizados a través del microscopio se han convertido, desde hace ya mucho tiempo, en herramientas imprescindibles para el estudio y, sobre todo, para la comprensión del mundo microscópico. La microbiología o la protistología (por citar únicamente dos ámbitos de estudio) serían muy diferentes si la fotomicrografía o el vídeo no hubieran venido en su ayuda. Seguirían siendo, en la mayoría de los casos «ciencias ciegas» basadas en la observación de efectos más que de causas. Se conocería el resultado de la acción de los microbios, como se conocía ya hace mucho tiempo, pero no se conocería a los microbios.

Las técnicas actuales, tanto de imagen fija como de imagen en movimiento, nos permiten incrementar enormemente nuestros conocimientos sobre los microbios. Y no solo sobre sus formas, sus colores o su estructura, sino también sobre sus funciones y su comportamiento. Observar a un *Didinium* engullendo a un *Paramecium*, a un *Stentor* contrayéndose, o a un *Euplotes* dividiéndose (eso va para los protistólogos), es maravilloso. Sin embargo, cuando lo observamos en «tiempo real», con los ojos puestos en los oculares del microscopio, se nos escapan muchos detalles. Poder captar y almacenar esas imágenes nos brinda la posibilidad de estudiarlas con mayor detenimiento. Podemos

reducir la velocidad a la que tienen lugar para observar movimientos imperceptibles a velocidad normal, o podemos ampliar partes de la imagen para estudiarlas con más detalle, y eso nos permite hacernos una idea más completa de qué es lo que sucede y, sobre todo, de cómo sucede.

Algo similar ocurre cuando observamos a microbios más pequeños, las bacterias. Las técnicas actuales de captación de imagen nos permiten llevar a cabo, con relativa facilidad, observaciones que resultarían muy difíciles sin su ayuda. La fotografía a intervalos (*time-lapse*) nos permite «acelerar» procesos. Nos permite, por ejemplo (y esto va para los microbiólogos) observar los cambios de posición de células individuales de *Bacillus subtilis* en el borde de una colonia en respuesta a determinados estímulos del medio. O maravillarnos con el movimiento de las cianobacterias filamentosas que forman la parte superior de los tapetes microbianos. Ver cómo los filamentos de *Microcoleus* entran o salen de sus vainas, cómo los filamentos de *Phormium* recorren la superficie del tapete como trenes verdes de muchos vagones, o cómo giran algunas estructuras de cada una de las células individuales de estos filamentos para generar el movimiento de avance o retroceso.

Las imágenes se convierten, en estos casos, en algo más que simples representaciones de la realidad. Se convierten en herramientas de investigación, en medios con los que ampliar el conocimiento, corroborar hipótesis o refutar teorías previamente aceptadas. Se transforman en medios con los que crear nuevo conocimiento.

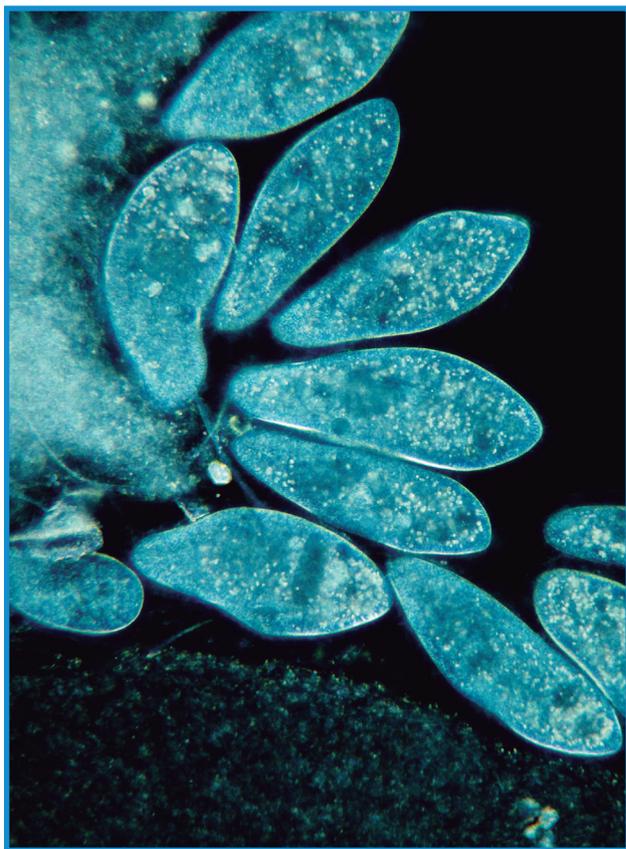
Estas imágenes tienen, además, un interés añadido: el de servir como elemento fundamental en la comunicación del conocimiento.

De poco vale el conocimiento si no se comunica, si no se pone a disposición de los demás. Y su valor se incrementa cuando esa comunicación no es restringida, es decir, cuando no se circunscribe a los entornos científicos o académicos. Al abandonar el ámbito académico es cuando la comunicación se convierte en divulgación. Y es únicamente entonces cuando la sociedad (por desgracia, generalmente a científica) tiene la posibilidad de incrementar su conocimiento, de comprender mejor el funcionamiento de los procesos naturales en los que todos estamos inmersos.

Aunque seguramente se podría matizar, el refrán castellano «una imagen vale más que mil palabras» tiene, en el ámbito de la divulgación, una innegable validez.

Sobre todo en una sociedad como la actual, eminentemente visual, dotada de pantallas de todo tipo (cines, televisores, monitores de ordenador, tabletas, iPads, etc.) y en la que incluso los medios de comunicación escrita más antiguos, los periódicos y las revistas, se han transformado, en muchos casos, en simples soportes de papel para imágenes y fotografías a todo color.

La divulgación actual de la ciencia necesita el apoyo de la imagen, y lo mismo sucede con la comunicación de la ciencia. Basta echar un vistazo a revistas como *Science*, *Nature*, o incluso a nuestra conocida y querida *International Microbiology* para darse cuenta de la importancia que está adquiriendo la imagen. Y no hay revista de divulgación científica (dejando al margen su rigor o su interés) que no se apoye en la imagen.



Una colonia de protozoos.

Por supuesto, no es preciso mencionar la importancia de la imagen en la divulgación científica que se realiza a través de medios de comunicación como son la televisión o Internet.

En el caso de la divulgación científica de temas relacionados con los microbios (microbiología, protistología, etc.) la imagen es, si cabe, más importante que en el resto de las ciencias naturales. Estamos intentando divulgar conocimientos sobre unos organismos diminutos («bichos» para la mayoría de la gente) a los que resulta prácticamente imposible ver a simple vista, y creer en su existencia es, para la mayoría de la gente, casi una cuestión de fe. Resulta relativamente sencillo explicar nuevos conocimientos sobre, por ejemplo, el comportamiento del gato. Nada más citar su nombre la mayoría de las personas se habrán creado una imagen del animal del que estamos hablando puesto que lo conocen, lo han visto (y en muchos casos incluso han interactuado con él). Pero ¿qué imagen se puede hacer la

mayor parte de la gente de un *Euplotes*, de una *Vorticella*, de un *Titanospirillum*, de una *Beggiatoa* o de un *Microcoleus*? La respuesta es ninguna. Son organismos a los que no conocen, organismos que nunca han visto, organismos con los que no mantienen ninguna relación (consciente).

Solo mediante la utilización de la imagen es posible cambiar esa situación, hacer que los microbios abandonen ese recóndito lugar que ocupan en el imaginario popular, que se conozcan por ellos mismos y no solo por sus efectos, considerados negativos en la mayoría de los casos.

Retomando las palabras escritas por el gran «imagnador» renacentista de Vinci, «...es con la vista como se percibe la belleza de las cosas creadas...», porque el ojo, «...que llaman ventana del alma, es la vía principal por donde el centro de los sentidos o común sentido puede contemplar más ampliamente las infinitas y magníficas obras de la naturaleza.»

Eutrofización del Lago de Sanabria

Víctor J. Cid

SEM@foro

El pasado 27 de octubre se presentó en el madrileño Museo Nacional de Ciencias Naturales el libro «**Lago de Sanabria 2015: Presente y Futuro de un Ecosistema en Desequilibrio**», firmado por **Antonio Guillén**. Bajo un excelente diseño, la publicación describe el estudio de la vida microscópica de este lago emblemático de nuestra geografía. Los estudios documentan el obvio deterioro de un ecosistema acuático único, probablemente a causa de una gestión negligente de las depuradoras que vierten a sus cauces. Sin embargo, el libro no se limita a la mera denuncia de una catástrofe ecológica, sino que se centra en una labor extensa de documentación científica de especies nuevas y las oscilaciones de poblaciones de diatomeas, zoo- y fitoplancton, basadas sobre todo en estudios de microscopía. Desde el grupo D+D SEM apoyamos la meritoria labor científica y divulgativa de este docente excepcional, galardonado con varios premios a la innovación docente nacionales e internacionales que realiza este trabajo de forma vocacional con un rigor y una meticulosidad nada corrientes fuera del ámbito universitario o del CSIC. Un ejemplo a seguir, tanto por sus motivados estudiantes en el IES «Batalla del Clavijo» en Logroño, como por los académicos e investigadores profesionales de toda España.



XXV Congreso Nacional de Microbiología

7-10 julio 2015, Logroño

Elena González-Fandos

Presidenta del Comité Organizador



De izquierda a derecha: Antonio Ventosa Ucero, José Luis López de Silanes, José Arnáez Vadillo, César Nombela y Elena González Fandos.

El XXV Congreso Nacional de Microbiología se celebró del 7 al 10 de julio de 2015 en la Universidad de La Rioja. Al Congreso asistieron más de 350 microbiólogos procedentes de universidades y centros de investigación tanto españoles como extranjeros. Se contó con la participación de investigadores de Estados Unidos, Reino Unido, Alemania, México y Venezuela.

La celebración de la XXV edición del Congreso de nuestra sociedad ha contado con una programación especial y la participación de excelentes ponentes. La inauguración oficial del Congreso fue presidida por José Arnáez Vadillo, Rector de la Universidad de La Rioja, acompañado por José Luis López de Silanes, Presidente del Consejo Social de la Universidad de La Rioja, Antonio Ventosa Ucero, Presidente de la Sociedad Española de Microbiología y Elena González Fandos, Presidenta del Comité Organizador del XXV Congreso.

La conferencia inaugural, homenaje a nuestra sociedad, fue impartida por el profesor César Nombela «La consolidación de la Microbiología Española en un contexto de apasionantes avances científicos». La conferencia invitada fue impartida por la profesora Sandra McLellan con el título «Metagenómica y microorganismos: presente y futuro».

El Congreso se estructuró en doce simposios, tres workshops, diez sesiones de comunicaciones orales, cuatro sesiones de póster y una conferencia de clausura. Los temas abordados en los simposios y conferencias programados fueron elegidos en base a criterios de actualidad, relevancia científica y originalidad. Las ponencias fueron impartidas por autoridades científicas de reconocido prestigio nacional e internacional en el campo de la Microbiología y se centraron en los últimos avances en este campo. Así, durante el Congreso se abordaron los siguientes temas: la patogenia microbiana desde el punto de vista molecular; las nuevas



Algunos de los jóvenes investigadores becados para asistir al congreso junto a Juan Ayala, secretario de la SEM, Antonio Ventosa, presidente de la SEM y Elena González Fandos, organizadora del congreso.

metodologías aplicadas al biodeterioro, biodegradación y biorremediación; los hongos: modelo de estudio de procesos biológicos y biotecnológicos; el estrés ambiental y biotecnología en microorganismos fotosintéticos; el desarrollo de estrategias microbianas de interés biotecnológico y medioambiental; las bacterias beneficiosas en la agricultura sostenible; la utilidad de las tecnologías «ómicas»; los biofilms microbianos en la industria alimentaria; la microbiología del medio acuático y por último la actualización de la microbiología en el currículo del estudiante preuniversitario

En el XXV Congreso se incorporó un simposio conjunto de la SEM con la Sociedad Portuguesa de Microbiología (SPM) con el título «Interacción, comunicación y simbiosis en el mundo microbiano», así como un simposio conjunto con la Sociedad Española de Virología (SEV), abordando un tema de gran actualidad «Infecciones víricas emergentes».

A propuesta de los jóvenes investigadores de la sociedad se incluyó un workshop titulado «¿Cómo mejorar la escritura de tu artículo científico?» impartido por Ricardo Guerrero. Asimismo, se desarrollaron workshops sobre temas de gran interés como son la bioseguridad y la infraestructura de recursos microbianos «MIRRI».

En este Congreso se han presentado un total de 230 pósters y 66 comunicaciones orales seleccionadas por el Comité Científico. Durante las sesiones de comunicaciones orales y póster se ha propiciado la presentación de los últimos resultados obtenidos por los grupos de investigación en Microbiología. El Congreso ha servido de forum de encuentro para los microbiólogos, reuniendo a más de 350 congresistas. Hay que destacar el alto número de jóvenes investigadores que han participado en el congreso, desde aquí mi agradecimiento por vuestra asistencia y animaros a seguir participando en las actividades desarrolladas por nuestra sociedad. Al congreso han asistido un número elevado de alumnos de los Cursos de Iniciación a la Investigación, tanto de la edición

2014 como 2015. En esta edición del congreso de la SEM se han convocado por primera vez 15 ayudas para la asistencia al Congreso de jóvenes investigadores, dicha convocatoria ha tenido muy buena acogida, la SEM apuesta por la participación de los jóvenes investigadores, con esta iniciativa se evidencia dicho apoyo.

En las instalaciones de la Universidad de La Rioja se celebraron las asambleas de los grupos especializados y



A. Ventosa y E. González Fandos junto al cartel del Congreso.



Un momento de la entrega de premios a las mejores comunicaciones durante el acto de clausura.

la Asamblea de la SEM. Durante la Asamblea de la SEM se hizo un emotivo homenaje a Ricardo Guerrero, anterior presidente de la SEM.

El acto de clausura estuvo presidido por Mariola Urrea Corres, Secretaria General y Responsable de Relaciones Institucionales e Internacionales de la Universidad de La Rioja, acompañada por Antonio Ventosa Uceró, Presidente de la SEM, Rafael Giraldo Suárez, Vicepresidente de la SEM, Juan Alfonso Ayala Serrano, Secretario de la SEM y Elena González Fandos, Presidenta del Comité Organizador del XXV Congreso. En el acto de clausura se hizo entrega de premios a las mejores comunicaciones: tres premios a las mejores comunicaciones de la SEM, premios de los grupos especializados a la mejor comunicación del grupo y como novedad la ASM hizo entrega de un premio a la mejor comunicación seleccionada por votación por los asistentes al congreso. También se entregó el premio a la mejor fotografía Federico Uruburu. La conferencia de clausura fue impartida por Diego Romero Hinojosa, premio Jaime Ferrán 2015.

Los medios de comunicación han prestado especial atención a la celebración del Congreso, destacar que se han publicado en distintos periódicos noticias sobre el mismo, así como entrevistas a los ponentes. También la televisión local y la radio han dado difusión al congreso e incorporado entrevistas a ponentes y organización del Congreso. Todo ello se enmarca en el ámbito de difusión de la Microbiología, hemos puesto nuestro granito de arena en la difusión de nuestra sociedad científica. Otro dato de interés es el número de vistas que ha recibido la página web del Congreso: 12.867 visitas, contando con un total de 7.740 usuarios que han consultado información del congreso, procedentes de 96 países, destacan por número las visitas realizadas desde España, Estados Unidos, México, Colombia, Alemania, Reino Unido, Argentina, Perú y Chile.

Como no podía ser de otro modo en esta tierra que nos acoge con nombre y tradición de vino, se ha contado con un programa lúdico con visita y cena en bodega. Hemos intentado que el programa lúdico fuera atractivo dentro de las limitaciones económicas que nos encontramos actualmente, nos hubiera gustado ofrecer más, pero la austeridad no nos lo ha permitido. Espero que los asistentes hayan disfrutado de las actividades que han complementado el programa científico del congreso.

Finalizo agradeciendo sinceramente a todos los participantes por su contribución al éxito del XXV Congreso de nuestra sociedad. Deseo hacer mención expresa de agradecimiento al apoyo recibido por la Junta Directiva de nuestra sociedad especialmente a su Presidente Antonio Ventosa a y a todas aquellas personas, empresas e instituciones que han colaborado en el desarrollo de este Congreso y sin cuyo apoyo este evento no hubiera sido posible.



Entrega del Premio Jaime Ferrán 2015 a Diego Romero Hinojosa.

XIX Curso de iniciación a la investigación en microbiología

Una iniciativa de la SEM consolidada que apuesta por los futuros investigadores

Elena González-Fandos

Organizadora del XIX Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología Universidad de La Rioja



Clausura del curso.

La apuesta de la Sociedad Española de Microbiología (SEM) por el estímulo de la vocación científica entre los estudiantes universitarios interesados en la investigación en Microbiología ha continuado con la celebración del XIX Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología celebrado en la Universidad de La Rioja en Logroño los días 6 y 7 de julio de 2015. El curso ha contado con el patrocinio de la Fundación Ramón Areces y de la Universidad de La Rioja.

Los alumnos seleccionados disfrutaron de una beca que incluyó la inscripción al curso, así como el alojamiento y la manutención durante la celebración del mismo. Además, en esta edición los alumnos fueron invitados a asistir gratuitamente al XXV Congreso Nacional de Microbiología celebrado en Logroño del 7 al 10 de julio de 2015.

En esta edición se recibieron 36 solicitudes de alumnos procedentes de 15 universidades (Fig. 1), destacando por su número los solicitantes provenientes de la Universidad Complutense de Madrid (28%) y de la Universidad de La Rioja (15%).

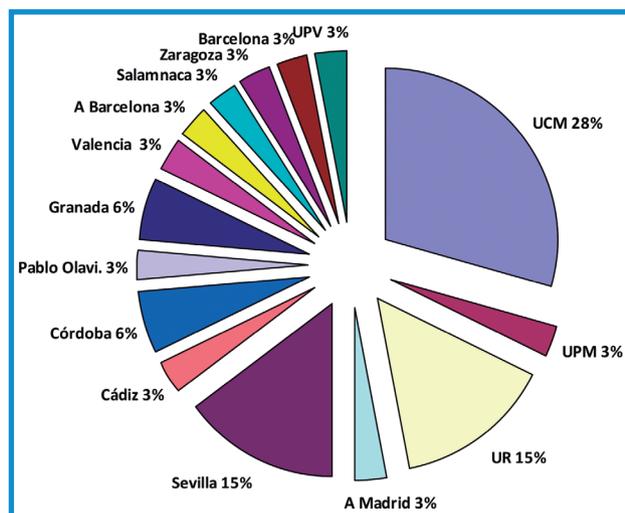


Figura 1. Distribución por Universidades, expresada en porcentaje, de las solicitudes de inscripción recibidas.

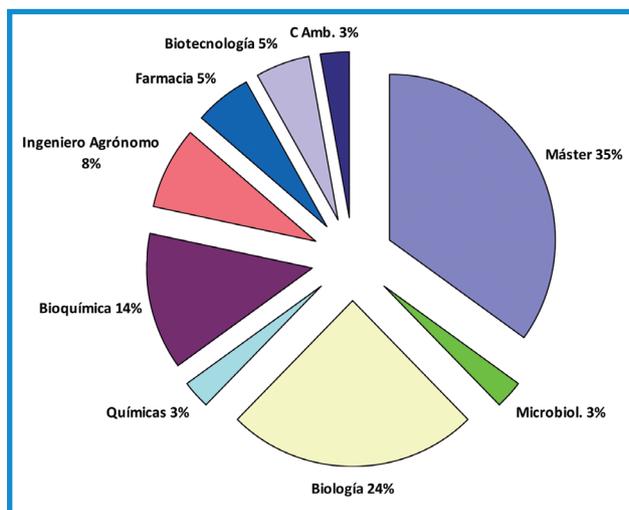


Figura 2. Distribución atendiendo a los estudios en curso, expresada en porcentaje, de las solicitudes de inscripción recibidas.

De entre las solicitudes admitidas, el 65% correspondieron a alumnos que cursaban el último año de Grado (Fig. 2), fundamentalmente de titulaciones de Biociencias (Biología, Bioquímica, Biotecnología o Microbiología). Esta situación es muy similar a la detectada en las dos ediciones anteriores (XVII y XVIII Curso Iniciación a la Investigación en

Microbiología organizados por la Dra. M. Llagostera, 2013 y la Dra. Inés Arana 2014, respectivamente).

Como en pasadas ediciones, se seleccionaron 20 alumnos atendiendo a su expediente y considerando, además, los méritos demostrados y la distribución geográfica. Al curso asistieron además 7 alumnos invitados que participaron en todas las actividades. Dentro de este último grupo, la mayoría pertenecían a la Universidad de La Rioja, ya que la mayor parte de los alumnos invitados sin subvención renunciaron expresamente o no respondieron a los correos enviados, con lo que, teniendo en cuenta el apoyo económico de la Universidad de La Rioja, se decidió completar la oferta de plazas con solicitantes formados en la Universidad organizadora.

Las clases del curso fueron impartidas por 8 profesores que pertenecen a los distintos grupos especializados de la SEM. A lo largo del curso se abordaron diferentes áreas de estudio de la Microbiología con el objetivo de dar una visión lo más amplia posible a los alumnos. A propuesta del Grupo de Jóvenes Investigadores de la SEM se incorporó una conferencia «Cómo afrontar una carrera investigadora» impartida por Avelino Álvarez Ordóñez, que presentó de forma amena y cercana las vicisitudes de los inicios de una carrera investigadora.

Además de las conferencias se realizaron dos visitas a bodegas, para acercar el mundo del vino desde un punto de vista microbiológico a los alumnos. Se optó por seleccionar una bodega tradicional, centenaria y una bodega moderna, con una alta actividad innovadora e implantación tecnológica. El contraste entre las dos bodegas visitadas despertó



Visita a la bodega López de Heredia.

el interés de los asistentes. Agradezco a las bodegas López de Heredia y Ramón Bilbao su disponibilidad para realizar la visita y enseñar sus instalaciones, así como por las detalladas explicaciones a todas las cuestiones planteadas por los asistentes. Estoy segura que todos guardamos un grato recuerdo de Haro y sus bodegas.

Al finalizar el curso, se solicitó a los alumnos que cumplimentarán la encuesta ya utilizada en las dos ediciones anteriores. En la encuesta se recababa información acerca de aspectos tales como organización, alojamiento, nivel de las ponencias, etc.; incluyendo un apartado para que los alumnos expresarán su opinión más libremente.

El grado de satisfacción del alumnado fue elevado. El 75% de los alumnos señalaron que recibieron información sobre el curso a través de sus profesores, por ello quiero agradecer a todos los profesores de la SEM la difusión activa del curso.

Entre los aspectos más valorados del curso cabe destacar la visita, la logística del curso y la relación con profesores y otros alumnos asistentes. Una de las sugerencias que ha sido indicada por los alumnos es la necesidad de impartir docencia práctica. No obstante, poner en marcha sesiones prácticas supone una dificultad debido al diferente nivel académico de los alumnos, además de incrementar los costes del curso de forma importante.

Una sugerencia de los alumnos que se puede incorporar en próximas ediciones en la inclusión de debates después de las ponencias, fomentando la participación de los alumnos. También interesante es incorporar al inicio del curso una pequeña presentación de los alumnos para favorecer su implicación en el curso.

Desde la organización quiero resaltar el entusiasmo de los alumnos, su alto grado de interés y participación. Quiero agradecer especialmente la participación de los profes-

res del curso por sus brillantes exposiciones e implicación con los alumnos.

AGRADECIMIENTOS:

- Sociedad Española de Microbiología.
- Fundación Ramón Areces.
- Escuela de máster y Doctorado Universidad de La Rioja.
- Facultad de Ciencias Universidad de La Rioja.
- Grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología de la SEM.
- Jóvenes Investigadores de la Sociedad Española de Microbiología.



Visita a la bodega López de Heredia.



Visita a la bodega Ramón Bilbao.

Antibióticos y resistencias: un reto recurrente

Cristina Bernabé Balas y Bruno González-Zorn

Universidad Complutense de Madrid

Durante los días 8, 9 y 10 de septiembre tuvo lugar el encuentro «Antibióticos y resistencias: un reto recurrente», organizado por la Cátedra Extraordinaria de Salud, Crecimiento y Sostenibilidad de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo (UIMP) en colaboración con la empresa farmacéutica MSD, dentro de la agenda de los Cursos de Verano que oferta la UIMP. El responsable del encuentro fue el rector de la UIMP, César Nombela. Celebrado en el acogedor enclave de la península de la Magdalena en Santander, el encuentro tuvo una gran acogida, con más de 250 asistentes provenientes de distintos campos relacionados con la microbiología y los antibióticos. El curso fue organizado por Emilio Bouza (Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid), Rafael Cantón (Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, IRYCIS, Madrid) y Bruno González-Zorn (Facultad de Veterinaria y Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVET, Universidad Complutense, Madrid), y contó con casi 30 ponentes de diversas nacionalidades.

A lo largo de las tres jornadas se debatió sobre el grave problema del aumento de la resistencia a antibióticos abordándolo desde una perspectiva global, One World, One Health. El encuentro comenzó con una evaluación detallada del origen de estas resistencias y los mecanismos implicados en su transmisión y su dispersión tanto en los centros de salud como en el resto de la población, los animales

y el medio ambiente. Varias ponencias versaron sobre la grave escasez de nuevos antimicrobianos disponibles en el mercado, y del importante papel que tienen los hospitales en cuanto al uso correcto de los antibióticos disponibles para preservar su eficacia, especialmente antibióticos de última generación necesarios para el tratamiento de bacterias resistentes a antibióticos convencionales. Por otro lado, se evaluó el coste económico de las resistencias bacterianas, mostrando un aumento alarmante del gasto hospitalario en los últimos años, así como un aumento de la mortalidad en infecciones bacterianas debido a la diseminación de clones multirresistentes. El encuentro también contó con la presencia de Belén Crespo, directora de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, que expuso las principales actividades y líneas estratégicas del Plan Nacional de Resistencia a Antibióticos (PRAM), creado en junio de 2014, y que centra sus acciones en la vigilancia y control de la utilización de antibióticos, así como en la investigación para encontrar alternativas a los mismos.

Es importante señalar la gran acogida que tuvo el encuentro entre los jóvenes estudiantes e investigadores, muchos de los cuales consiguieron una de las 27 becas completas o parciales que ofrecían la universidad y MSD.

En conjunto, gracias a la buena organización y a la gran acogida que tuvo, el encuentro fue un éxito, y esperamos poder repetirlo en futuras convocatorias.



Asistentes al curso de antibióticos y resistencias.

Libros de ciencia y ciencia en los libros

Una breve historia de la *Biología de los microorganismos*, de Thomas D. Brock

Ricardo Guerrero¹ y Michael T. Madigan²

¹Universidad de Barcelona. ²Southern Illinois University, Carbondale



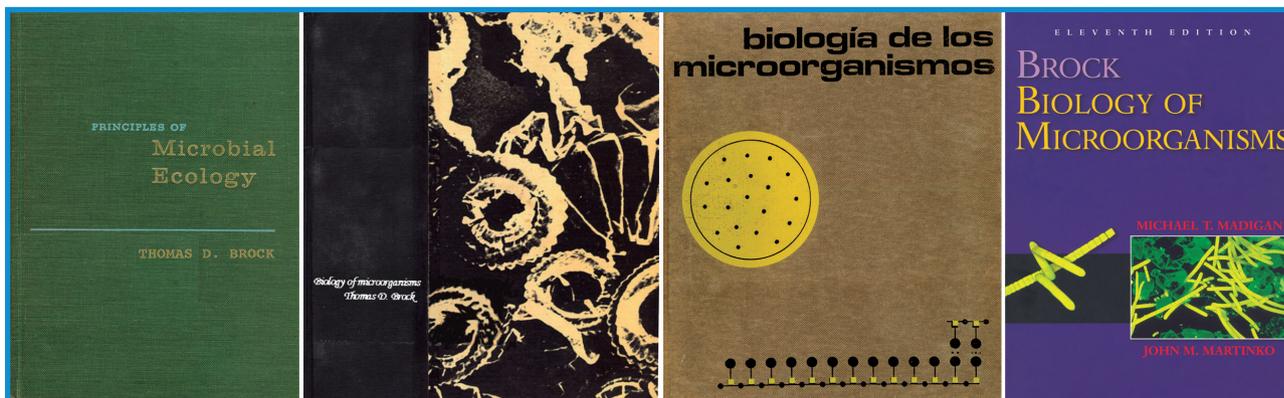
Durante el 21 Congreso de la SEM, celebrado en Sevilla del 17 al 20 de septiembre de 2007, se rindió un merecido homenaje a los tres científicos españoles que en los años 60 del pasado siglo tradujeron la segunda edición del libro *The Microbial World*. El manual de R.Y. Stanier, M. Doudoroff y E.A. Adelberg (Prentice-Hall, 1963) cambió la enseñanza de la microbiología en todo el mundo, y su traducción al español (Ed. Aguilar, 1965) influyó de manera definitiva en la vocación profesional de muchos estudiantes españoles que en aquella época cursaban sus carreras en la universidad. En la foto, de izquierda a derecha, Antonio Ventosa (presidente del 21 Congreso), Ricardo Guerrero (presidente de la SEM), Manuel Losada, Isabel García Acha y Julio R. Villanueva.

EL «BROCK» EN ESPAÑOL

El siglo xx, tan cercano, ha sido pródigo en avances en todos los campos del conocimiento, a la vez que en desarrollos tecnológicos que solamente algunos «visionarios» se atrevieron a imaginar o transgredir. Los transgresores son tildados las más de las veces de ingenuos, cuando no directamente de ilusos. Tratar de escribir un nuevo libro de texto en una materia tan estudiada como la microbiología implica un poco de todo esto. Y la ingenuidad va lastrada por el enorme esfuerzo que supone culminar esa ilusión (que no solamente

experimentan los ilusos). Mas si se decide seguir adelante con la idea, ayudado eso sí por un buen equipo de colaboradores y una empresa editorial a la vez potente y comprensiva (que son cualidades frecuentemente antinómicas), al final el resultado suele enfrentarse con una realidad en ciencia: cuando se publica, ya ha quedado anticuado.

El estudio de los microorganismos es esencial para entender la vida, y tenemos la suerte de beneficiarnos en esta tarea de las aportaciones y descubrimientos de



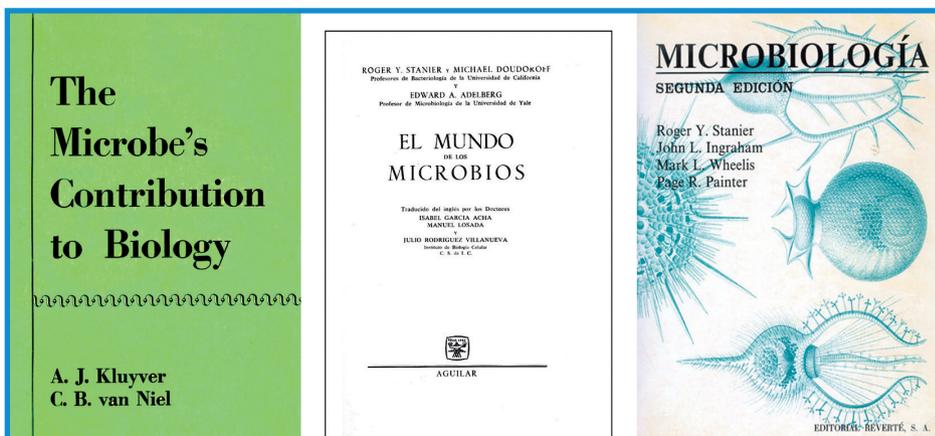
Portadas de los siguientes libros de T.D. Brock (de izq. a derecha): El libro pionero de la ecología microbiana, *Principles of Microbial Ecology*, que publicó Brock en 1966 (Prentice-Hall). Portada de la primera edición original (Prentice-Hall, 1970). Portada de la primera edición en español (Ed. Omega, 1972). Portada de la 11ª edición en inglés. (Prentice-Hall, 2015).

quienes han trabajado con ellos y sobre ellos. Los libros de texto, entre otros medios, han puesto a nuestra disposición todo ese saber. Y ahora uno de esos libros, que ha ido renovándose y actualizándose a través de las sucesivas ediciones, viene a seguir cumpliendo su misión de adentrarnos, a estudiantes y profesores de lengua española, en el mundo de los microorganismos. Se trata de la traducción de la 14ª edición del manual *Brock. Biología de los microorganismos*, una herramienta indispensable en la enseñanza de los futuros microbiólogos y biólogos en cualquiera de sus especialidades. En la traducción han colaborado profesionales de ocho universidades españolas, bajo la dirección de uno de nosotros (RG). En la preparación de la obra original han colaborado cuatro expertos en las diferentes materias, profesionales de la docencia y la investigación en diversas universidades norteamericanas, bajo la dirección de uno de nosotros (MM), quien recibió de Thomas D. Brock el testigo para encargarse de la continuidad del manual, sin pensar, quizá, que se harían tantas las ediciones. Debemos aclarar al lector que es un poco osado llamar «manual» a un libro de más de 1.000 páginas y 2.350 g de peso (;con tapa blanda!),

pero ese es el nombre que reciben, tanto en inglés como en español, las obras de este tipo.

El texto es igualmente útil, como lo ha sido siempre, para los profesores, gracias a la actualización de sus contenidos y a la cuidada presentación que constituye toda una demostración de didáctica. Tenemos en las manos un manual que ya va para los 50 años desde que se publicó la primera edición original en Estados Unidos en 1970. Dos años después, salió en español y fue la primera lengua a la que se tradujo el original norteamericano, a la que siguieron otros muchos idiomas. Me cabe el orgullo y la satisfacción de haber traducido esa primera edición, recién acabada mi tesis doctoral, y de haber dirigido la traducción de las ediciones 10, 12 y esta 14 que ahora se presenta.

Como profesor de microbiología (RG), primero de la universidad de Barcelona (UB), después en la Autónoma de Barcelona y nuevamente en la UB y también en la de Massachusetts, en Amherst, he podido vislumbrar ese destello de luz en los estudiantes cuando con vocación y preparación son introducidos en el mundo de los microbios. Esto es algo general a todas las materias, pero aquí hablo de la que conozco y me compete. Y puedo sentirme orgulloso de haber



Portadas de los libros que cambiaron la enseñanza de la microbiología básica en el mundo (de izq. a derecha): El libro pionero de A. J. Kluyver y C. B. van Niel, *The Microbe's Contribution to Biology* (Prentice-Hall, 1956). Portada interior de la primera edición en español del tratado de Stanier (Ed. Aguilar, 1965), traducción por M. Losada, J. R. Villanueva e I. García Acha de la segunda en inglés. Portada de la tercera edición en español (Ed. Reverté, 1984), en la que uno de nosotros (RG) diseñó una cubierta basada en grabados del libro *Kunstformen der Natur*, de E. Haeckel (1904).

dedicado mi vida profesional a la investigación y a la enseñanza, con rigor, entusiasmo y respeto, sentimientos que creo haber transmitido a varias generaciones de estudiantes. Muchos de ellos han ocupado lugares relevantes en la ciencia en nuestro país y, a su vez, han transmitido con eficiencia y vocación lo que ellos recibieron y apreciaron.

Traducir cualquier obra, ya sea científica, técnica o literaria, tiene una enorme complejidad cuando se quiere obtener un buen resultado. Es imprescindible el conocimiento de la materia y el de las dos lenguas. Esto puede parecer una perogrullada, pero es que además hace falta interés real y curiosidad permanente hacia esos tres elementos. Se requiere esfuerzo para elegir el término adecuado y comprensible, cuidar la sintaxis y el estilo de la lengua a la que vertemos el texto. Por otra parte, es preciso respetar la obra original, lo cual no implica traducir literalmente, pero hay que evitar la tentación de que el traductor se convierta en autor en aquello que cree que puede cambiar. Todo esto no quiere decir que la obra que se presenta —en nuestro caso la 14ª edición del libro— sea perfecta. Pocas cosas en este mundo imperfecto lo son, y se habrán cometido errores que nos gustaría subsanar con la ayuda de los lectores.

A partir de la 8ª edición de *Biology of microorganisms*, se incorporó el nombre de Brock al título del libro, en homenaje a su autor original, el Prof. Thomas D. Brock que tantísimas e importantes aportaciones ha realizado a la microbiología, especialmente en el campo de la ecología microbiana. Tuve (RG) ocasión de conocerlo, epistolariamente, cuando hacía la traducción y le escribí con sugerencias y observaciones —y, por qué no decirlo, con alguna corrección de errores, «*nobody is perfect*»—, que siempre fueron muy bien acogidas. Después, ya lo conocí en persona, y me siguió causando una grata impresión. Posteriormente, alguno de mis estudiantes barceloneses más destacados fueron a hacer la tesis con él. La «partida de bautismo» de la ecología microbiana puede establecerse a partir de su libro *Principles of Microbial Ecology*, publicado en 1966. Fue el primer libro de texto centrado en esta disciplina y, en la introducción, Brock ya indicaba que «*microbial ecology embraces both approaches to ecology. Because microbes are so closely coupled to their environments, the habitat must always be taken into account*». Estas dos aproximaciones a las que se refiere el autor son la que se centran específicamente en el hábitat y en las transformaciones debidas a los microorganismos.

En su artículo *Life at high temperatures*, publicado en Science en 1967, Brock da cuenta del inicio de lo que él mismo llamaría «el camino a Yellowstone» (*Road to Yellowstone*). Ese trabajo daría lugar al establecimiento de la ecología microbiana como disciplina que, mercedamente, llegaría a ser considerada esencial en el estudio de las interacciones entre microorganismos, y de estos con el medio. Su aportación a la biotecnología fue también crucial, obteniendo una polimerasa, la *Taq*, a partir del aislamiento y caracterización de *Thermus aquaticus*. Cuando hubo una polémica sobre la «propiedad» de esa enzima, en 1993, los alumnos de mi clase de la UB le escribieron una carta de apoyo —entonces, aunque pueda sorprender a los socios

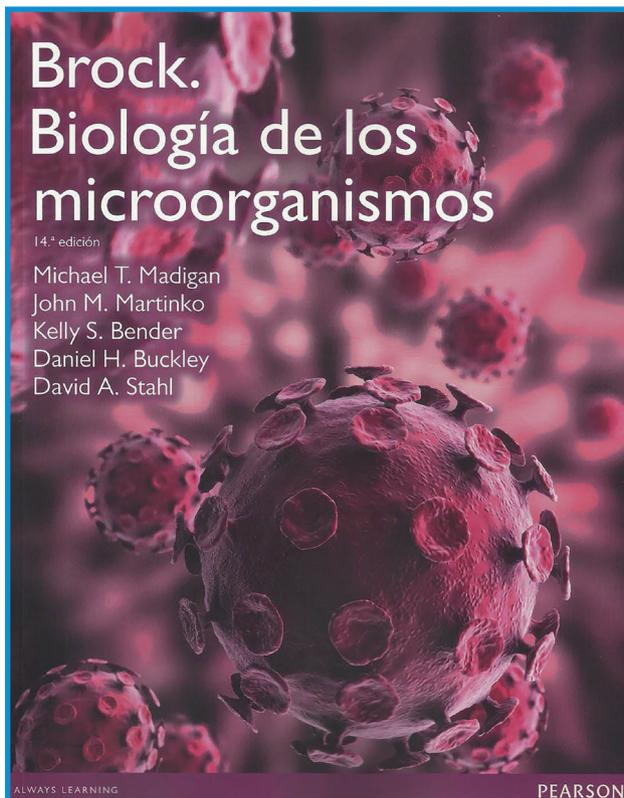
de la SEM más jóvenes, no existía el correo electrónico—. Brock contestó inmediatamente con otra carta detallada, dirigida a todos los alumnos de la asignatura.

Es evidente que la microbiología actual debe mucho a este científico, que supo despertar y atraer vocaciones con sus enseñanzas, su manera de trabajar, rodeándose de personas capacitadas y entregadas para quienes la ciencia representaba mucho más que una profesión. Sus colaboradores obtuvieron no solo conocimiento sino la oportunidad de participar en sus logros, de proponer ideas que Brock, como todo buen maestro aceptaba y reconocía, compartiendo con sus discípulos y colegas el fruto de un trabajo en común. En ciencia difícilmente los logros son de un único individuo; cada uno con el trabajo bien hecho, aporta los materiales para ir elevando el edificio sobre cimientos sólidos que anteriores curiosos impenitentes fueron consolidando, muchas veces sin percatarse de la importancia que tendrían sus hallazgos.

Los microorganismos tienen mala fama, pero solamente para quienes desconocen su papel fundamental en el origen, conservación y evolución de la vida. Por ello es necesario dar a conocer a los no expertos que, a pesar de haber sido y seguir siendo una amenaza para la vida tanto humana como en sus otras formas, es mucho más lo que hay que saber de ellos. Tenemos que aprender, tenemos que saber que la evolución nos ha llevado a coexistir con los microorganismos. Las interacciones más frecuentes y abundantes no son las patógenas, sino las simbióticas, aquellas que producen un beneficio mutuo, por lo cual es necesario considerar la importancia de la cooperación biológica en el mantenimiento de la vida y de las condiciones necesarias para su desarrollo. Nosotros dependemos de las actividades del mundo microbiano. Su minúsculo tamaño, y su invisibilidad a nuestros ojos no tiene que hacernos olvidar la tremenda importancia tienen en el mantenimiento de la vida. Como profesores, como alumnos, todos los que estudiamos microbiología tenemos la suerte de contemplar los avances de una de las ciencias biológicas más destacadas del siglo XXI, tal como nos recuerda esta magnífica nueva edición de Brock, *Biología de los microorganismos*, un libro ya clásico que ha contribuido en gran manera a dar a conocer esos avances.

En los microorganismos concurren dos factores importantes: (1) una diversidad fisiológica y metabólica muy elevada, y (2) una actividad específica también muy alta. La combinación de ambos factores hace que su papel en la mayor parte de los procesos de flujo de energía y de reciclado de nutrientes dentro de cada ecosistema, sea fundamental.

Cada una de las nuevas ediciones del libro ha supuesto un afianzamiento de los fundamentos sobre los que se sostiene el conocimiento, unas veces añadiendo, otras, cambiando y también apuntalando. Así pues, la actualización en todos los aspectos tratados ha sido una constante y un estímulo en la preparación de las sucesivas ediciones. En todos los autores que han intervenido desde la primera aparición hay que destacar la solidez de una formación investigadora, y una gran capacidad didáctica. En la enseñanza de la disciplina objeto del manual está la voluntad



Portada de la traducción al español de la 14ª edición (Ed. Pearson, 2015).

de traer vocaciones hacia la ciencia y demostrar que no hay materias de dificultad insuperable con una explicación comprensible del funcionamiento de los fenómenos. Y algo muy importante, despertar más el deseo de averiguar por uno mismo, de ir más allá, a partir de las lecciones aprendidas. Para la enseñanza y para el aprendizaje la presente edición ofrece simplificación, actualización, deferencia hacia la historia de la microbiología e ilusión por el futuro. Son muchos los estudiantes y profesores en todo el mundo quienes, a lo largo de tres generaciones, han confiado en la fidelidad, consistencia y actualización de la ciencia en esta obra para introducirse en los principios básicos de la microbiología, e interesarse por su futuro.

Esta nueva edición pone el acento en la investigación de vanguardia y en una perspectiva integradora en la microbiología molecular moderna. Además de su puesta al día, esta 14ª edición ha sido reorganizada para guiar al estudiante a través de los considerados seis temas principales de la microbiología de nuestro siglo. Estos temas son (1) Evolución, (2) Estructura y función celular, (3) Vías metabólicas, (4) Flujo de información y Genética, (5) Sistemas microbianos, (6) Impacto de los microorganismos. El resultado es un tratamiento completo, y sobre todo moderno, de la microbiología.

En la presente edición en español ha participado un grupo de personas que han disfrutado y aprendido en la

traducción de sus 32 capítulos, y del resto de secciones como índices, glosario, apéndices. También han sufrido en la tarea de verter a nuestro idioma lo más exactamente posible el texto original, con los cambios necesarios en el lenguaje y en el estilo, en aras de la comprensión y manteniendo el espíritu didáctico que conforma toda la obra. Todos los participantes microbiólogos se han formado con dos textos imprescindibles de esta ciencia, *The microbial world*, de Roger Y. Stanier, y *Biology of Microorganisms*, hoy *Brock Biology of Microorganisms*. Todos han sido traducidos a nuestra lengua, permitiendo a estudiantes y profesores del mundo de habla hispana adentrarse en la belleza de una ciencia que trata de unos seres que nos precedieron en millones de años, que llevamos con nosotros, y nos rodean por todas partes. Y que permanecerán cuando nosotros no seamos ni recuerdo.

La obra pionera de Roger Y. Stanier, *The Microbial World*, publicada en 1957, marcó una nueva época en el conocimiento e interpretación de la microbiología en las universidades de todo el mundo. La temprana traducción al español de su segunda edición, *El mundo de los microbios*, por los jóvenes profesores Julio R. Villanueva, Isabel García Acha y Manuel Losada, en la década de los sesenta, fue fuente de inspiración y vocación para muchos jóvenes estudiantes en España, entre ellos, RG. Y la obra de Stanier también fue modelo, acicate, e incluso reto, porque parecía difícil de superar, para que Brock escribiera la primera edición de *Biology of Microorganisms*. Un texto, inspiración del actual, que ha mantenido a lo largo de décadas, y a través de catorce ediciones (!), su calidad, actualización y visión panóptica de lo que es y significa el inmenso mundo y biología de los microorganismos.

Aunque los estudiantes y la mayor parte de los profesores de microbiología ya están acostumbrados, debemos señalar que tanto el nombre del manual de Stanier et al. (*The Microbial World*) como el de Brock (*Biology of Microorganisms*), fueron «atípicos» y supusieron una ruptura con los nombres de los libros de texto anteriores de microbiología; y también los de muchas otras asignaturas. Lo «típico» era titularse *Microbiology*, a veces con algún epíteto descriptivo adicional. Romper con esa tradición profundamente académica presentaba, ya desde la portada, una declaración de intenciones: lo que seguía no era un libro de texto al uso, sino que iban a adentrarnos en un mundo nuevo, para observar «la vida y milagros» de los habitantes más antiguos del Planeta.

TRABAJO EN EQUIPO CON TOM BROCK Y «BIOLOGY OF MICROORGANISMS»

La primera edición de *Biology of Microorganisms* (BOM; actualmente *Brock Biología de los Microorganismos*, BBOM) apareció en 1970 con Thomas Brock, entonces profesor en la Universidad de Indiana-Bloomington, como único autor. Aunque ya retirado, Tom es un notabilísimo escritor dotado de una extraordinaria percepción de las numerosas facetas de la microbiología, capaz de describir conceptos complejos en un lenguaje comprensible.

BOM compitió mano a mano con el texto clásico de la época, *The Microbial World*, ya en su tercera edición (1970,

Stanier, Doudoroff, y Adelberg). Era un texto más formal que *BOM*, tanto en su estilo filosófico como en su presentación, que enfocaba la microbiología desde una perspectiva más bioquímica. Por el contrario, *BOM* se centraba en los principios generales con énfasis en la diversidad y la ecología microbiana, las dos áreas de la microbiología que estaban emergiendo en aquel entonces. Tom sabía con certeza hacia dónde se dirigía la microbiología y rápidamente *BOM* se convirtió en el principal instrumento de enseñanza de la microbiología moderna para quienes habían de comandar el futuro de las ciencias de la vida. El éxito de la primera edición llevó rápidamente a una segunda (1974) y posteriormente a una tercera (1979), creando una masa de profesores leales seguidores y adeptos a las enseñanzas según «el Brock».

Yo (MM) era estudiante de Tom en la Universidad de Wisconsin-Madison (M.S. 1974; Ph.D. 1976) y he conservado siempre muy próxima mi manoseada copia de la segunda edición. Me fui a la Universidad de Indiana con un puesto postdoctoral (con Howard Gest, 1976-1979) y por una u otra razón aludía a mi copia del *BOM* prácticamente a diario, sencillamente porque creo que me lo sabía de memoria. Tom me envió una copia de la tercera edición y me la leí de cabo a rabo en dos días. Era una actualización espectacular, pero es que además fue lo que desencadenó que en el futuro me involucrara en el libro. Puedo afirmar que ha sido un proceso pleno de amor (*A Labour of Love*, que diría el Bardo) que he llevado a cabo durante 33 años. Explico brevemente cómo desarrollé aquella oportunidad.

Tom practicaba la política de dar a sus estudiantes y postdocs un dólar por cada errata que encontrarán en la última edición de su libro. En las condiciones más bien humildes en que estábamos en aquellos días agudicé mis ojos de águila para descubrir las erratas en la copia de la tercera edición que había recibido de él. Inmediatamente le respondí enviándole mi lista de las que había encontrado, junto con algunas consultas sobre posibles errores, diferentes a las erratas tipográficas. Creo que impresioné a Tom porque muy poco después me escribió preguntando si «Me gustaría colaborar con un encargo a tiempo parcial para leer la cuarta edición del manuscrito». Por supuesto que le dije que sí, pero poco después Tom me descolocó con una oferta que consistía «en lugar de corrector de pruebas, ¿aceptarías unirte a mí como coautor de la cuarta edición?» Casi me desmayo.

Aunque sospecho que la mayoría de profesores asistentes sin plaza fija, ocupados en impartir cursos y montar un laboratorio (como yo mismo estaba haciendo en la Southern Illinois University, en Carbondale) habría dicho «no», me intrigaba la oferta de Tom. Y estaba ansioso por entrenarme como autor de un manual. Así que llame a Tom un par de días después y le dije: «Cuente conmigo, lo haré y veremos cómo va». Era el año 1982 cuando fui para firmar mi primer contrato para un libro y nunca me he arrepentido. Desde entonces, *BOM* ha pasado a ser *BBOM*, ha llegado a catorce ediciones y se ha traducido a 10 idiomas, incluyendo varias ediciones en español.

La respuesta internacional del *BBOM* ha sido entusiasta. Aparte de todas las ediciones en inglés en los países de habla anglosajona, se ha traducido a diversas lenguas.

La pionera fue el español, de la primera edición original. Después, posteriores ediciones fueron traducidas al francés, alemán, vasco, japonés, chino mandarín, etc.

Después de la cuarta edición (Brock, Smith, Madigan), la quinta, que fue el primer manual de microbiología en color, apareció cuatro años más tarde, y la sexta tres años después (las ediciones quinta y sexta con Brock y Madigan como coautores). Como el campo de la microbiología estaba recibiendo el impacto de nuevas técnicas y de las tecnologías de la información, le dije a Tom que para la siguiente y posteriores ediciones sería necesario incorporar más coautores. Y desde entonces, a partir de la séptima edición, un total de siete educadores de primera categoría han contribuido a una o más ediciones del *of BBOM*. John Martinko, Jack Parker, David Clark y Dave Stahl han llevado el peso de varias ediciones. Y otros coautores, Paul Dunlap, Kelly Bender y Dan Buckley, una edición cada uno.

Como autor principal en las ediciones cuarta a séptima, Tom actuó también como «editor en jefe». Sus comentarios siempre fueron claros y directos y nunca dejaron de enseñarme algo acerca de la escritura en general, y de la redacción de textos en particular. Tom defendía que la escritura científica tenía que estar estructurada, pero que, a la vez, había de dejar cabida a la creatividad. Y esa fue una actitud infecciosa. Todavía hoy me tomo la escritura como un desafío gozoso, ya sea para un manual, un artículo o para la presentación de un proyecto. Tom creía que si uno ponía el esfuerzo necesario y, por lo menos, una pizca de talento literario, finalmente podrías esculpir una estatua a partir de una roca. Sabio consejo de alguien que al final de su carrera científica decidió escribir solamente libros, porque los artículos no eran suficientemente estimulantes.

La 14ª edición original del *BBOM* apareció hace aproximadamente un año, la 15ª está en preparación (las revisiones de un manual necesitan mucho tiempo). Tengo la inmensa suerte de contar con un excelente equipo de coautores (Bender, Buckley, Stahl, y el más reciente Matt Sattley) cada uno de ellos experto en uno de los principales temas del *BBOM*, microbiología general, biología molecular-genómica-genética, evolución y diversidad, ecología microbiana, inmunología y microbiología médica. A través de los años he intentado trabajar con mis coautores de la misma forma que Tom lo hizo conmigo, e instilar en ellos el entendimiento y aprecio por la progresión de este texto.

Escribir un manual no es una tarea de inspiración voraz y pasajera. Exige dedicación, sacrificio, disciplina y puntualidad, y algo de habilidad para la escritura. Estas son características que Tom insufló y reforzó en mí los años que pasamos juntos, y son los principios que han modelado mi carrera universitaria, en la docencia y en la investigación. Estoy seguro que en 1970 Tom nunca imaginó que este manual vería catorce ediciones, con la quince en marcha. Sin embargo, las bases que él estableció y el entusiasmo que me transmitió, y también a mis coautores, ha mantenido *BBOM* como el libro introductorio de la ciencia microbiológica para estudiantes de las universidades de todo el mundo.

El Grupo de Microbiología de plantas, seis años después



Antonio de Vicente

Presidente del Grupo. Universidad de Málaga

adevicente@uma.es

Parece que fue ayer, pero no, fue hace tan solo poco más de seis años, cuando el entonces director de *Actualidad SEM*, la antecesora de *SEM@foro*, Federico Navarro, tuvo la iniciativa de preparar números monográficos de aquella publicación para la presentación de los distintos grupos especializados de la SEM y no conforme con ello, tuvo la genial ocurrencia de que sería apropiado que el grupo más joven entonces fuera el elegido para comenzar esta serie, y así surgió aquel primer número especial dedicado a un grupo especializado, el de Microbiología de Plantas, que apareció en junio de 2009 en el número 47 de *Actualidad SEM*. Luego bajo la dirección de Víctor Cid esta serie ha continuado creciendo y afortunadamente se ha consolidado y como ya han pasado por aquí todos los grupos, se inicia una segunda ronda de nuevo con el grupo de Microbiología de Plantas, MiP para los amigos, aunque ya no sea el más joven.

En 2009, el entonces presidente Jesús Murillo y el que lo es ahora, un servidor, que en aquella época era vicepresidente, fuimos los encargados por Fede de buscar colaboraciones y de preparar el artículo introductorio y de presentación del grupo MiP, donde explicábamos las razones que nos llevaron a poner en marcha este nuevo grupo especializado dentro de la SEM. Un objetivo principal del MiP, entonces y ahora, fue impulsar el desarrollo del área de las interacciones entre microorganismos y plantas, reuniendo aquí tanto las beneficiosas como las perjudiciales, sirviendo de foro para el intercambio de ideas y favoreciendo la colaboración científica entre los distintos investigadores de este campo en España; esto es, poner

en contacto a los de los microbios «buenos» con los de los «malos», como nos denominamos entre nosotros, y es que en el fondo hay bastante más de común entre las interacciones beneficiosas y las patogénicas de lo que en un análisis somero se podría esperar.

La Junta Directiva actual está formada por Pablo Rodríguez-Palenzuela (Madrid), Mari Trini Gallegos (Granada), Diego Romero (Málaga), Nuria Gaju (Barcelona), Marta Martín (Madrid) y el que les escribe en nombre de todos; pero esta Junta ya ha sido renovada completamente y aprovechemos para agradecer a aquellos que formaron parte de la primera Junta elegida en 2005 y que apadrinaron el nacimiento de este grupo, Emilia López-Solanilla (Madrid), Alejandro Pérez-García (Málaga), Ramón Penyalver (Valencia, que sigue siendo nuestro corresponsal), Anna Bonaterra (Girona) y nuestro eterno presidente Jesús Murillo (Pamplona), bueno sí, y yo era el vice, pero como ven me las arreglé para seguir... e incluso ascender en la estructura de poder. Pues bien, desde entonces el grupo ha crecido y sobre todo, en mi opinión, se está consolidando como un grupo activo y en particular, como un grupo de colegas que cada vez interactuamos más y mejor, tanto a nivel científico, objetivo formal, como personal, objetivo más informal pero nada desdeñable. Y quizás como prueba de ello, os resumo a continuación algunos datos.

Creo que el principal dato es que el grupo, que se constituyó inicialmente por 38 socios en 2005, ha ido creciendo poco a poco, éramos 49 en 2010, en 2015 ya somos 62 socios y estoy convencido de que seguiremos creciendo. Otros indicadores de la con-



Figura 1. Logotipo del grupo diseñado por Alejandro Pérez García con motivo de la II Reunión en 2007.

solidación de este grupo son los seis simposios organizados en los últimos Congresos Nacionales de la SEM (Cáceres 2005, Sevilla 2007, Almería 2009, Salamanca 2011, Barcelona 2013 y Logroño 2015). Y sobre todo, las Reuniones del Grupo Especializado MiP que ya han alcanzado su sexta edición este año; la primera fue en junio de 2005 en Cerdilla (Madrid), y luego vinieron Benalmádena (Málaga) en marzo de 2007, Granada en febrero de 2009, la IV en Tánger (Marruecos) en febrero de 2011, Girona en abril de 2013 y la última, la VI, en Miraflores de la Sierra (Madrid) en marzo de 2015, todas ellas inolvidables, os lo aseguro yo que estuve allí. La participación en dichas reuniones está consolidada con números de participantes entre 50 y 80 y con alrededor de 40 comunicaciones cada año; otro dato que habla muy bien de la salud del grupo y de que su continuidad está garantizada, es que los compañeros de la Universidad de Salamanca ya están trabajando para organizar la VII y los de la Universidad de Sevilla ya se han comprometido para la VIII. Todo esto parece indicar que el grupo está sano y «biocontrolado»..., aunque algunos de sus socios insistan en trabajar en el lado oscuro de la enfermedad. Aprovecho para agradecer el entusiasmo y la generosidad de esfuerzo e imaginación de todos los organizadores, moderadores, etc y particularmente de los participantes, que han hecho que todas estas reuniones hayan sido un éxito.

En todas ellas hemos seguido apostando por un formato equivalente para favorecer los objetivos iniciales de las mismas: 1) favorecer la comunicación e intercambio científico basado en la convivencia «obligada» durante 2 ó 3 días de todos los participantes, al estilo de los «ejercicios espiri-

Todo parece indicar que el grupo esta sano y «biocontrolado»

tuales» que solo algunos podemos recordar y 2) utilizar el MiP como plataforma científica para los investigadores más jóvenes, para ello, todas las reuniones se han organizado en comunicaciones orales, casi exclusivamente impartidas por doctorandos o jóvenes doctores, sin necesidad de que se trate de investigaciones ya concluidas. Y todo ello, sin olvidar el objetivo principal de que la reunión se realice en un ambiente lo más distendido posible, favoreciendo así el establecimiento y reforzamiento de relaciones a nivel personal, que sin duda favorecen el establecimiento de colaboraciones científicas muy fructíferas, pero a través de lazos de amistad entre los investigadores, jóvenes y no tan jóvenes.

Y para terminar, otro dato también contundente y esperanzador es el del número de grupos que participan en este especial de SEM@foro sobre el MiP. Para aquel primer especial de junio de 2009 tuvimos que «convencer» entre Jesús y el que suscribe a «cuatro» grupos pioneros para que preparasen los cuatro artículos que se incluyeron en aquel número de Actualidad SEM (sin lomo por cierto, comentario éste que solo entenderán algunos). Sin embargo, hoy en este número de Diciembre de 2015 de SEM@foro, el especial del grupo MiP lo componen los artículos enviados por ¡catorce! grupos, que aquí muestran su bien hacer y el elevado nivel científico de sus trabajos. Disfrutadlo y muchas gracias a todos los que habéis ayudado a que este grupo casi familiar siga haciendo buena ciencia y buenos amigos. ¡Ah! y os esperamos en Salamanca y en el grupo a todos los que estudiéis algo relacionado con el mundo de los microbios y de las plantas; os recuerdo que se puede pertenecer a varios grupos especializados... y al MiP es solo por tres euros al año.

Coloquio, by Víctor.



Epidemiología y control integrado de enfermedades bacterianas y fúngicas en frutales

Emilio Montesinos, Isidre Llorente, Concepció Moragrega, Anna Bonaterra, Jesús Francés, Esther Badosa, Jordi Cabrefiga, Lúdia Ruz, Isabel Mora, Laura Montesinos, Núria Daranas, Gerard Morales

Grupo de Patología Vegetal. Instituto de Tecnología Agroalimentaria-CIDSAV-XaRTA de la Universidad de Girona

emilio.montesinos@udg.edu

www.udg.edu/cidsav



Foto de grupo. El Grupo de Patología vegetal.

El grupo de Patología Vegetal de la Universidad de Girona constituye el Centro de Innovación y Desarrollo en Sanidad Vegetal (CIDSAV), integrado en la red TECNIO de transferencia de tecnología de la Generalitat de Cataluña. El embrión del grupo actual se creó en 1986, estudiando los daños por heladas tardías en la zona de producción de pera de Lleida y Girona, inducidos por bacterias nucleadoras de hielo como *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. La

actividad del CIDSAV actualmente consiste en dar respuesta a la necesidad creciente de una agricultura más respetuosa con el medioambiente, desarrollando herramientas y productos más ecológicos para el control de enfermedades de las plantas causadas por hongos y bacterias. El principal objetivo se centra en la minimización del uso de antimicrobianos convencionales (fungicidas y bactericidas) mediante el desarrollo de nuevos biopesticidas y biofertilizantes

microbianos, así como de sus metabolitos, y de péptidos funcionales (antimicrobianos y estimuladores de defensas en las plantas). Este objetivo se complementa con el desarrollo de modelos de predicción de riesgo de infección y su aplicación para el guiado del momento y lugar de aplicación de los tratamientos. El grupo trabaja en varios proyectos de investigación, asumiendo el liderazgo o colaborando, con financiación tanto pública a través de convocatorias competitivas, como privada mediante contratos con empresas y administraciones.

BIOPLAGUICIDAS Y BIOFERTILIZANTES MICROBIANOS

El grupo inició la línea de investigación y desarrollo en bacterias beneficiosas para las plantas hace 20 años, y actualmente investiga en la obtención, caracterización, mejora y producción de microorganismos para su utilización como bioplaguicidas o biofertilizantes. Ha realizado numerosos estudios de prospección en diversos ecosistemas y de caracterización de microorganismos que le han permitido confeccionar una extensa y variada colección de bacterias de los géneros *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc*, y *Streptomyces*. Numerosas cepas han sido seleccionadas por su capacidad de biocontrol de diversos hongos y bacterias fitopatógenos, o causantes de toxiinfecciones alimentarias a través de productos vegetales frescos, pero especialmente contra bacterias fitopatógenas de cuarentena. Varias cepas han sido objeto de diversas patentes de aplicación, algunas en explotación. Actualmen-

te el grupo concentra sus esfuerzos en cepas productoras de péptidos antimicrobianos o funcionales, implicados en los mecanismos de control biológico. Se han desarrollado métodos para la producción y formulación de dichas cepas, así como técnicas moleculares para la detección y cuantificación específica de éstas. Además, se han desarrollado métodos de mejora fisiológica mediante osmoadaptación y refuerzo nutricional, con el fin de incrementar su aptitud ecológica y en definitiva su eficacia en el control de enfermedades. Asimismo, el grupo realiza bajo contrato ensayos de control de enfermedades con agentes de biocontrol y productos de última generación (estimulación de defensas en plantas), tanto en condiciones controladas de invernadero como en campos experimentales. Actualmente dispone de un invernadero de bioseguridad con control total del clima y con las autorizaciones correspondientes para patógenos de cuarentena presentes en la UE y para OGMs.

PÉPTIDOS FUNCIONALES ANTIMICROBIANOS Y ESTIMULADORES DE DEFENSA

El grupo también trabaja desde hace 15 años en una línea de investigación focalizada en el desarrollo de péptidos antimicrobianos para el control de enfermedades de plantas. Ha acumulado una notable experiencia junto con el grupo LIPPSO de la Universidad de Girona que se dedica a química de péptidos, con el que forma una plataforma para el diseño-descubrimiento, mejora, análisis de la actividad biológica y optimización de procesos para su producción, tanto por síntesis química como biotecnológica. Actualmente se dispone de varios péptidos selectos, algunos con actividad bactericida frente a bacterias fitopatógenas o fungicida contra hongos fitopatógenos foliares y de post-cosecha, y otros que son estimuladores de mecanismos de defensa en las plantas. Varios péptidos han superado las pruebas toxicológicas preliminares y ensayos de concepto en diversos patosistemas en condiciones de invernadero, y en algunos casos en ensayos de control de enfermedades en campo (fuego bacteriano, mancha marrón del peral). En colaboración con centros de investigación nacionales y extranjeros, se han desarrollado métodos de producción de varios péptidos derivados de BP100 utilizando semillas de arroz transgénico como biofactoría. La producción biotecnológica permite reducir los costes del sistema de producción convencional que utiliza síntesis química en fase sólida. Varios péptidos han sido objeto de diversas patentes, algunas en explotación.

EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL DE ENFERMEDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS DE LOS FRUTALES

Tanto las cepas de bacterias constituyentes de bioplaguicidas microbianos, como los péptidos funcionales sintéticos o de origen natural (antimicrobianos o estimuladores de defensas) que el grupo ha desarrollado se implementan en estrategias de control integrado de enfermedades de



Figura 1. Huella dejada por una hoja de peral en la superficie del agar nutritivo en una placa de Petri. Se pueden observar las colonias de microorganismos que la colonizan.

los frutales. Las enfermedades en las que se ha trabajado en diversos proyectos han sido la necrosis de yemas de flor (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) y mancha marrón (*Stemphylium vesicarium*) del peral, el fuego bacteriano de los frutales de pepita (*Erwinia amylovora*), la bacteriosis del nogal (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*), la bacteriosis de los frutales de hueso (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) y la bacteriosis del kiwi (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*), entre las más destacables. Además, dentro de la línea de epidemiología y control, el grupo ha desarrollado y validado modelos empíricos de predicción de riesgo de infección para su implementación en Estaciones de Avisos Fitosanitarios. Concretamente se han construido modelos de predicción de riesgo para la mancha marrón del peral causada por el hongo *Stemphylium vesicarium* y para la bacteriosis del nogal causada por *X. arboricola* pv. *juglandis*. Dichos sistemas están siendo utilizados en la práctica en estrategias de manejo integrado de éstas enfermedades, en distintas zonas de la Península Ibérica y de países de Europa.

PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO

- Badosa E, Moiset M, Montesinos L, Talleda M, Bardají E, Felíu L, Planas M, Montesinos E.** (2013) Derivatives of the antimicrobial peptide BP100 for expression in plant systems. *PLoS ONE* 8: 1-12.
- Badosa E, Ferré R, Planas M, Felíu L, Besalú E, Cabrefiga J, Bardají E, Montesinos E.** (2007). A library of linear undecapeptides with bactericidal activity against phytopathogenic bacteria. *Peptides* 28: 2276- 85.
- Badosa E, Ferré R, Francés J, Bardají E, Felíu L, Planas M, Montesinos E.** (2009). Sporidicidal activity of synthetic antifungal undecapeptides and control of *Penicillium*-rot of apples. *Appl Environ Microbiol* 75: 5563-9.
- Bonaterrea A, Badosa E, Rezzonico F, Duffy B, Montesinos E.** (2014) Phenotypic comparison of clinical and plant beneficial strains of *Pantoea agglomerans*. *Int Microbiol* 17: 81-90.
- Bonaterrea A, Mari M, Casalini L, Montesinos E.** (2003). Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. *Int J Food Microbiol* 84: 93-104.
- Bundó M, Montesinos L, Izquierdo E, Campo S, Mieulet D, Guiderdoni E, Rossignol M, Badosa E, Montesinos E, San Segundo B, Coca M.** (2014) Production of cecropin A antimicrobial peptide in rice seed endosperm. *BMC Plant Biology*. 104.
- Cabrefiga J, Francés J, Montesinos E, Bonaterrea A.** (2011) Improvement of fitness and efficacy of a fire blight biocontrol agent via nutritional enhancement combined with osmoadaptation. *Appl Environ Microbiol* 77: 3174-81.
- Cabrefiga J, Montesinos E.** (2005). Analysis of aggressiveness of *Erwinia amylovora* using disease-dose and time relationships. *Phytopathology* 95: 1430-7.
- Llorente I, Montesinos E.** (2006). Brown spot of pear. An emerging disease of economic importance in Europe. *Plant Disease* 90: 1368-75.
- Llorente I, Vilardell A, Vilardell P, Patteri E, Bugiani R, Rossi V, Montesinos E.** (2010). Control of brown spot of pear by reducing the overwintering inoculum through sanitation. *Eur J Plant Pathol* 128: 127-41.
- Montesinos E, Vilardell P.** (1991). Relationships among population levels of *Pseudomonas syringae*, amount of ice nuclei, and incidence of blast of dormant flower buds in commercial pear orchards in Catalunya, Spain. *Phytopathology* 81: 113-9.
- Montesinos E, Bonaterrea A.** (1996). Dose-response models in biological control of plant pathogens. An empirical verification. *Phytopathology* 86: 464-72.
- Montesinos E.** (2007). Antimicrobial peptides and plant disease control. *FEMS Microbiol Lett* 270: 1-11.
- Montesinos E, Moragrega C, Llorente I, Vilardell P, Bonaterrea A, Ponti I, Bugiani R, Cavanni P, Brunelli A.** (1995) Development and evaluation of an infection model for *Stemphylium vesicarium* on pear based on temperature and wetness duration. *Phytopathology* 85: 586-92.
- Mora I, Cabrefiga J, Montesinos E.** (2015) Cyclic lipopeptide biosynthetic genes and products, and inhibitory activity of plant-associated *Bacillus* against phytopathogenic bacteria. *PLoS ONE*, 10, e0127738.
- Moragrega C, Matias J, Aletà N, Montesinos E, Rovira M.** (2011). Apical necrosis and premature drop of Persian (English) walnut fruit caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. *Plant Disease* 95: 1565-70.
- Pujol M, Badosa E, Manceau C, Montesinos E.** (2006). Assessment of the environmental fate of the biological control agent of fire blight *Pseudomonas fluorescens* EPS62e on apple by culturable and real-time PCR methods. *Appl Environ Microbiol* 72: 2421-7.
- Puig M, Moragrega C, Ruz L, Montesinos E, Llorente I.** (2014). Post-infection activity of synthetic antimicrobial peptides against *Stemphylium vesicarium* in pear. *Phytopathology* 1024: 1192-200.
- Roselló G, Bonaterrea A, Francés J, Montesinos L, Badosa E, Montesinos E.** (2013). Biological control of fire blight of apple and pear with antagonistic *Lactobacillus plantarum*. *Eur J Plant Pathol* 137: 621-33.
- Trias R, Bañeras L, Badosa E, Montesinos E.** (2008). Bioprotection of Golden Delicious apples and Iceberg lettuce against foodborne bacterial pathogens by lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 123: 50-60.

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

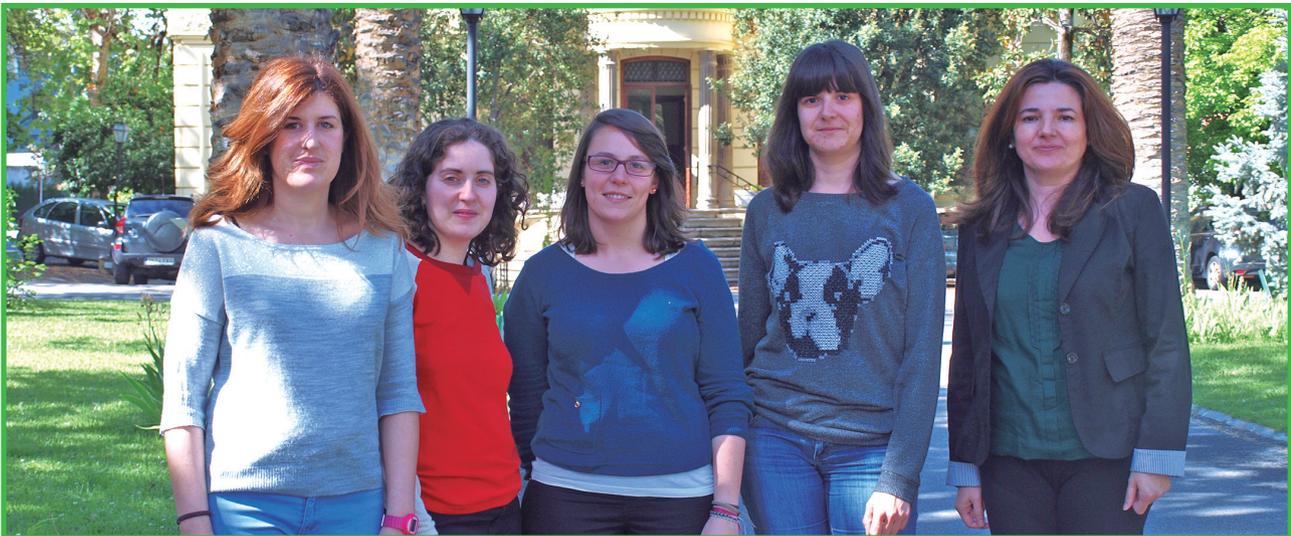


Foto de grupo. De izquierda a derecha: Virginia Cuéllar Maldonado, Lydia M^a Bernabéu Roda, Paloma Durán Ballesteros, M^a de las Nieves Calatrava Morales, M^a José Soto Misffut.

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.

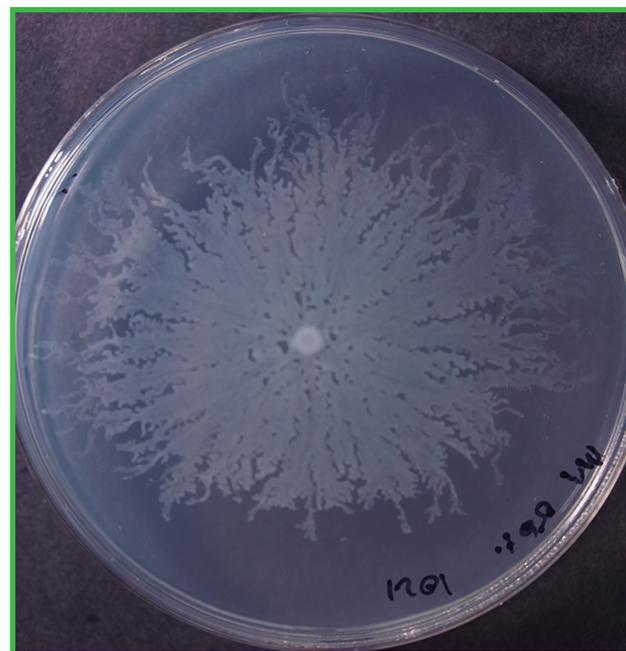


Figura 1. Movilidad en superficie de la cepa Rm1021 de *Sinorhizobium meliloti*.

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 ácidos 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.

Xanthomonas

un género de bacterias fitopatógenas con una alta especialización

Jaime Cubero, Cristina Redondo, Pilar Sabuquillo, Marta Sena-Vélez,
Jerson Garita-Cambronerero y Elisa Ferragud

Grupo de Bacteriología. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Crta de La Coruña Km 75. Madrid 28040

cubero@inia.es



Foto de grupo. Grupo de Bacteriología del INIA. De izquierda a derecha, arriba: Cristina Redondo, Jaime Cubero, Pilar Sabuquillo, Jerson Garita-Cabrónero. Abajo: Marta Sena-Vélez, Elisa Ferragud.

sables de enfermedades en plantas ornamentales de alto valor económico. Al mismo tiempo, el género *Xanthomonas* constituye un grupo de bacterias extremadamente interesante desde un punto de vista microbiológico por presentar una alta especificidad por el huésped, de tal manera que cepas pertenecientes a una misma especie pueden infectar de forma exclusiva huéspedes diferentes (Hayward, 1993; Rodríguez-R *et al.*, 2012).

En el grupo de Bacteriología del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) nos hemos centrado en el estudio de bacterias del género *Xanthomonas* siguiendo dos líneas de investigación: abordamos, por un lado la puesta a punto de métodos de detección, identificación y caracterización de cepas de *Xanthomonas*, y por otro, el estudio de la interacción de estas bacterias con el entorno que las rodea, y en especial con la planta.

***XANTHOMONAS CITRI* SUBSP. *CITRI* Y *XANTHOMONAS ARBORICOLA* PV. *PRUNI* CAUSANTES DE LA CANCROSIS DE LOS CÍTRICOS Y LA MANCHA BACTERIANA DE LOS FRUTALES DE HUESO Y ALMENDRO**

Nuestro grupo trabaja en colaboración con otros grupos tanto nacionales como internacionales, principalmente con dos modelos de *Xanthomonas* infectan especies leñosas de plantas.

Xanthomonas citri subsp. *citri* (Xcc) produce la cancrrosis o chancro de los cítricos, caracterizada por la aparición de lesiones en hojas y frutos (Figura 1a). La cancrrosis está extendida a nivel mundial y se encuentra en muchas de

El género *Xanthomonas* contiene principalmente especies de bacterias que causan graves enfermedades en plantas de utilidad agrícola y comercial. Destaca su presencia en cultivos de elevado interés como arroz, algodón, especies hortícolas como tomate o pimiento y plantas leñosas como los cítricos o los frutales de hueso. Además, son respon-

las zonas productoras de cítricos aunque no se ha descrito en Europa ni en ningún país del área mediterránea (López y Cubero, 2001). *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (*Xap*) produce la mancha bacteriana de los frutales de hueso y del almendro, enfermedad descrita recientemente en España (Palacio-Bielsa *et al.*, 2014) y caracterizada también por la aparición de manchas en hojas y frutos (Figura 1b). Ambas enfermedades representan un serio problema para la agricultura, principalmente porque los frutos afectados son difícilmente comerciables y porque los árboles enfermos disminuyen generalmente su productividad. Cabe destacar que ambas enfermedades son consideradas de cuarentena en numerosas zonas del mundo, entre ellas la Unión Europea (DOCE, 2000), por lo que su presencia en un área limita el mercado de plantas y frutos desde ésta.

DETECCIÓN, Y CARACTERIZACIÓN DE XANTHOMONAS, ASPECTOS ESENCIALES PARA EL CONTROL DE LAS ENFERMEDADES QUE PRODUCEN

La primera medida en cualquier estrategia de control de enfermedades de plantas se debe basar inicialmente en la exclusión del patógeno y para ello se requieren **métodos de detección, identificación y caracterización** que sean rápidos, precisos y fiables.

Nuestro grupo ha trabajado en la puesta a punto de métodos de PCR convencional o en tiempo real para la detección de *Xcc* cuando se encuentra en bajas concentraciones, asimismo, hemos desarrollado estrategias que evitan falsos negativos en el diagnóstico de la **cancrosis de los cítricos** (Gomohammadi *et al.*, 2007). Además, se han desarrollado protocolos para la detección exclusiva de bacterias viables basados en la amplificación de fragmentos de ARNm de baja estabilidad (Golmohammadi *et al.*, 2012). Dentro de la línea dirigida a la identificación y caracterización de *Xanthomonas* patógenas de cítricos, hemos trabajado en técnicas para la localización del origen de los

focos de la enfermedad en diferentes áreas, así como para la discriminación de cepas de amplia y limitada gama de huésped, aspectos fundamentales en los programas de erradicación de la enfermedad (Cubero y Graham, 2002, 2004, 2005)

En relación a la **mancha bacteriana de los frutales de hueso** hemos participado en el desarrollo de protocolos de PCR en tiempo real para la detección de *Xap* en las distintas especies de *Prunus* (Palacio-Bielsa *et al.*, 2011). Además, en un trabajo reciente, hemos realizado una caracterización fenotípica y genotípica de cepas españolas de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* mediante análisis de secuencias multilocus, que nos ha permitido identificar cepas de *Xanthomonas arboricola* diferentes a las *Xap* descritas hasta el momento, y que en la actualidad son consideradas *Xap* «look-a-like» (Garita-Cambronero *et al.*, 2012). Adicionalmente hemos obtenido la secuencia del genoma completo de algunas de estas cepas e identificado en *Xap* factores de virulencia mediante estudios comparativos (Garita-Cambronero *et al.*, 2014)

LA CANCROSIS DE LOS CÍTRICOS Y LA MANCHA BACTERIANA DE LOS FRUTALES DE HUESO: DOS ENFERMEDADES PROVOCADAS POR XANTHOMONAS Y DOS PROCESOS DIFERENTES DE INFECCIÓN

Las bacterias del género *Xanthomonas*, al igual que otras muchas bacterias, se **agregan de forma organizada formando biopelículas**. En el caso de la cancrrosis de los cítricos, hemos demostrado que esta capacidad es utilizada por *Xcc* como estrategia de supervivencia cuando se encuentra en condiciones adversas en la superficie vegetal, o en los estadios iniciales de la infección en el apoplasto (Figura 2) (Cubero *et al.*, 2011). Para que se produzca la biopelícula son necesarias determinadas condiciones de temperatura y humedad y un huésped apropiado

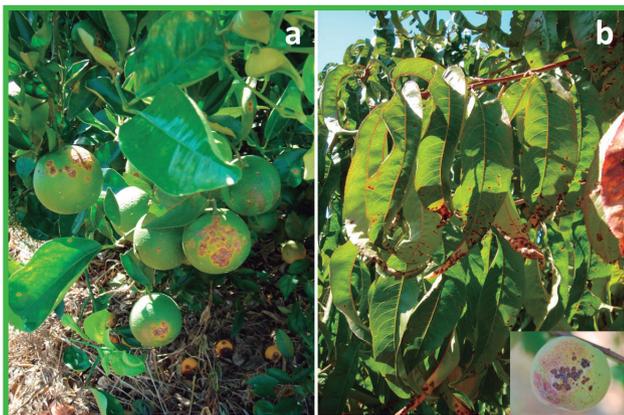


Figura 1. Síntomas en hojas y frutos de la cancrrosis de los cítricos (a) y la mancha bacteriana de los frutales de hueso y del almendro (b).

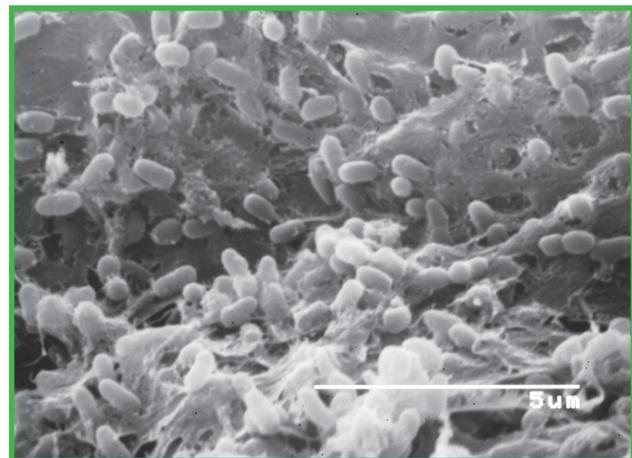


Figura 2. Biopelícula formada por *Xanthomonas citri* subsp. *citri* en hoja de naranjo.

(Sena-Vélez *et al.*, 2014). En nuestro grupo además hemos caracterizado parcialmente la matriz de las biopelículas de *Xcc* y hemos encontrado que contiene **ADN extracelular y fibras de Pili tipo IV**. Asimismo, hemos observado que cepas que presentan diferente gama de huésped muestran diferencias en cuanto a la formación de las biopelículas y estas diferencias están relacionadas tanto con la producción de ADN extracelular como con la expresión de genes correspondiente al Pili tipo IV. En los estudios dirigidos a establecer diferencias entre las cepas de *Xcc* con distinta gama de huésped, también hemos incidido en otros aspectos como el papel que juegan los fenómenos de respuesta poblacional o **quorum sensing**, así como el de los procesos de **motilidad y quimiotaxis** (Sena-Vélez, Tesis Doctoral).

Xap posee mayor capacidad para sobrevivir en superficie vegetal y su agregación (Figura 3), al contrario de lo que ocurre en *Xcc*, está favorecida por la presencia de nutrientes y cuando existen condiciones para el crecimiento de la población (Sabuquillo *et al.*, 2014). Esta diferente capacidad para formar biopelículas en superficie vegetal respecto a *Xcc*, no hace más que confirmar una constatación que ya se tenía sobre el carácter epifita de esta bacteria en algunas partes de su ciclo vital, contrariamente a lo que le ocurre a *Xcc*, que no presenta normalmente esta fase.

Además de las diferencias que hemos encontrado en la capacidad para formar biopelículas entre *Xcc* y *Xap* y en las diferentes condiciones que lo propician para cada una de ellas, también hemos observado divergencias en otros aspectos como la motilidad y quimiotaxis. A diferencia de *Xcc*, *Xap* muestra un movimiento en superficie mediado por flagelo tipo «swarming» que pensamos puede estar relacionado con esa mayor capacidad epifita (Figura 4). Otros aspecto que hemos encontrado diferente entre los dos modelos bacterianos es en relación a procesos de quimiotaxis, y así por ejemplo, mientras que las cepas de *Xcc* presentan una homogeneidad clara en el contenido de **proteínas aceptoras de grupos metilo o MCPs**,

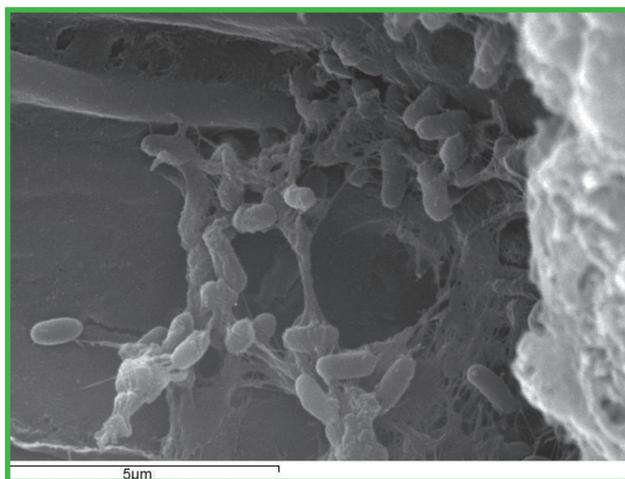


Figura 3. Biopelícula formada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* en hoja de almendro.

involucradas en quimiotaxis, en un estudio realizado en *Xap*, hemos observado una gran diversidad de estas proteínas entre las cepas (Garita-Cambrero *et al.*, 2013).

En resumen, *Xcc* parece formar preferentemente biopelículas una vez ha alcanzado el apoplasto, posiblemente para desencadenar los procesos moleculares que dan lugar a la liberación de nutrientes y crecimiento de la población en el interior del tejido vegetal. Sin embargo, *Xap* se agrega durante su fase epifita para incrementar su población en superficie y facilitar la posterior infección del interior de los tejidos vegetales. La agregación y formación de biopelículas además, están relacionadas con procesos diferentes de motilidad en ambos modelos.

CONCLUSIONES

El fenómeno de la globalización conlleva la diseminación de enfermedades de las plantas a lo largo del planeta e implica la necesidad de disponer de estrategias eficaces para su control que deben estar acordes con la preservación del medio ambiente. Un aspecto esencial en el control de enfermedades es el desarrollo de métodos de detección e identificación de las bacterias responsables de las mismas y especialmente de aquellas consideradas de cuarentena. Además, es necesario profundizar en el conocimiento de los mecanismos de infección y

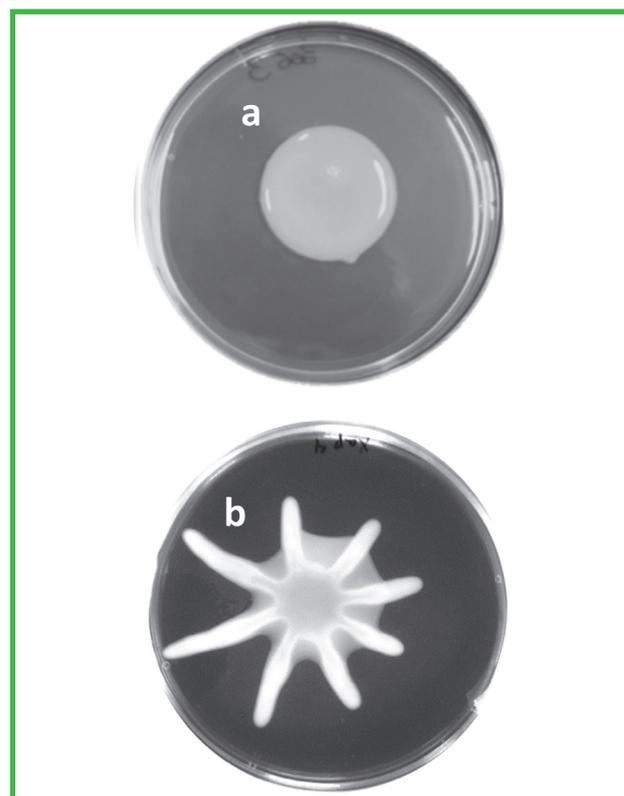


Figura 4. Movimiento en superficie de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (a) y *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (b).

para ello son de extremada utilidad los estudios comparativos entre enfermedades similares provocadas por especies o cepas próximas taxonómicamente, pero con mecanismos de infección diferentes, como es el caso de *Xanthomonas*. El conocimiento de los mecanismos implicados en los primeros estadios de infección permitirá el desarrollo de estrategias de control basados en el bloqueo de alguno de los pasos que forman parte del proceso, evitando el avance de las enfermedades bacterianas.

COMPONENTES DEL GRUPO DE BACTERIOLOGÍA DEL INIA

Jaime Cubero Dabrio. Doctor en Biología por la Universidad de Valencia, en la actualidad es Científico Titular en el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Realizó la Tesis Doctoral en *Agrobacterium tumefaciens*, causante de tumores en plantas, bajo la dirección de la Dra. María Milagros López en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Una vez terminado su periodo doctoral, trabajó cinco años en el Citrus Research and Education Center (CREC) de la Universidad de Florida en diferentes aspectos relacionados con la cancrrosis de los cítricos. En la actualidad, dirige en el INIA un grupo, de reciente creación, cuyo objetivo es el estudio de Bacterias Fitopatógenas y las enfermedades que producen. Además, actualmente es Vicepresidente de la Sociedad Española de Fitopatología.

Cristina Redondo Casero. Doctora en Biología por la Universidad Politécnica de Madrid, en 2007 obtuvo una plaza de Técnico Superior Especialista de los Organismos Públicos de Investigación. Realizó la Tesis Doctoral «Enfermedades fúngicas de degradación de la madera de vid» (*Vitis vinifera* L.) bajo la dirección del Dr. Eloy Mateo-Sagasta, catedrático de Patología Vegetal de la E.T.S.I. Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid, y la Dra. María Luisa Tello, Posteriormente, trabajó durante tres años en el INIA en el grupo de Patología Vegetal. En la actualidad pertenece al grupo de Bacteriología en el que desarrolla su actividad.

Pilar Sabuquillo Castrillo. Doctora en CC. Químicas por la Universidad Autónoma de Madrid. Su Tesis Doctoral sobre la utilización de enzimas microbianas en biotransformaciones fue desarrollada en el Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC y dirigida por el Profesor José Manuel Guisan Seijas. Durante este tiempo realizó una estancia en la Universidad de Strathclyde (Escocia). Posteriormente empezó a trabajar como post-doctoral en el INIA en el departamento de Protección Vegetal en el control de hongos fitopatógenos. En la actualidad está contratada como Titulado Superior en el grupo de Bacteriología realizando distintos estudios sobre *Xanthomonas*.

Marta Sena-Velez es Doctora Ingeniero Agrónomo y ha defendido recientemente su Tesis Doctoral sobre procesos de quimiotaxis, motilidad y formación de biopelículas en *Xcc*. **Jerson Garita-Cambronero** es Profesor de la Universidad de Costa Rica y está realizando la Tesis Doctoral en el grupo de Bacteriología estudiando diferentes aspectos de la mancha bacteriana de los frutales de hueso y almendro. **Elisa Ferragud** es técnico de laboratorio y desarrolla su actividad tanto en *Xap* como en *Xcc*.

BIBLIOGRAFÍA

- Cubero J, Graham JH.** (2002). Genetic relationship among worldwide strains of *Xanthomonas* causing canker in citrus species and design of new primers for their identification by PCR. *Appl Environ Microbiol* 68: 1257-64.
- Cubero J, Graham JH.** (2004). The Leucine Responsive Regulatory Protein (*lrp*) for Characterization of the Relationship among *Xanthomonas* spp. *Int J Syst Evol Microbiol* 54: 429-37.
- Cubero J y Graham JH.** (2005). Quantitative Real Time PCR for Bacterial Enumeration and Allelic Discrimination to Differentiate *Xanthomonas* strains on citrus. *Phytopathology* 95: 1333-40.
- Cubero J, Gell I, Johnson E, Redondo A, Jones JB, Graham JH.** (2011). Unstable green fluorescence protein for study of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* survival on citrus. *Plant Pathology* 60: 977-85.
- DOCE.** (2000). Directiva 2000/29/CE del Consejo de 8 de Mayo de 2000 relativa a las medidas de protección contra la introducción en la Comunidad de organismos nocivos para los vegetales o productos vegetales y contra su propagación en el interior de la Comunidad. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas* L169: 1-112.
- Garita-Cambronero J, Sabuquillo P, Sena-Vélez M, Ferragud E, Redondo C, Palacio-Bielsa A, López MM, Cubero J.** (2012). Caracterización genotípica y estudio fenotípico de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* y de los procesos asociados a los primeros estadios de infección XVI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Málaga, España. *Libro de Resúmenes*, p80, PL-12. Málaga, España.
- Garita-Cambronero J, Sena-Vélez M, Sabuquillo P, Bianco MI, Ferragud E, Redondo C, Cubero J.** (2013). Early steps in the infection process in two *Xanthomonas* spp. models: chemotaxis and biofilm formation. 10th International Congress of Plant Pathology. *Acta Phytopathologica Sinica* p419, Q31.016, Beijing. China.
- Garita-Cambronero J, Sena-Vélez M, Palacio-Bielsa A, Cubero J.** (2014). Draft Genome Sequence of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* strain Xap33, causal agent of Bacterial Spot Disease on Almond. *Genome Announcement* 2: e00440-14.
- Golmohammadi M, Cubero J, Peñalver J, Quesada JM, López MM, Llop P.** (2007). Diagnosis of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, causal agent of citrus canker, in commercial fruits by isolation and PCR-based methods. *J Appl Microbiol* 103: 2309-15.
- Golmohammadi M, Llop P, Scuderi G, Gell I, Graham JH, Cubero J.** (2012). mRNA and rRNA for evaluation of viability for *Xanthomonas citri* subsp. *citri* by monitoring stability of selected genes. *Plant Pathology* 61: 479-88
- Hayward AC.** (1993). The hosts of *Xanthomonas*. In *Xanthomonas*, eds. Swings, J. G and E. L Civerolo, 1-119. (London, UK: Chapman and Hall).
- López MM, Cubero J.** (2001). Bacteriosis de los cítricos con riesgo de introducción en España. *Phytoma* 130: 53-62.
- Palacio-Bielsa, Cubero J, Cambra MA, Collados R, Berruete IM, López MM.** (2011). Development of an efficient quantitative PCR protocol for detection of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* in *Prunus* species. *Appl Environ Microbiol* 77: 89-97
- Palacio-Bielsa A, Cambra MA, Cubero J, Garita-Cambronero J, Roselló M, López MM.** (2014). La mancha bacteriana de los frutales de hueso y del almendro (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*), una grave enfermedad emergente en España. *Phytoma* 259: 36-42
- Rodríguez-R LM, Grajales A, Arrieta-Ortiz ML, Salazar C, Restrepo S, Bernal A.** (2012) Genomes-based phylogeny of the genus *Xanthomonas*. *BMC Microbiol* 12: 43.
- Sabuquillo P, Ferragud E, Cubero J.** (2014). Formación de biofilms en *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. XVII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. *Libro de Resúmenes* p174, P-054-01236. Lleida, España.
- Sena-Vélez M, Redondo C, Gell I, Ferragud E, Johnson E, Graham JH, Cubero J.** (2014) Biofilm formation and motility of *Xanthomonas* strains with different citrus host range. *Plant Pathology* 64: 767-775

Interacciones beneficiosas entre plantas de interés agrícola y microorganismos rizosféricos

Francisco Javier López Baena, José María Vinardell González, Francisco Javier Ollero Márquez, José Enrique Ruiz-Sainz y María del Rosario Espuny Gómez

Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla.
Avenida de Reina Mercedes, 6. 41012-Sevilla

jlopez@us.es, jvinar@us.es, fjom@us.es, rsainz@us.es, espuny@us.es



Foto de grupo. Miembros del grupo de investigación de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla junto con las investigadoras visitantes An Qi y Shi Jie de la Academia de Ciencias de Heilongjiang (China).

Desde hace más de 30 años se vienen estudiando en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Sevilla las interacciones beneficiosas entre microorganismos del suelo y plantas de interés agrícola. Estos estudios se han centrado sobre todo en la simbiosis entre rizobios y leguminosas. Como consecuencia de esta simbiosis se forman unas estructuras, denominadas nódulos, en las raíces de la planta donde las bacterias fijan nitrógeno atmosférico (fenómeno comúnmente denominado como fijación biológica del nitrógeno).

Actualmente existen diversas líneas de investigación en nuestro Departamento: a) la comunicación dependien-

te de *quorum sensing* en la interacción beneficiosa planta-bacteria y la diversidad de los rizobios de ambientes sometidos a estrés para su aplicación en la recuperación o mejora de áreas para cultivos agrícolas, b) estudios genómicos y transcriptómicos de *Sinorhizobium fredii* HH103, c) estudios genómicos y transcriptómicos de *Rhizobium tropici* CIAT899, d) estudio del papel de los polisacáridos de superficie de *S. fredii* HH103 en la simbiosis con la soja, con la planta modelo *Lotus japonicus* y con *L. burtii* y e) estudio del papel del sistema de secreción de tipo 3 en la simbiosis entre *S. fredii* HH103 y diversas leguminosas hospedadoras.

Los investigadores asociados a estas líneas de investigación son María del Rosario Espuny, Ramón Bellogín, María Teresa Cubo, Francisco Javier López-Baena, Francisco Javier Ollero, Francisco Pérez-Montaño, Ana María Buendía-Clavería, José Enrique Ruiz-Sainz y José María Vinardell, los investigadores posdoctorales Juan Carlos Crespo-Rivas e Irene Jiménez-Guerrero, los investigadores en periodo de formación Cynthia Alias-Villegas, Pablo del Cerro, Sebastián Acosta-Jurado y Pilar Navarro-Gómez, la gestora de proyectos Lorena González y las técnicas de laboratorio Nuria Madinabeitia y Rocío Gutiérrez.

La línea de investigación liderada por la Dra. Espuny se centra, por un lado, en el estudio de los sistemas de comunicación entre bacterias y entre bacterias y plantas y, por otro lado, en el estudio de la biodiversidad de rizobios asociados a leguminosas sometidas a estrés. Uno de los mecanismos de comunicación entre las bacterias rizosféricas y de éstas con las plantas es el que emplea pequeñas moléculas extracelulares difusibles que, una vez llegan a una concentración extracelular umbral, son percibidas intracelularmente actuando como reguladores de la transcripción. Este fenómeno, conocido como percepción del quórum o *quorum sensing*, permite regular actividades transcendentales para el correcto establecimiento de procesos que necesitan un número mínimo de individuos. De esta forma se regulan procesos fundamentales durante la colonización y la infección, como son la producción de polisacáridos extracelulares, la formación de biopelículas o la transferencia de plásmidos. En nuestro Departamento se estudia la naturaleza de las señales producidas por algunas estirpes de *Rhizobium* y *Sinorhizobium*, así como la influencia de los flavonoides inductores de los genes de nodulación sobre la expresión de los genes de síntesis y la producción de esas señales (Pérez-Montaño *et al.*, 2011). Además, hemos detectado la presencia en los exudados de semilla y de raíz de plantas de judía y de arroz de unas moléculas de naturaleza aún desconocida que imitan a las acil-homoserina lactonas o AHL (*AHL-mimics*), uno de los tipos de moléculas implicadas en el QS más extendidas entre las bacterias Gram negativas. Se ha comprobado que estas AHL-*mimics* tienen un efecto directo sobre la capacidad de desarrollo de biopelículas por bacterias simbióticas de leguminosas y por otras que pueden ser percibidas como presuntas patógenas por el arroz (Pérez-Montaño *et al.*, 2013). Por otro lado, la necesidad de aumentar la productividad de los cultivos agrícolas en suelos sometidos a factores adversos como la salinidad, la acidez o la presencia de metales pesados ha propiciado el estudio de los rizobios que establecen una simbiosis efectiva con leguminosas propias de esos ambientes. Se ha determinado que la leguminosa *Medicago marina*, que crece sobre las dunas de playas y en zonas de marismas del sur de España, establece simbiosis con bacterias de la especie *Ensifer* (*Sinorhizobium meliloti*) y, menos frecuentemente, con *E. medicae*. Además, se ha comprobado que estos simbiosiontes son tolerantes a concentraciones relativamente altas de NaCl, a altas temperaturas y a ciertos metales pesados como el Cu, Zn, Cd y Ni (Alias-Villegas *et al.*, 2015). Algunos de estos aisla-

mientos se han seleccionado para estudiar la presencia de genes que codifiquen sistemas de eliminación de metales pesados del interior celular. El objetivo sería el de disponer de una colección de rizobios con capacidad de establecer relaciones simbióticas efectivas en condiciones adversas con leguminosas de interés agrícola para la recuperación de suelos de cultivo o mejorar su productividad.

La línea de investigación liderada por el Dr. Vinardell se centra en estudios genómicos y transcriptómicos enfocados en la simbiosis entre *S. fredii* HH103 y la soja. *S. fredii* posee un rango de nodulación extremadamente amplio (más de 100 géneros de leguminosas) que incluye tanto plantas formadoras de nódulos determinados, como la soja, como formadoras de nódulos indeterminados, como *Glycyrrhiza uralensis* (Margaret *et al.*, 2011). Las tres estirpes más estudiadas de *S. fredii* son NGR234, USDA257 y HH103. De todas ellas existe información genómica, y muy recientemente hemos publicado la anotación manual del genoma de HH103, compuesto por 7 replicones diferentes (Vinardell *et al.* 2015). Una interesante diferencia entre estas tres estirpes es su diferente fenotipo simbiótico con la soja, una de las plantas más importantes a nivel agronómico mundial: NGR234 es Fix⁻, USDA257 solo es Fix⁺ con sojas salvajes y variedades asiáticas, mientras que HH103 es Fix⁺ tanto con variedades asiáticas como americanas (mejoradas) de esta leguminosa.

Recientes estudios transcriptómicos (RNA-seq y qPCR) han puesto de manifiesto que alrededor de 100 genes de *S. fredii* HH103 están regulados por flavonoides. Estos genes pueden englobarse en tres grandes grupos: aquellos que dependen de una caja de nodulación, aquellos que dependen de un promotor *tts*, y aquellos que carecen de dichas secuencias promotoras. Muchos de estos genes aún no han sido caracterizados en ningún rizobio. En la actualidad estamos analizando el papel de diversos elementos reguladores (*nodD1*, *nodD2*, *nolR*, *ttsI*, *syrM*) en la expresión de dichos genes. Asimismo estamos interesados en caracterizar el posible papel simbiótico de aquellos genes que hasta la fecha no han sido estudiados en los rizobios.

La línea de investigación liderada por el Dr. Ollero se centra también en el análisis del genoma y el transcriptoma de otro rizobio, *R. tropici* CIAT899. CIAT899 es una estirpe peculiar ya que su plásmido simbiótico contiene 5 copias del gen regulador *nodD* y 3 copias del gen *nodA* (Ormeño-Orillo *et al.*, 2012). Además, es capaz de sintetizar factores de nodulación en respuesta a flavonoides y también en presencia de sal, siendo esta inducción con sal independiente del gen regulador *nodD1*, que sí es el responsable de la inducción de los factores de nodulación en presencia de flavonoides. En estudios previos (del Cerro *et al.*, 2015) se ha demostrado que la mutación en el gen regulador *nodD1* que activa la caja de nodulación adyacente al operón *nodA1BCSUIJHPQ* no impide que la bacteria forme nódulos fijadores de nitrógeno en judía, si bien se induce un menor número de nódulos en esta planta. En cambio, este mutante deja de nodular otras leguminosas hospedadoras como *Leucaena leucocephala* o *Macroptilium atropurpureum*. La mutación en el gen *nodD2* disminuye el número de nódulos

en judía, pero no afecta a la nodulación en *L. leucocephala* y *M. atropurpureum*. Se han obtenido mutantes en los otros genes *nodD* y los estudios realizados indican que el gen *nodD4* parece ser un inhibidor, ya que su mutación hace que la bacteria sintetice una mayor cantidad de factores de nodulación (del Cerro et al., 2015).

Se han llevado a cabo estudios transcriptómicos de CIAT899 en respuesta al flavonoide apigenina y al estrés salino que indican claramente que los genes de nodulación se transcriben a niveles similares en estas dos condiciones de cultivo. En estos estudios se han encontrado genes de función desconocida que están regulados por una caja de nodulación y cuya función en el proceso simbiótico se analizará en estudios posteriores.

En la actualidad se está estudiado el papel que juegan los tres genes *nodA* presentes en el plásmido simbiótico y se está estudiando qué gen es el responsable de la inducción de los factores de nodulación en presencia de 300 mM de NaCl.

Los trabajos de investigación liderados por el Dr. Ruiz-Sainz se centran en el estudio del efecto de diversas mutaciones en genes involucrados en la producción de polisacáridos superficiales y factores de nodulación sobre las propiedades simbióticas de *S. fredii* HH103 con *L. japonicus* y *L. burtii*. También se está estudiando la capacidad simbiótica de *S. fredii* HH103 con una colección de sojas salvajes, ancestros de las sojas usadas en la agricultura moderna.

Finalmente, la línea de investigación liderada por el Dr. López-Baena se centra en el estudio del papel del sistema de secreción de tipo 3 (T3SS) de *S. fredii* HH103 en la simbiosis con diversas leguminosas hospedadoras. El T3SS es un sistema de secreción de proteínas muy especializado utilizado para secretar proteínas, denominadas efectores (o proteínas Nop en el caso de los rizobios), directamente al interior de la célula hospedadora, donde realizan su función. Estos efectores suprimen las respuestas de defensa de la planta para promover la infección y así asegurar la supervivencia de la bacteria dentro del hospedador.

Mediante diversas técnicas (espectrometría de masas, inmunodetección y RNA-seq), se ha determinado por primera vez en un rizobio el conjunto de efectores secretados a través del T3SS. Si bien algunos de estos efectores son similares a efectores presentes en fitopatógenos, otros son específicos de rizobios. Solo algunos de estos efectores han sido caracterizados bioquímicamente y sus dianas en la célula vegetal y su papel en la simbiosis son aún desconocidos. Nuestro grupo de investigación ha demostrado que el T3SS de HH103 está implicado en la supresión de las respuestas de defensa para asegurar una correcta nodulación de las plantas de soja (Jiménez-Guerrero et al., 2015). Actualmente estamos caracterizando todos los efectores de

HH103 e intentando determinar su función en la simbiosis, centrándonos sobre todo en aquellos efectores que carecen de homólogos en patógenos de animales o plantas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alías-Villegas C, Cubo MT, Lara-Dampier V, Bellogín RA, Camacho M, Temprano F, Espuny MR. (2015). Rhizobial strains isolated from nodules of *Medicago marina* in southwest Spain are abiotic-stress tolerant and symbiotically diverse. *Syst Appl Microbiol* 38: 506-14.
- del Cerro P, Rolla-Santos AAP, Gomes DF, Marks B, Pérez-Montaño F, Rodríguez-Carvajal MA, Gil-Serrano A, Megías M, Ollero FJ, Hungria MA. (2015). Regulatory *nodD1* and *nodD2* genes of *Rhizobium tropici* strain CIAT899 and their role in early steps of molecular signaling and host nodulation. *BMC Genomics*, 16: 251.
- del Cerro P, Rolla-Santos AAP, Gomes DF, Marks BM, Espuny MR, Rodríguez-Carvajal MA, Soria-Díaz ME, Nakatani AS, Hungria M, Ollero FJ, Megías M. (2015). Opening the «black box» of *nodD3*, *nodD4* and *nodD5* of *Rhizobium tropici* CIAT899. *BMC Genomics* 16: 864.
- Jiménez-Guerrero I, Pérez-Montaño F, Monreal JA, Preston GM, Fones H, Vioque B, Ollero FJ, López-Baena FJ. (2015). The *Sinorhizobium (Ensifer) fredii* HH103 type 3 secretion system suppresses early defense responses to effectively nodulate soybean. *Mol Plant Microbe Interact* 28: 790-9.
- Margaret I, Becker A, Blom J, Bonilla I, Goesmann A, Göttfert M, Lloret J, Mittard-Runte V, Rückert C, Ruiz-Sainz JE, Vinardell JM, Weidner S. (2011). Symbiotic properties and first analyses of the genomic sequence of the fast growing model strain *Sinorhizobium fredii* HH103 nodulating soybean. *J Biotechnol* 155: 11-19.
- Ormeño-Orrillo E, Menna P, Almeida LG, Ollero FJ, Nicolás FM, Pains Rodrigues E, Shigeyoshi Nakatani A, Silva Batista JS, Oliveira Chueire LM, Souza RC, Ribeiro Vasconcelos AT, Megías M, Hungria M, Martínez-Romero E. (2012). Genomic basis of broad host range and environmental adaptability of *Rhizobium tropici* CIAT 899 and *Rhizobium* sp. PRF 81 which are used in inoculants for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *BMC Genomics* 13: 735.
- Pérez-Montaño F, Guasch-Vidal B, González-Barroso S, López-Baena FJ, Cubo T, Ollero FJ, Gil-Serrano AM, Rodríguez-Carvajal MA, Bellogín RA, Espuny MR. (2011). Nodulation-gene-inducing flavonoids increase overall production of autoinducers and expression of N-acyl homoserine lactone synthesis genes in rhizobia. *Res Microbiol* 162: 715-23.
- Pérez-Montaño F, Jiménez-Guerrero I, Contreras Sánchez-Matamoros R, López-Baena FJ, Ollero FJ, Rodríguez-Carvajal MA, Bellogín RA, Espuny MR. (2013). Rice and bean AHL-mimic quorum-sensing signals specifically interfere with the capacity to form biofilms by plant-associated bacteria. *Res Microbiol* 164: 749-60.
- Vinardell JM, Acosta-Jurado S, Göttfert M, Zehner S, Becker A, Baena-Ropero I, Blom J, Crespo-Rivas JC, Goesmann A, Jaenicke S, Krol E, McIntosh M, Margaret I, Pérez-Montaño F, Schneiker-Bekel S, Serrania J, Szczepanowski R, Buendia-Claveria AM, Lloret J, Bonilla I, Pühler A, Ruiz-Sainz JE, Weidner S. (2015). The *Sinorhizobium fredii* HH103 genome: a comparative analysis with *S. fredii* strains differing in their symbiotic behaviour with soybean. *Mol Plant Microbe Interact* 28: 811-24.

Interacciones planta-microorganismo

Pedro F. Mateos, M^a Encarnación Velázquez, Raúl Rivas, Eustoquio Martínez-Molina

Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca

pfmng@usal.es



Foto de grupo. Algunos de los miembros del grupo «Interacciones Planta-Microorganismo» (de izquierda a derecha): Marta Marcos, Alexandra Díez, Lorena Celador, Xavier Cruz, José David Flores, Sergio Sánchez, Eustoquio Martínez-Molina, Raúl Rivas, M^a Encarnación Velázquez, Lucía López, Esther Menéndez, Paula García y Pedro Mateos.

El Grupo de Investigación Reconocido (GIR) de la Universidad de Salamanca, «INTERACCIONES PLANTA-MICROORGANISMO» se formó y comenzó sus trabajos en la década de los 80, tras la incorporación del Dr. Martínez Molina al Departamento de Microbiología de la Universidad de Salamanca. Desde entonces, el grupo ha crecido y se ha consolidado plenamente, estableciendo colaboraciones productivas y estables con diversos grupos de investigación tanto en España como en el extranjero (EEUU, Inglaterra, Francia, Portugal, Italia, Brasil, Perú, etc.). Además, el grupo tiene el estatus de Unidad Asociada al Departamento de Producción Vegetal del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca del CSIC y ha sido reconocido como Grupo de Excelencia y como Unidad de Investigación Consolidada por la Junta de Castilla y León, formando parte de la Red Nacional de Biotecnología de las asociaciones beneficiosas ente plantas y microorganismos (BIO2009-

05735-E) desde su inicio y siendo grupo fundador de la Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno (SEFIN).

En nuestra opinión, la innovación tecnológica no debe llevarse a cabo a costa de un impacto negativo en el medio ambiente y debe garantizar una gestión sostenible. Por supuesto, el sector agrario no es una excepción y demanda la consolidación de una oferta científica que provoque que la dicotomía entre investigación y desarrollo tecnológico sea cada vez menos evidente. Durante las últimas décadas, nuestro grupo de investigación ha trabajado en este sentido estudiando maximizar la eficacia y productividad de diversos cultivos, ya sea utilizando investigación básica con plantas modelo o investigación aplicada con ensayos de campo. Así, la experiencia acumulada desde hace más de 30 años en el campo de las «Interacciones beneficiosas planta-microorganismo» nos permite afrontar los retos tanto de formación de investigadores como de ejecución

de proyectos básicos y aplicados. En este sentido, durante estos años hemos obtenido financiación para más de 60 proyectos, en convocatorias competitivas tanto nacionales como internacionales y de entidades financiadoras como MEC, DGICYT, FEDER, Junta de Castilla y León, etc., así como derivada de contratos con empresas privadas, que han dado como resultado numerosas publicaciones científicas, más de 10 patentes y la formación de más de 25 doctores.

Entre las aportaciones realizadas por el grupo podemos destacar las siguientes: (a) Análisis de las bases moleculares de las interacciones simbióticas mutualistas microorganismo planta, especialmente el caso *Rhizobium*-leguminosa; (b) Estudio de la biodiversidad, caracterización y análisis de la estructura taxonómica de las poblaciones microbianas implicadas en interacciones con plantas y análisis de poblaciones endófitas de vegetales; (c) Mejora de la producción primaria mediante el diseño y utilización de biofertilizantes microbianos multifuncionales en cultivos de leguminosas y no leguminosas (d) Análisis de agentes de biocontrol directos e indirectos que favorecen la inducción de respuesta defensiva en la planta y (e) Fijación biológica de nitrógeno.

Estas aportaciones han dado lugar a más de 100 artículos en revistas científicas de prestigio (PNAS, ISME, SR, MPMI, SBB, AEM, SAM, IJSEM...) y más de 50 capítulos de libro en editoriales como Elsevier, Wiley, Springer, CRC, etc.; Asimismo hemos presentado más de 200 comunicaciones escritas y más de 50 ponencias en congresos tanto nacionales como internacionales.

En la actualidad las líneas de trabajo que nuestro grupo desarrolla en el ámbito de la interacción beneficiosa microorganismo-planta se pueden resumir en las siguientes:

1. Estudio de la biodiversidad, caracterización y análisis de la estructura taxonómica de poblaciones microbianas implicadas en interacciones microorganismo-planta y análisis de su potencial biotecnológico. Hemos aplicado diferentes técnicas, algunas de ellas desarrolladas en nuestro grupo de investigación como los perfiles de LMW RNA y TP-RAPD, al estudio de dichas poblaciones y hemos desarrollado bases de datos de diferentes grupos de rizobia para MALDI-TOF MS, una técnica que permite la identificación rápida de estas bacterias. Como consecuencia de este tipo de estudios hemos descrito 7 nuevos géneros y más de 50 nuevas especies de bacterias aisladas de diferentes ecosistemas, así como 4 simbiovariedades ligadas a diferentes especies y géneros de rizobia que interactúan con distintas leguminosas.
2. Análisis molecular del sistema de celulasas microbianas en la interacción *Rhizobium*-leguminosa y sus aplicaciones biotecnológicas. Hemos comprobado que la celulasa CelC2 de *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii es esencial en el proceso de infección canónico en trébol, ya que genera un orificio específicamente en el ápice no cristalino del pelo radical, por el cual penetra la bacteria. Por otra parte, el gen *celC*, se encuentra muy conservado dentro del género

Rhizobium y su sobreexpresión provoca la formación de canales de infección y nódulos aberrantes y un aumento de la competitividad de las bacterias. Estos fenotipos son resultado de la hidrólisis incontrolada de la celulosa no cristalina, cuya distribución en la planta se restringe a los puntos de infección primaria y secundaria. Además, la aplicación del enzima purificado altera el patrón de los pulsos de calcio inducidos por los factores de nodulación y la expresión de las nodulinas tempranas lo que origina una disminución en el número de nódulos. Estos datos corroboran la importancia de una estrecha regulación en la producción de enzimas degradativos de la pared celular vegetal en los rizobios para que la nodulación sea efectiva. Por último, también hemos observado que la celulasa CelC2 está involucrada en la biosíntesis de celulosa en *Rhizobium*, que actúa a su vez en la formación de biopelículas tanto *in planta* como *in vitro*. Todos estos resultados confirman la funcionalidad de la celulasa CelC2 en la colonización, infección y nodulación durante el establecimiento de la simbiosis fijadora de nitrógeno en leguminosas.

3. Mejora de la producción primaria en cultivos de leguminosas y no leguminosas mediante el diseño y utilización de inóculos bacterianos como biofertilizantes multifuncionales. Para lograr este objetivo, empleamos diferentes tipos de bacterias que engloban grupos tan diversos como los bacilos Gram positivos esporulados, actinobacterias y los rizobia. En este último caso, el género *Rhizobium* y otros géneros relacionados, además de penetrar a través de los pelos radicales de leguminosas para formar nódulos fijadores de nitrógeno, son importantes endofitos en cereales y otras plantas. Por ello, en los últimos años hemos centrado nuestro interés en su aplicación también en cultivos de no-leguminosas. De hecho, nuestros estudios demuestran la capacidad de promover el crecimiento vegetal por los rizobia, en cultivos tan dispares como el maíz, arroz, trigo, lechuga, zanahoria, tomate, pimiento o fresa. Estos hallazgos hacen muy atractiva la aplicación de *rhizobia* como biofertilizantes, ya que hemos comprobado que estos microorganismos tienen un mayor potencial de unión a las raíces de plantas no leguminosas que otros microorganismos.

PUBLICACIONES SELECCIONADAS DE LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

Armas-Capote N, Pérez-Yépez J, Martínez-Hidalgo P, Garzón-Machado V, Del Arco-Aguilar M, Velázquez E, León-Barrios M. (2014). Core and symbiotic genes reveal nine *Mesorhizobium* genospecies and three symbiotic lineages among the rhizobia nodulating *Cicer canariense* in its natural habitat (La Palma, Canary Islands). Syst Appl Microbiol 37:140-8. doi: 10.1016/j.syapm.2013.08.004.

Cobo-Díaz JF, Martínez-Hidalgo P, Fernández-González AJ, Martínez-Molina E, Toro N, Velázquez E, Fernández-López M. (2014). The endemic *Genista versicolor* from Sierra Nevada National Park in Spain

- is nodulated by putative new *Bradyrhizobium* species and a novel symbiovar (sierranevadense). *Syst Appl Microbiol* 37: 177-85. doi: 10.1016/j.syapm.2013.09.008.
- Díaz-Alcántara CA, Ramírez-Bahena MH, Mulas D, García-Fraile P, Gómez-Moriano A, Peix A, Velázquez E, González-Andrés F.** (2014). Analysis of rhizobial strains nodulating *Phaseolus vulgaris* from Hispaniola Island, a geographic bridge between Meso and South America and the first historical link with Europe. *Syst Appl Microbiol* 37:149-56. doi: 10.1016/j.syapm.2013.09.005.
- Ferreira L, Sánchez-Juanes F, García-Fraile P, Rivas R, Mateos PF, Martínez-Molina E, González-Buitrago JM, Velázquez E.** (2011). MALDI-TOF mass spectrometry is a fast and reliable platform for identification and ecological studies of species from family *Rhizobiaceae*. *PLoS ONE* 6: e20223. doi: 10.1371/journal.pone.0020223.
- Flores-Félix JD, Carro L, Velázquez E, Valverde Á, Cerda-Castillo E, García-Fraile P, Rivas R.** (2013). *Phyllobacterium endophyticum* sp. nov., isolated from nodules of *Phaseolus vulgaris*. *Int J Syst Evol Microbiol* 63: 821-6. doi: 10.1099/ijs.0.038497-0.
- Flores-Félix JD, Silva LR, Rivera LP, Marcos-García M, García-Fraile P, Martínez-Molina E, Mateos PF, Velázquez E, Andrade P, Rivas R.** (2015). Plants probiotics as a tool to produce highly functional fruits: the case of *Phyllobacterium* and vitamin C in strawberries. *PLoS ONE* 10: e0122281. doi: 10.1371/journal.pone.0122281.
- Fonseca MB, Peix A, de Faria SM, Mateos PF, Rivera LP, Simões-Araujo JL, França MG, Isaias RM, Cruz C, Velázquez E, Scotti MR, Sprent JI, James EK.** (2013). Nodulation in *Dimorphandra wilsonii* Rizz. (Caesalpinioideae), a threatened species native to the Brazilian Cerrado. *PLoS ONE* 8. doi: 10.1371/annotation/eba72e14-aebd-494f-8121-7eb9fd8da168.
- García-Fraile P, Carro L, Robledo M, Ramírez-Bahena MH, Flores-Félix JD, Fernández MT, Mateos PF, Rivas R, Igual JM, Martínez-Molina E, Peix A, Velázquez E.** (2012). *Rhizobium* promotes non-legumes growth and quality in several production steps: towards a biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. *PLoS ONE* 7: e38122. doi: 10.1371/journal.pone.0038122.
- García-Fraile P, Mulas-García D, Peix A, Rivas R, González-Andrés F, Velázquez E.** (2010). *Phaseolus vulgaris* is nodulated in northern Spain by *Rhizobium leguminosarum* strains harboring two nodC alleles present in American *Rhizobium etli* strains: biogeographical and evolutionary implications. *Can J Microbiol* 56: 657-66. doi: 10.1139/w10-048.
- García-Fraile P, Silva LR, Sánchez-Márquez S, Velázquez E, Rivas R.** (2013). Plums (*Prunus domestica* L.) are a good source of yeasts producing organic acids of industrial interest from glycerol. *Food Chem* 139: 31-4. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.12.043.
- Martínez-Hidalgo P, Flores-Félix JD, Menéndez E, Rivas R, Carro L, Mateos PF, Martínez-Molina E, León-Barrios M, Velázquez E.** (2015). *Cicer canariense*, an endemic legume to the Canary Islands, is nodulated in mainland Spain by fast-growing strains from symbiovar trifolii phylogenetically related to *Rhizobium leguminosarum*. *Syst Appl Microbiol* 38: 346-50. doi: 10.1016/j.syapm.2015.03.011.
- Martínez-Hidalgo P, Galindo-Villardón P, Trujillo ME, Igual JM, Martínez-Molina E.** (2015). Micromonospora from nitrogen fixing nodules of alfalfa (*Medicago sativa* L.). A new promising Plant Probiotic Bacteria. *Sci Rep.* 5: 8271. doi: 10.1038/srep08271.
- Martínez-Hidalgo P, Ramírez-Bahena MH, Flores-Félix JD, Rivas R, Igual JM, Mateos PF, Martínez-Molina E, León-Barrios M, Peix A, Velázquez E.** (2015) Revision of the taxonomic status of type strains of *Mesorhizobium loti* and reclassification of strain USDA 3471¹ as the type strain of *Mesorhizobium erdmanii* sp. nov. *And ATCC 33669¹* as the type strain of *Mesorhizobium jarvisii* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 65:1703-8. doi: 10.1099/ijs.0.000164.
- Peix A, Ramírez-Bahena MH, Flores-Félix JD, Alonso de la Vega P, Rivas R, Mateos PF, Igual JM, Martínez-Molina E, Trujillo ME, Velázquez E.** (2015). Revision of the taxonomic status of the species *Rhizobium lupini* and reclassification as *Bradyrhizobium lupini* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 65:1213-9. doi: 10.1099/ijs.0.000082.
- Robledo M, Jiménez-Zurdo JI, Soto MJ, Velázquez E, Dazzo F, Martínez-Molina E, Mateos PF.** (2011). *Rhizobium* cellulase CelC2 is essential for primary symbiotic infection of legume host roots. *Mol Plant Microbe Interact* 24:798-807. doi: 10.1094/MPMI-10-10-0249.
- Robledo M, Rivera L, Jiménez-Zurdo JI, Rivas R, Dazzo F, Velázquez E, Martínez-Molina E, Hirsch AM, Mateos PF.** 2012. Role of *Rhizobium* endoglucanase CelC2 in cellulose biosynthesis and biofilm formation on plant roots and abiotic surfaces. *Microb Cell Fact* 11: 125. doi: 10.1186/1475-2859-11-125.
- Robledo M, Velázquez E, Ramírez-Bahena MH, García-Fraile P, Pérez-Alonso A, Rivas R, Martínez-Molina E, Mateos PF.** (2011). The *celC* gene, a new phylogenetic marker useful for taxonomic studies in *Rhizobium*. *Syst Appl Microbiol* 34:393-9. doi: 10.1016/j.syapm.2011.01.010.
- Sánchez-Juanes F, Ferreira L, Alonso de la Vega P, Valverde A, Barrios ML, Rivas R, Mateos PF, Martínez-Molina E, González-Buitrago JM, Trujillo ME, Velázquez E.** (2013). MALDI-TOF mass spectrometry as a tool for differentiation of *Bradyrhizobium* species: application to the identification of *Lupinus* nodulating strains. *Syst Appl Microbiol* 36:565-71. doi: 10.1016/j.syapm.2013.09.003.
- Silva LR, Azevedo J, Pereira MJ, Carro L, Velázquez E, Peix A, Valentão P, Andrade PB.** (2014). Inoculation of the nonlegume *Capsicum annuum* (L.) with *Rhizobium* strains. 1. Effect on bioactive compounds, antioxidant activity, and fruit ripeness. *J Agric Food Chem* 62:557-64. doi: 10.1021/jf4046649.
- Silva LR, Azevedo J, Pereira MJ, Carro L, Velázquez E, Peix A, Valentão P, Andrade PB.** (2014). Inoculation of the nonlegume *Capsicum annuum* L. with *Rhizobium* strains. 2. Changes in sterols, triterpenes, fatty acids, and volatile compounds. *J Agric Food Chem* 62:565-73. doi: 10.1021/jf4046655.
- Silva LR, Pereira MJ, Azevedo J, Mulas R, Velázquez E, González-Andrés F, Valentão P, Andrade PB.** (2013). Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* enhances the organic and fatty acids content of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seeds. *Food Chem.* 141: 3636-48. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.06.045.
- Valverde A, Velázquez E, Cervantes E, Igual JM, van Berkum P.** (2011). Evidence of an American origin for symbiosis-related genes in *Rhizobium lusitanum*. *Appl Environ Microbiol* 77: 5665-70. doi: 10.1128/AEM.02017-10.
- Velázquez E, Palomo JL, Rivas R, Guerra H, Peix A, Trujillo ME, García-Benavides P, Mateos PF, Wabiko H, Martínez-Molina E.** (2010). Analysis of core genes supports the reclassification of strains *Agrobacterium radiobacter* K84 and *Agrobacterium tumefaciens* AKE10 into the species *Rhizobium rhizogenes*. *Syst Appl Microbiol* 33: 247-51. doi: 10.1016/j.syapm.2010.04.004.
- Velázquez E, Valverde A, Rivas R, Gomis V, Peix A, Gantois I, Igual JM, León-Barrios M, Willems A, Mateos PF, Martínez-Molina E.** (2010). Strains nodulating *Lupinus albus* on different continents belong to several new chromosomal and symbiotic lineages within *Bradyrhizobium*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 97: 363-76. doi: 10.1007/s10482-010-9415-7.

Mecanismos de adaptación de *P. fluorescens* F113 al ambiente rizosférico

Rafael Rivilla y Marta Martín

Departamento de Biología. Universidad Autónoma de Madrid

rafael.rivilla@uam.es



Foto de grupo. Grupo Rizofera. De izquierda a derecha: Irene Baena, Candela Muriel, Miguel Redondo-Nieto, Rafael Rivilla, Marta Martín, Francisco Martínez-Granero, María Sánchez-Contreras, Daniel Garrido-Sanz, Javier Lloret y Eva Arrebola.

La rizosfera es un nicho ecológico complejo en el que gracias a la presencia de la planta se desarrollan multitud de microorganismos en mayor proporción que en el suelo no rizosférico. Muchas de las bacterias que viven asociadas a la rizosfera de las plantas (rizobacterias) son capaces de mejorar el estado fisiológico de las mismas (PGPRs de *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) y por tanto tienen diversos usos biotecnológicos en sistemas integrados planta/microorganismo. Las pseudomonas fluorescentes son un grupo de rizobacterias que engloban especies utilizadas en biocontrol de patógenos de plantas y también en biorremediación de suelos contaminados. En nuestro laboratorio trabajamos con la rizobacteria *Pseudomonas fluorescens* F113 que fue aislada de la rizosfera de remolacha y se utiliza como agente de control biológico gracias a que entre otros metabolitos secundarios produce diacetilfluoroglucinol (DAPG) un potente antifúngico de amplio espectro. Además,

la hemos modificado genéticamente mediante la introducción de los genes *bph* que codifican las enzimas de degradación de PCBs (Villacieros *et al.*, 2005; Aguirre de Cárcer *et al.*, 2007 a, b). En cualquier caso, la eficacia de las aplicaciones biotecnológicas de las pseudomonas depende de su capacidad para colonizar competentemente la rizosfera. En nuestro laboratorio hemos demostrado que el incremento de las cualidades competitivas de *P. fluorescens* F113 durante el proceso de colonización de la raíz, mejora sustancialmente el biocontrol ejercido por F113 en dos patosistemas diferentes (Barahona *et al.*, 2011).

P. fluorescens F113 es una bacteria que coloniza muchas plantas de interés agrícola y está siendo utilizada como bacteria modelo en estudios de colonización (Villacieros *et al.*, 2003; Capdevila *et al.*, 2004; Barahona *et al.*, 2010). Hemos observado la importancia de tres caracteres para que F113 mantenga su competitividad y persista durante un

cierto tiempo en un nicho ecológico cambiante como es el rizosférico. Estos son: la variación de fase, el movimiento y la formación de biopelículas. Cuando *P. fluorescens* F113 coloniza la raíz de la planta sufre un fenómeno de diversificación de la población en distintos morfotipos denominado variación de fase (Sánchez-Contreras *et al.*, 2002). La aparición de las variantes de fase está ocasionada por la acción de dos recombinasas específicas de sitio (Martínez-Granero *et al.*, 2005) y hemos observado que presentan características de hipermovilidad (Martínez-Granero *et al.*, 2006). Esta es la razón por la que comenzamos a estudiar la regulación del movimiento en F113. En un principio centramos nuestro trabajo en la regulación de la síntesis del aparato flagelar típico de *Pseudomonas* (Capdevila *et al.*, 2004; Redondo-Nieto *et al.*, 2008; Navazo *et al.*, 2009) pero la secuenciación del genoma de F113 reveló que esta cepa tenía además de los genes que codifican el aparato flagelar de *Pseudomonas*, un conjunto de genes que codificaban un segundo aparato flagelar cuya secuencia es más similar a la de los genes del flagelo de *Azotobacter* (Redondo-Nieto *et al.*, 2012 y 2013). Este segundo flagelo no se expresa en condiciones de laboratorio; sin embargo, se selecciona durante el proceso de colonización de la rizosfera ya que hemos observado su expresión en las variantes de fase. La regulación de la síntesis de este segundo aparato flagelar también ha sido estudiada y pensamos que tiene gran importancia en el aumento de competitividad por parte de F113 durante el proceso de colonización de la raíz. Además de estos mecanismos de regulación, la movilidad depende de la quimiotaxis. Hemos encontrado que en F113 y otras cepas relacionadas existen tres sistemas de quimiotaxis (Redondo-Nieto *et al.*, 2013), frente a los dos habituales en otras pseudomonas, como *P. aeruginosa*. El análisis de mutantes afectados en cada uno de estos tres sistemas nos ha permitido demostrar que los tres son funcionales e independientes y que son necesarios para la colonización competitiva de la rizosfera (Muriel *et al.*, 2015). Por otro lado, también hemos analizado los mecanismos de transducción de señal que intervienen en la regulación de la función flagelar (Martínez-Granero *et al.*, 2012; Martínez-Granero *et al.*, 2014a). En este sentido hemos encontrado que la molécula señal diGMPc juega un papel muy importante. Los niveles de diGMPc definen estilos de vida bacterianos. Cuando sus niveles son altos, la bacteria tiene una tendencia al estilo de vida sésil hacia la formación de biopelículas. Por el contrario, cuando los niveles de diGMPc son bajos se favorece el estilo de vida móvil. Las diguanilato ciclasas y fosfodiesterasas son las enzimas encargadas de mantener los niveles de diGMPc intracelulares en respuesta a las condiciones ambientales. El genoma de F113 cuenta con más de 30 proteínas que contienen los dominios característicos de estas enzimas. Hemos observado la implicación de algunas de ellas en los mecanismos de transducción de señal que regulan el movimiento en F113 (Navazo *et al.*, 2009; Martínez-Granero *et al.*, 2012 y 2014a). También hemos analizado la existencia de una proteína, que cuenta con un dominio sensor de diGMPc (Martínez-Granero *et al.*, 2014a). Esta proteína interviene en la regulación de la

transición entre estilo de vida sésil y móvil e interacciona con el motor flagelar en respuesta a los niveles de diGMPc (Martínez-Granero *et al.*, 2014a).

El análisis de la regulación del movimiento y la función flagelar ha permitido observar la existencia en F113 de una red muy compleja de señalización en respuesta al ambiente rizosférico. Esta red presenta un nodo central que conecta todas las respuestas y que está formado por el factor sigma AlgU y la proteína AmrZ (Martínez-Granero *et al.*, 2012). Por ello, llevamos a cabo una inmuno-precipitación de cromatina (ChIP-seq) utilizando la proteína AmrZ como cebo y la posterior secuenciación masiva ha revelado la existencia de al menos 154 genes que interaccionan con AmrZ (Martínez-Granero *et al.*, 2014b). Muchos de los genes regulados por AmrZ han sido descritos como proteínas implicadas en la adaptación al ambiente y entre ellos se encuentran muchas de las que intervienen en la homeostasis del hierro y en la síntesis y degradación del diGMPc. Resultados similares han sido obtenidos para la proteína AmrZ de *Pseudomonas aeruginosa* (Jones *et al.*, 2014). Los resultados de ambos grupos muestran que AmrZ es uno de los reguladores globales más importantes que intervienen en las respuestas de las pseudomonas a los cambios ambientales.

El conocimiento adquirido sobre cómo la rizobacteria *P. fluorescens* F113 se adapta al ambiente rizosférico nos ha permitido diseñar modificaciones que han aumentado su capacidad de colonización competitiva y sus cualidades como bacteria promotora del crecimiento de las plantas. Por otro lado, nos permite dirigir nuestra búsqueda de nuevos inoculantes bacterianos naturales que contengan estos caracteres de interés con el objeto de asegurar su eficacia en aplicaciones en sistemas integrados planta microorganismo tanto para rizerremediación como para una agricultura más sostenible.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre de Cárcer D, Martín M, Karlson U. y Rivilla R. (2007a). Change in bacterial populations and in biphenyl-dioxygenase gene diversity in a polychlorinated biphenyl-polluted soil after introduction of Willow trees for rhizoremediation. *Appl Environ Microbiol* 73: 6224-32.
- Aguirre de Cárcer D, Martín M, Mackova M, Macek R, Karlson U, Rivilla R. (2007b). The introduction of genetically modified microorganisms designed for rhizoremediation induces changes on native bacteria in the rhizosphere but not in the surrounding soil. *The ISME J.* 1: 215-23.
- Barahona E, Navazo A, Yousef-Coronado F, Aguirre de Cárcer D, Martínez-Granero F, Espionosa-Urgel M, Martín M, Rivilla R. (2010). Efficient rhizosphere colonization by *Pseudomonas fluorescens* f113 mutants unable to form biofilms on abiotic surfaces. *Environ Microbiol* 12: 3185-95.
- Barahona E, Navazo A, Martínez-Granero F, Zea-Bonilla T, Pérez-Jiménez R, Marta M. y Rivilla R. (2011). A *P. fluorescens* F113 mutant with enhanced competitive colonization ability shows improved biocontrol activity against fungal root pathogens. *Appl Environ Microbiol* 77: 5412-9.
- Capdevila S, Martínez-Granero F, Sánchez-Contreras M, Rivilla R. y Martín M. (2004). Analysis of *P. fluorescens* F113 genes implicated in flagella filament synthesis and their role in competitive root colonization. *Microbiology* 150: 3889-97.

- Jones C.J, Newsom D, Kelly B, Irie Y, Jennings L.K, Xu B, Limoli D.H, Harrison J.J, Parsek M.R, White P, Wozniak D.J. (2014). ChIP-Seq and RNA-Seq reveal an AmrZ-mediated mechanism for cyclic di-GMP synthesis and biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathog.* 10:e1003984.
- Martínez-Granero F, Capdevila S, Sánchez-Contreras M, Martín M, Rivilla R. (2005). Two site-specific recombinases are implicated in phenotypic variation and competitive rhizosphere colonization in *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiology* 151: 975-83.
- Martínez-Granero F, Rivilla R, Martín M. (2006). Rhizosphere selection of highly motile phenotypic variants of *P. fluorescens* with enhanced competitive colonization ability. *Appl Environ Microbiol* 72: 3429-34.
- Martínez-Granero F, Navazo N, Barahona E, Redondo-Nieto M, Rivilla R, Martín M. (2012). The Gac-Rsm and SadB signal transduction pathways converge on AlgU to downregulate motility in *Pseudomonas fluorescens*. *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0031765
- Martínez-Granero F, Navazo A, Barahona E, Redondo-Nieto M, Gonzalez de Heredia E, Baena I, Martín-Martín I, Rivilla R, Martín M. (2014a). Identification of *flgZ* as a flagellar gene encoding a PilZ domain protein that regulates swimming motility and biofilm formation in *Pseudomonas*. *PLoS ONE* 9: e87608.
- Martínez-Granero F, Redondo-Nieto M, Vesga P, Martín M, Rivilla R. (2014b). AmrZ is a global transcriptional regulator implicated in iron uptake and environmental adaptation in *P. fluorescens* F113. *BMC Genomics* 15: 237.
- Muriel C, Jalvo B, Redondo-Nieto M, Rivilla R, Martín M. (2015). Chemotactic motility of *Pseudomonas fluorescens* F113 under aerobic and denitrification conditions. *PLoS ONE* 10: e0132242
- Navazo A, Barahona E, Redondo-Nieto M, Martínez-Granero F, Rivilla R, Martín M. (2009). Three independent signaling pathways repress motility in *Pseudomonas fluorescens* F113. *Microbial Biotech* 2: 489-98.
- Redondo-Nieto M, Lloret J, Larenas J, Barahona E, Navazo A, Martínez-Granero F, Capdevila S, Rivilla R, Martín M. (2008). Transcriptional organization of the Region encoding the synthesis of the flagellar filament in *P. fluorescens*. *J Bacteriol* 190: 4106-9.
- Redondo-Nieto M, Barret M, Morrisey J, Germaine K, Martínez-Granero F, Barahona E, Navazo A, Sánchez-Contreras M, Moynihan J, Giddens S, Coppoolse E, Muriel C, Stiekema W, Rainey P, Dowling D, O'Gara F, Martín M, Rivilla R. (2012). Genome sequence of the biocontrol strain *P. fluorescens* F113. *J Bacteriol* doi : 10.1128/JB.06601-11
- Redondo-Nieto M, Barret M, Morrisey J, Germaine K, Martínez-Granero F, Barahona E, Navazo A, Sánchez-Contreras M, Moynihan J, Muriel C, Dowling D, O'Gara F, Martín M, Rivilla R. (2013). Genome sequence reveals that *Pseudomonas fluorescens* F113 possesses a large and diverse array of systems for rhizosphere function and host interaction. *BMC Genomics* 14:54.
- Sánchez-Contreras, M, Martín M, Villacieros M, O'Gara F, Bonilla I, y Rivilla R. (2002). Phenotypic selection and phase variation occur during alfalfa root colonization by *P. fluorescens* F113. *J. Bacteriol* 184: 1587-1596.
- Villacieros M, Power B, Sánchez-Contreras M, Lloret J, Oruezabal RI, Martín M, Fernández-Piñas F, Bonilla I, Whelan C, Dowling D, Rivilla R. (2003). Colonization behaviour of *Pseudomonas fluorescens* and *Sinorhizobium meliloti* in the alfalfa (*Medicago sativa*) rhizosphere *Plant and Soil* 251: 47- 54.
- Villacieros M, Whelan C, Mackova M, Molgaard J, Sánchez-Contreras M, Lloret J, Aguirre de Cárcer D, Oruezabal R, Bolaños L, Macek T, Karlson U, Dowling D, Martín M, Rivilla R. (2005). Polychlorinated biphenyl rhizoremediation by *P. fluorescens* F113 derivatives, using a *S. meliloti* nod system to drive *bph* gene expression. *Appl Environ Microbiol* 71: 2687-94.



Sigue a la  SEM

www.semicrobiologia.org

Mecanismos de activación y evasión de defensas mediados por efectores tipo III en *Pseudomonas syringae*

Carmen R. Beuzón y Javier Ruiz-Albert

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora» – Universidad de Málaga – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Depto. Biología Celular, Genética y Fisiología, Campus de Teatinos, 29071 Málaga

cbeuzon@uma.es



Foto de grupo. De izquierda a derecha: Nieves López Pagán, Diego López Márquez, Carmen R. Beuzón, Javier Ruiz Albert y Javier Rueda Blanco.

P*seudomonas syringae* es una bacteria Gram-negativa, patógena de plantas, que se clasifica en patovares según su especificidad de hospedador. *P. syringae* está vinculada al ciclo del agua pudiendo alcanzar la superficie de la hojas a través de precipitaciones. Una vez en la superficie de la hoja puede sobrevivir epifíticamente o penetrar en su interior a través de aperturas naturales como estomas o heridas, y crecer activamente en el apoplasto, causando en este caso enfermedad. La infección por este patógeno determina pérdidas económicas importantes pudiendo afectar gravemente tanto a la producción neta como a la

calidad. Las estrategias de prevención habituales, a menudo insuficientes, poco eficientes y/o contaminantes, consisten en el uso de tratamientos químicos con base de cobre, el uso de material vegetal libre de patógeno, la rotación de cultivos, y en el cultivo de variedades tradicionalmente más resistentes. El desarrollo de nuevas estrategias de control de las enfermedades causadas por este patógeno es por tanto necesario y de interés económico, y requiere de un mayor conocimiento tanto de los mecanismos de virulencia del patógeno como de los mecanismos de defensa contra el mismo. Nuestro equipo lleva más de 10 años dedicado

al análisis de la interacción entre *P. syringae* y la planta, siguiendo diversas aproximaciones experimentales, dirigidas por Carmen R. Beuzón y/o Javier Ruiz-Albert, y para lo cual han establecido numerosas colaboraciones dentro y fuera del país.

El éxito de *P. syringae* en la colonización y desarrollo de la enfermedad en un determinado huésped viene determinado por la capacidad del patógeno de evadir y/o suprimir defensas. *P. syringae* suprime la respuesta de defensa mediante un conjunto de proteínas conocidas como efectores, que la bacteria introduce en el citosol de la célula huésped a través de un sistema de secreción de tipo III (type III secretion system o T3SS). Los T3SS son sistemas complejos cuya estructura básica está muy conservada entre patógenos de animales y de plantas. La expresión de los genes que codifican los componentes del T3SS y sus efectores, se activa tras la entrada de la bacteria en el apoplasto, y está sujeta a una compleja regulación que combina reguladores negativos y positivos. Nuestro laboratorio ha caracterizado dicha regulación en la estirpe modelo *P. syringae* pv. *phaseolicola* 1448a (en adelante *Pph* 1448a) (Ortiz-Martín *et al.*, 2006; Ortiz-Martín *et al.*, 2010a; Ortiz-Martín *et al.*, 2010b). Más recientemente estamos trabajando en dos líneas relacionadas con la regulación: el análisis de la regulación del proceso de secreción, su jerarquía y señalización, y su expresión biestable durante la infección mediante el uso de fusiones transcripcionales a marcadores fluorescentes y métodos de análisis de células individuales (microscopía confocal y citometría de flujo).

Las estirpes de *P. syringae* codifican entre 15 y 35 efectores, según estirpe y patovar. Durante estos años, nuestro equipo ha desarrollado herramientas moleculares con las que hemos contribuido a completar el inventario de efectores de *Pph* 1448a (Macho *et al.*, 2009; Zumaquero *et al.*, 2010), y generado mutantes individuales para la mayoría de ellos, tanto en *Pph* 1448a como en la estirpe modelo *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 (en adelante *Pto* DC3000). También hemos adaptado metodología de análisis de la virulencia previamente desarrollada en patógenos animales (Beuzón y Holden, 2001), al análisis de la virulencia en *P. syringae* y otras bacterias fitopatógenas como el patógeno de cuarentena *Ralstonia solanacearum* (Macho *et al.*, 2007; Macho *et al.*, 2010a). Esta metodología se basa en el uso de infecciones mixtas para analizar niveles de virulencia mediante índices de competitividad, lo que nos ha permitido analizar la contribución a la virulencia de todos los mutantes en efectores generados en *Pph* 1448a (Macho *et al.*, 2012) y, variando las dosis y condiciones, analizar interferencias de relevancia biológica e informativas a nivel molecular.

Las plantas responden al ataque de *P. syringae* siguiendo dos líneas de defensa, según el tipo de moléculas del patógeno que sean detectadas. La planta detecta inicialmente moléculas muy conservadas, denominadas genéricamente PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*), mediante receptores de membrana denominados genéricamente PRRs (*Pattern-Recognition Receptors*), que disparan una respuesta de defensa conocida como PTI (*PAMP-Triggered Immunity*).

La activación de la respuesta PTI es rápida, pero su intensidad va incrementándose con el tiempo, lo cual resulta adecuado en una respuesta de inmunidad que no discrimina entre bacterias patógenas y no patógenas. Esta cinética permite a los patógenos adaptados suprimirla antes de que la señal se haya amplificado lo suficiente como para proteger a la planta frente al patógeno. Trabajos recientes de diferentes laboratorios, destinados a la caracterización funcional de efectores en diferentes patovares de *P. syringae*, han demostrado que muchos de estos efectores son capaces de suprimir defensas de tipo PTI cuando se sobreexpresan en sistemas heterólogos o directamente en la planta.

Un microorganismo invasor también puede ser reconocido a través de sus efectores. Este tipo de reconocimiento es indirecto, siendo su base la detección de las modificaciones que el efector lleva a cabo sobre sus dianas en la planta, y lo realizan receptores intracelulares del tipo NB-LRR (*Nucleotide-Binding, Leucine-Rich Repeat-containing proteins*), conocidos como proteínas de resistencia (proteínas R). Esto da lugar a una respuesta de elevada intensidad denominada ETI (*Effector-Triggered Immunity*) asociada habitualmente al disparo de un proceso de muerte celular programada, conocida como respuesta de hipersensibilidad (Hypersensitive Response o HR). En contraste con las PAMPs, los efectores son moléculas características de patógenos, cuyo reconocimiento provoca una respuesta de defensa rápida e intensa. La respuesta ETI es más eficaz frente a patógenos adaptados ya que por su mayor rapidez e intensidad, es más difícil de suprimir por el patógeno (Kata-giri y Tsuda, 2010). La capacidad de suprimir ETI también ha sido descrita para algunos efectores siguiendo el tipo de aproximaciones usadas para la supresión de PTI. Tanto PTI como ETI puede estar asociadas al disparo de inmunidad sistémica (Systemic Acquired Resistance o SAR) (Cameron *et al.*, 1994), que protege a regiones distales de la planta frente a nuevas infecciones.

Nuestro laboratorio ha descrito un efector capaz de suprimir los tres niveles de defensa PTI, ETI y SAR: el efector HopZ1a de *P. syringae* pv. *syringae*, miembro de la familia de efectores caracterizada por el efector de *Yersinia pestis* YopJ. HopZ1a es capaz de suprimir la ETI disparada frente a diferentes efectores, dependientes de diferentes proteínas R, e inducidas a través de todas las cascadas de señalización conocidas hasta la fecha, incluyendo a las defensas basales disparadas por el patógeno *Pto* DC3000 durante el desarrollo de la enfermedad (Macho *et al.*, 2010b; Macho y Beuzón, 2010). HopZ1a es también capaz de suprimir la inmunidad sistémica o SAR. Esto apoya un mecanismo de acción generalista y sugiere que HopZ1 actúa sobre un elemento común a todas estas defensas, en cuya identificación y caracterización estamos trabajando actualmente.

La actividad supresora de los efectores es habitualmente ensayada en sistemas heterólogos y mediante sobreexpresión (Rosebrock *et al.*, 2007; Ntoukakis *et al.*, 2009; Wilton *et al.*, 2010). No obstante, el elevado número de efectores con capacidad de suprimir defensas sugiere que la supresión se lleva a cabo de forma mediante un proceso aditivo, donde la supresión cruzada de defensas tipo

ETI entre efectores de un mismo patógeno podría tener un papel determinante en el proceso de adaptación del patógeno a su hospedador. Dicha supresión cruzada podría representar una estrategia alternativa de adaptación al hospedador, frente a estrategias evolutivas generalmente consideradas, como la pérdida del efector detectado, o su mutación (patoadaptación). El estudio de esta vía evolutiva constituye otra de las líneas de investigación del laboratorio. Dentro de esta línea, hemos generado bacterias marcadas con diferentes fluoróforos que nos permiten el seguimiento del proceso de colonización y proliferación en poblaciones simples y mixtas (Figura 1).

Finalmente, los avances actuales en el conocimiento de los procesos epigenéticos que controlan la expresión génica en plantas, así como en la descripción molecular

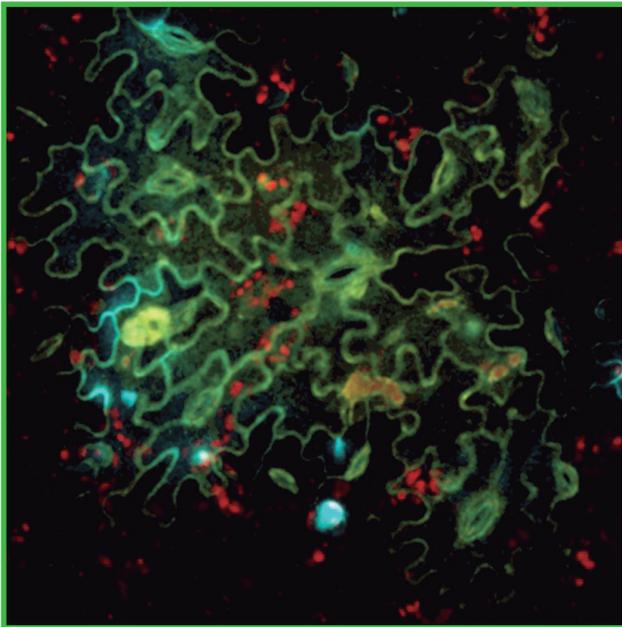


Figura 1. Imagen de microscopía confocal de una hoja de judía (*Phaseolus vulgaris*) 5 días después de ser inoculada con una estirpe de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* avirulenta en este cultivar. En la imagen se observa una microcolonia de la bacteria (marcada mediante Tn7 para expresar eYFP y por tanto amarilla) rodeada de un área donde las células de la planta que han activado la respuesta hipersensible acumulan compuestos fenólicos autofluorescentes en su pared celular.

de los procesos de silenciamiento génico, y de la implicación de estos en la defensa frente a diferentes patógenos, nos ha llevado a establecer colaboraciones como las desarrolladas con Eduardo Rodríguez Bejarano y Araceli Castillo Garriga (ambos de la Universidad de Málaga) para caracterizar el papel de estos en la defensa frente a *P. syringae*, y del papel de los efectores tipo III en la modificación de las marcas epigenéticas de la planta y de la regulación por pequeños RNAs como mecanismos de supresión de defensas.

BIBLIOGRAFÍA

- Macho AP, Zumaquero A, Ortiz-Martín I, Beuzón CR.** (2007). Competitive Index: a sensitive and accurate method to quantify growth of *Pseudomonas syringae* in different hosts. *Mol Plant Pathol* 8: 437-50.
- Macho AP, Ruiz-Albert J, Tornero P, Beuzón CR.** (2009). Identification of new type III effectors and analysis of the plant response by competitive index. *Mol Plant Pathol* 10: 69-80.
- Macho AP, Beuzón CR.** (2010). Insights into plant immunity signaling: The bacterial competitive index angle. *Plant Signal Behav* 5: 1590-1593.
- Macho AP, Guidot A, Barberis P, Beuzón CR, Genin S.** (2010a). A competitive index assay identifies several *Ralstonia solanacearum* type III effector mutant strains with reduced fitness in host plants. *Mol Plant Microb Interact* 23: 1197-205.
- Macho AP, Guevara CM, Tornero P, Ruiz-Albert J, Beuzón CR.** (2010b). The *Pseudomonas syringae* effector proteína HopZ1a suppresses effector-triggered immunity. *New Phytol* 187: 1018-1033.
- Macho AP, Zumaquero A, González-Plaza JJ, Ortiz-Martín I, Rufián JS, Beuzón CR.** (2012). Genetic Analysis of the Individual Contribution to Virulence of the Type III Effector Inventory of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *PLoS One* 7: e35871.
- Ortiz-Martín I, Macho AP, Lambersten L, Ramos C y Beuzón CR.** (2006). Suicide vectors for antibiotic marker exchange and rapid generation of multiple knockout mutants by allelic exchange in Gram-negative bacteria. *J Microbiol Meth* 67:395-407.
- Ortiz-Martín I, Thwaites R, Macho AP, Mansfield JW, Beuzón CR.** (2010a). Positive Regulation of the Hrp Type III Secretion System in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Mol Plant Microbe Interact* 23: 665-81.
- Ortiz-Martín I, Thwaites R, Mansfield JW, Beuzón CR.** (2010b). Negative Regulation of the Hrp Type III Secretion System in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Mol Plant Microbe Interact* 23: 682-701.
- Rufián JS, Lucía A, Macho AP, Orozco-Navarrete B, Arroyo-Mateos M, Bejarano ER, Beuzón CR, Ruiz-Albert J.** (2015) Auto-acetylation on K289R is not essential for HopZ1a-mediated plant defense suppression. *Front Microbiol.* 6:684.
- Zumaquero A, Macho AP, Rufián JS, Beuzón CR.** (2010). Analysis of the role of the type III secretion inventory in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448a in the interaction with the plant. *J Bacteriol* 192: 4474-88.

Trichoderma y su aplicación en agricultura como agente de control biológico y como hongo beneficioso para las plantas

Enrique Monte y Rosa Hermosa

Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE). Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca. Río Duero 12, Campus de Villamayor. 37185 Salamanca

emv@usal.es

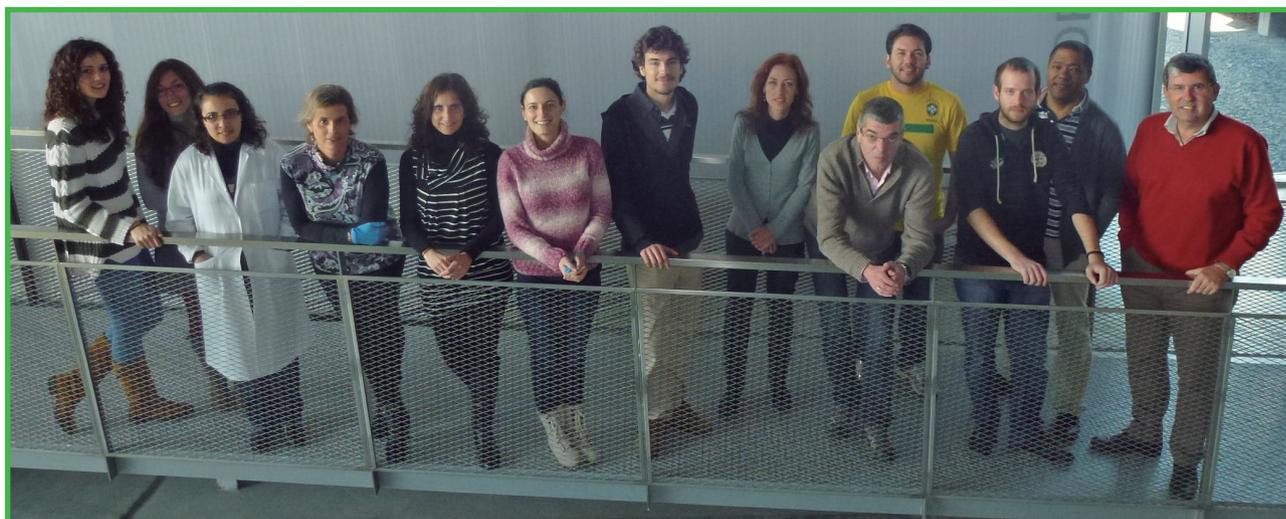


Foto de grupo. M^a Cruz Cardeñosa, Raquel Martín, Isabel Chamorro, Belén Rubio, Ana Alonso, Irene Carrero, Javier A. Pardal, Rosa Hermosa, Carlos Nicolás, Hugo de Medeiros, Jorge Poveda, Esclaudys Pérez y Enrique Monte.

El grupo «Fitopatología y Control Biológico» está liderado por Enrique Monte, catedrático de Microbiología, y posee la mención de Grupo Reconocido de Investigación por la Universidad de Salamanca, y Grupo de Excelencia y Unidad de Investigación Consolidada por la Junta de Castilla y León. El grupo nació en el Departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca en 1989, con Isabel García Acha, profesora de investigación del CSIC, y con Enrique Monte, tras su regreso como postdoc en el Reino Unido, y creció con las primeras investigadoras que realizaron sus tesis doctorales con hongos del género

Trichoderma como agente de control biológico (Grondona *et al.*, 1997; Hermosa *et al.*, 2000). Desde entonces, venimos trabajando con este hongo debido a su interés como alternativa a agroquímicos en agricultura biológica y en sistemas de producción integrada. Hemos abordado ámbitos tan diversos como la microbiología, bioquímica, ecología, fitopatología, genómica funcional y estructural, proteómica, transcriptómica y, en época más reciente, el diálogo molecular de *Trichoderma* con las plantas, bien como inductor de respuestas de defensa frente a patógenos y estreses ambientales, o como fertilizante y promotor del

crecimiento, dando como resultado incrementos significativos de producción en plantas cultivadas.

Este tipo de investigación, eminentemente aplicada, ha dado lugar a varias patentes y a la creación de empresas y puestos de trabajo, y sentado las bases para conseguir el primer fungicida biológico registrado en España (TUSAL[®]), además de haber servido para formar parte del consorcio internacional que consiguió el registro de distintas formulaciones de *Trichoderma* en la UE, y para recibir los premios Severo Ochoa de la Fundación príncipe de Asturias (1999), Mecenas del Consejo Social de la Universidad de Salamanca (2002) y Fleming de la SEM (2007). Las spin-off del grupo siguen generando conocimiento y la infraestructura científica de una de ellas permitió que lideráramos e impulsáramos los primeros estudios de genómica funcional de *Trichoderma* spp. (Vizcaíno *et al.*, 2006). En 2001, fuimos uno de los laboratorios fundadores del Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE) y en ese mismo año se integró en nuestro grupo Santiago Gutiérrez, profesor titular de Microbiología de la Universidad de León. En 2002, finalizado un postdoc en Italia, Rosa Hermosa se incorporó como Investigadora Cajal y luego como profesora titular de Microbiología, responsabilizándose de la puesta a punto de herramientas ómicas (Morán-Díez *et al.*, 2009; Kubicek *et al.*, 2011) y de la interacción molecular *Trichoderma*-planta (Hermosa *et al.*, 2012). En 2005, incorporamos a Carlos Nicolás, profesor titular de Fisiología Vegetal, como experto en regulación hormonal y respuesta bioquímica de la planta, para llevar a cabo análisis funcionales de genes de *Trichoderma* en el sistema modelo de *Arabidopsis*. En la actualidad, disponemos de varias líneas de plantas transgénicas que sobreexpresan genes de *Trichoderma* (Nicolás *et al.*, 2014). Desde 2007, la Dra. Belén Rubio, actualmente profesora contratada doctor, trabaja en el análisis transcriptómico de *Trichoderma* en interacción con plantas, en metabolismo de nitrógeno y en la obtención de mutantes nulos para genes de interés en *Trichoderma*. Entre las contribuciones más recientes del grupo destacan el establecimiento de las bases de la investigación traslacional en materia de control biológico con *Trichoderma* (Lorito *et al.*, 2010), la constatación mediante genómica comparada del micoparasitismo como un estilo de vida ancestral de *Trichoderma* respecto a la colonización endofítica de plantas (Druzhinina *et al.*, 2011), el establecimiento de un modelo de diálogo molecular *Trichoderma*-planta (Hermosa *et al.*, 2012), la comprobación de que la inducción de defensas provocada por *Trichoderma* en las plantas tiene una dinámica ondulante (Rubio *et al.*, 2014), la demostración de que el ácido salicílico es la molécula clave de las plantas para dirigir los movimientos de colonización endofítica de *Trichoderma* en las raíces (Alonso-Ramírez *et al.*, 2014), que *Trichoderma* y el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* establecen una interacción molecular en el que sesquiterpenos y policétidos establecen un diálogo metabólico (Malmierca *et al.*, 2015a), que la ruta biosintética de esteroides y los niveles de los mismos en la membrana de *Tricho-*

derma es fundamental para la expresión de genes de defensa en la planta (Malmierca *et al.*, 2015b) y que la regulación de una ruta principal del metabolismo primario de *Trichoderma* puede modular la producción de metabolitos secundarios y afectar el potencial de biocontrol (Pérez *et al.*, 2015).

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Ramírez A, Poveda J, Martín JI, Hermosa R, Monte E, Nicolás C. (2014). Salicylic acid prevents *Trichoderma harzianum* from entering the vascular system of the roots. *Mol Plant Pathol* 15: 823-31.
- Druzhinina IS, Seidl-Seiboth V, Herrera-Estrella A, Horwitz BA, Kenerley CM, Monte E, Mukherjee P, Zeilinger S, Grigoriev IV, Kubicek CP. (2011). *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Rev Microbiol* 9: 749-59.
- Grondona I, Hermosa MR, Tejada M, Gomis MD, Mateos PF, Bridge PD, Monte E, García-Acha I. (1997). Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Appl Environ Microbiol* 63: 3189-98.
- Hermosa MR, Grondona I, Iturriaga EA, Díaz-Minguez JM, Castro C, Monte E, García-Acha I. (2000). Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Appl Environ Microbiol* 66: 1890-8.
- Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158: 17-25.
- Kubicek CP. *et al.* (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biol* 12: R40.
- Lorito M, Woo SL, Harman GE, Monte E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. *Annu Rev Phytopathol* 48: 395-417.
- Malmierca MG, Barua J, McCormick SP, Izquierdo-Bueno I, Cardoza RE, Alexander NJ, Hermosa R, Collado IG, Monte E, Gutiérrez S. (2015a). Novel aspinolides production by *Trichoderma arundinaceum* with a potential role in *Botrytis cinerea* antagonistic activity and plant defence priming. *Environ Microbiol* 17: 1103-18.
- Malmierca MG, McCormick SP, Cardoza RE, Monte E, Alexander NJ, Gutiérrez S. (2015b). Production of trichodiene in a *Trichoderma harzianum* *erg1* silenced strain evidences the importance of the sterol biosynthetic pathway to induce the expression of plant defense-related genes. *Mol Plant Microbe Interact* 28: 1181-97.
- Morán-Díez E, Hermosa MR, Ambrosio P, Cardoza RE, Gutiérrez S, Lorito M, Monte E. (2009). The ThPG1 endopolygalacturonase is required for the *Trichoderma harzianum*-plant beneficial interaction. *Mol Plant Microbe Interact* 22: 1021-31.
- Nicolás C, Hermosa R, Rubio MB, Mukherjee PK, Monte E. (2014). *Trichoderma* genes in plants for stress tolerance-status and prospects. *Plant Sci* 228: 71-8.
- Pérez E, Rubio MB, Cardoza RE, Gutiérrez S, Bettiol W, Monte E, Hermosa R. (2015). The importance of chorismate mutase in the biocontrol potential of *Trichoderma parareesei*. *Front Microbiol* 6: 1181.
- Vizcaíno JA, González FJ, Suárez B, Redondo J, Heinrich J, Hermosa MR, Gutiérrez S, Monte E, Llobell A, Rey M. (2006). Generation, annotation and analysis of ESTs from *Trichoderma harzianum* CECT 2413. *BMC Genomics* 7: 193.
- Rubio MB, Quijada NM, Pérez E, Domínguez S, Monte E, Hermosa R. (2014). Identifying beneficial qualities of *Trichoderma parareesei* for plants. *Appl Environ Microbiol* 80: 1864-73.

Papel del segundo mensajero c-di-GMP en bacterias que interaccionan con plantas

Daniel Pérez-Mendoza, Lorena Romero-Jiménez, M^a José Lorite, M^a Trini Gallegos y Juan Sanjuán

Grupo de Interacciones planta-bacteria. Estación Experimental del Zaidín (CSIC). Granada

www.eez.csic.es/?q=es/node/29



Foto de grupo. Grupo de interacciones planta-bacteria. Daniel Pérez-Mendoza, Antonia Felipe, M^a Trini Gallegos, Lorena Romero-Jiménez, David Rodríguez, M^a José Lorite, Gabriela A. Farias, M^a Dolores Ferreiro, Joaquina Nogales, Socorro Muñoz, Juan Sanjuán (de izquierda a derecha).

Desde su descubrimiento en 1987 como regulador alostérico de la celulosa sintasa de *Gluconoacetobacter xylinus* (Ross *et al.*, 1991), el diguanilato cíclico o c-di-GMP ha resultado ser el más común e importante segundo mensajero en bacterias, ya que controla numerosas funciones: virulencia, motilidad, agregación, adhesión y formación de biopelículas, muchas de ellas implicadas en la interacción con organismos eucariotas (Römling *et al.*, 2013). En general, los altos niveles de c-di-GMP promueven la transición de un modo de vida mótil e individual a otro sésil y colectivo, proceso favorecido por la producción de una matriz extracelular de naturaleza polisacáridica y proteica. El c-di-GMP se sintetiza gracias a la acción de unas enzimas denominadas diguanilato ciclasas (DGC), que se caracterizan por portar dominios GGDEF que condensan dos moléculas de GTP, y es hidrolizado por fosfodiesteras

específicas (PDE) portadoras de dominios EAL ó HD-GYP (Römling *et al.*, 2013). Los niveles intracelulares de este segundo mensajero son, por tanto, el resultado de estas actividades antagónicas (DGC y PDE) en la célula. Estas enzimas que sintetizan y degradan el c-di-GMP están frecuentemente asociadas a diferentes dominios sensores, por lo que los niveles de este segundo mensajero son un reflejo de los cambios que tienen lugar en el ambiente intra- y extra-celular (primeros mensajeros) y que son percibidos por los sistemas sensoriales bacterianos. Por tanto, el c-di-GMP transduce las señales de entrada en comportamientos celulares mediante su unión a diversas moléculas efectoras: proteínas con dominios específicos de unión al c-di-GMP como los dominios PilZ ó GIL, dominios GGDEF o EAL degenerados, factores transcripcionales y motivos no codificantes del ARNm o *riboswitches* (Amikam & Galperin,

2006, Fang *et al.*, 2014, Mills *et al.*, 2011, Römling *et al.*, 2013, Ryjenkov *et al.*, 2006, Krasteva *et al.*, 2012).

Desde hace 7 años nuestro grupo de investigación está interesado en el estudio del papel que desempeña este segundo mensajero en la interacción microbio-planta, usando como modelo bacterias fitopatógenas del género *Pseudomonas* y diferentes bacterias simbióticas de leguminosas, comúnmente conocidas como rizobios. Las bacterias que interaccionan con plantas, ya sean simbióticas o patogénicas, ejercen un estricto control sobre las funciones implicadas en dicha interacción, lo cual les permite pasar de un modo de vida libre a otro en estrecha relación con su hospedador eucariota. Por tanto, no es extraño que el papel de este segundo mensajero sea crucial en nuestros modelos de estudio bacterianos y, de hecho, tanto bacterias fitopatógenas como simbióticas presentan en sus genomas una gran cantidad de genes que potencialmente codifican proteínas implicadas en la síntesis y degradación del c-di-GMP.

Desde el comienzo de esta línea de investigación, nuestro grupo ha demostrado que el c-di-GMP juega un papel crucial en la fisiología de estas bacterias, tanto en vida libre como en asociación con su planta hospedadora. Hemos demostrado que el incremento artificial de los niveles de c-di-GMP mediante la sobreexpresión de una DGC heteróloga (PleD* de *Caulobacter crescentus*), aumenta la producción de diferentes expolisacáridos (EPS) bacterianos, como la celulosa y el alginato, lo que provoca a su vez un aumento de la floculación y de la formación de biopelículas en diferentes rizobios y patovares del complejo *Pseudomonas syringae*. Por el contrario, los altos niveles intracelulares de c-di-GMP generan una disminución de la motilidad dependiente de flagelo (*swarming* y *swimming*) en todas las bacterias que hasta la fecha hemos ensayado (Pérez-Mendoza *et al.*, 2014a). Con respecto a la interacción con la planta hospedadora, los altos niveles intracelulares de este segundo mensajero parecen favorecer etapas tempranas de la interacción, p. ej. generando un incremento en la adhesión de *Rhizobium etli* y *Rhizobium leguminosarum* a las raíces de sus respectivas plantas leguminosas, pero afectan negativamente etapas más tardías de la interacción, generando por ejemplo, una reducción de su eficiencia simbiótica (reducción de peso de la parte aérea (Pérez-Mendoza *et al.*, 2014a). Estos resultados ponen de manifiesto que para el establecimiento de una interacción provechosa con la planta hospedadora es necesario un control estricto de los niveles de c-di-GMP.

En colaboración con el grupo de investigación del Dr. Cayo Ramos de la universidad de Málaga y mediante esta aproximación, hemos identificado diferentes proteínas implicadas en los sistemas de transducción de señales mediados por c-di-GMP. Entre ellas, BifA (PDE) y DgcP (DGC) han demostrado jugar un papel crucial en la patogénesis de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 en plantas de olivo, afectando tanto a la adaptación de la bacteria a la planta como a su virulencia y al desarrollo de la infección (Aragón *et al.*, 2015, Aragón *et al.*, 2014). Otra colaboración con el Dr. Salmond de la Universidad de Cambridge puso de manifiesto otras DGC y PDE que han

resultado ser igualmente claves para la adhesión y patogénesis de *Pectobacterium atrosepticum* en su interacción con patata (Pérez-Mendoza *et al.*, 2011b, Pérez-Mendoza *et al.*, 2011a).

El estudio del papel biológico que desempeña este segundo mensajero en bacterias que interaccionan con plantas ha permitido además a nuestro grupo de investigación desarrollar proyectos científicos más aplicados. Los biopolímeros bacterianos han suscitado un interés creciente en la industria alimentaria, química, farmacéutica, sanitaria o medioambiental debido a su pureza, sus particulares características físico-químicas y la facilidad con que se obtienen con respecto a otras fuentes, como las plantas. Actualmente, estamos trabajando en estrategias biotecnológicas que permitan utilizar la regulación por c-di-GMP para incrementar la producción de biopolímeros bacterianos, tanto de origen conocido, como la celulosa (Pérez-Mendoza *et al.*, 2012), como de otros nuevos con propiedades físico-químicas novedosas e interesantes para la industria. Recientemente hemos puesto de manifiesto que altos niveles de c-di-GMP activan la producción de un EPS en *Sinorhizobium meliloti* cuya presencia no había sido previamente descrita en bacterias. Es un β -glucano de enlaces mixtos (MLG, (Pérez-Mendoza *et al.*, 2015), de composición parecida a los β -glucanos presentes en cereales y ciertos líquenes, los cuales actualmente tienen diversas aplicaciones en la industria alimentaria (Pérez-Mendoza *et al.*, 2014b).

Las bacterias producen una amplia gama de EPS de muy variada estructura y composición, dependiendo de la cepa, el modo de vida o las condiciones ambientales en las que se encuentre. Hasta la fecha, la producción de muchos de estos EPS (celulosa, curdlan, MLG, poli N-acetilglucosamina (PNAG), alginato, Pel, Psl, así como diversos EPSs de *Vibrio* (VPS) y *Listeria*) ha demostrado ser dependiente de c-di-GMP, lo que pone de manifiesto el potencial de esta nueva línea de investigación. En este sentido, hemos puesto a disposición de la comunidad científica un conjunto de vectores para generar inserciones cromosómicas estables de una DGC con el fin de incrementar de forma controlada los niveles intracelulares de este segundo mensajero en bacterias Gram-negativas (Romero-Jiménez *et al.*, 2015).

BIBLIOGRAFÍA

- Amikam D, Galperin MY. (2006). PilZ domain is part of the bacterial c-di-GMP binding protein. *Bioinformatics* 22: 3-6.
- Aragón IM, Pérez-Mendoza D, Gallegos MT, Ramos C. (2014). The c-di-GMP phosphodiesterase BifA is involved in the virulence of bacteria from the *Pseudomonas syringae* complex. *Mol Plant Pathol* 16: 604-15.
- Aragón IM, Pérez-Mendoza D, Moscoso JA, Faure E, Guery B, Gallegos MT, Filloux A Ramos C. (2015). Diguanylate cyclase DgcP is involved in plant and human *Pseudomonas* spp. infections. *Environ Microbiol* (en prensa).
- Fang X, Ahmad I, Blanka A, Schottkowski M, Cimdins A, Galperin MY, Römling U Gomelsky M. (2014). GIL, a new c-di-GMP-binding protein domain involved in regulation of cellulose synthesis in enterobacteria. *Mol Microbiol* 93: 439-52.

- Krasteva PV, Giglio KM, Sondermann H.** (2012). Sensing the messenger: the diverse ways that bacteria signal through c-di-GMP. *Protein Sci* 21: 929-48.
- Mills E, Pultz IS, Kulasekara HD, Miller SI.** (2011). The bacterial second messenger c-di-GMP: mechanisms of signalling. *Cell Microbiol.* 13:1122-9.
- Pérez-Mendoza D, Aragón IM, Prada-Ramírez HA, Romero-Jiménez L, Ramos C, Gallegos MT, Sanjuán J.** (2014a). Responses to Elevated c-di-GMP Levels in Mutualistic and Pathogenic Plant-Interacting Bacteria. *PLoS ONE* 9: e91645.
- Pérez-Mendoza D, Coulthurst SJ, Humphris S, Campbell E, Welch M, Toth IK, Salmond GP.** (2011a). A multi-repeat adhesin of the phytopathogen, *Pectobacterium atrosepticum*, is secreted by a Type I pathway and is subject to complex regulation involving a non-canonical diguanylate cyclase. *Mol Microbiol* 82: 719-33.
- Pérez-Mendoza D, Coulthurst SJ, Sanjuán J, Salmond GPC.** (2011b). N-Acetylglucosamine-dependent biofilm formation in *Pectobacterium atrosepticum* is cryptic and activated by elevated c-di-GMP levels. *Microbiology* 157: 3340-8.
- Pérez-Mendoza D, Gallegos MT, Soto MJ, Prada-Ramírez HA, Olmedilla A., Sanjuán J.** (2012). Hiperproducción de celulosa bacteriana. In. CSIC (ed). Spain, pp.
- Pérez-Mendoza D, Rodríguez-Carvajal MA, Romero-Jiménez L, Fariás GA, Lloret J, Gallegos MT, Sanjuan J.** (2015). Novel mixed-linkage beta-glucan activated by c-di-GMP in *Sinorhizobium meliloti*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: E757-65.
- Pérez-Mendoza D, Romero Jiménez L, Rodríguez Carbonell D, Rodríguez Carvajal MA, Gallegos Fernández MT, Sanjuán J.** (2014b) Método para la producción de poli-β1,3-β1,4-D-glucano. In. CSIC & U.d. Sevilla (eds). Spain, pp.
- Romero-Jiménez L, Rodríguez-Carbonell D, Gallegos MT, Sanjuán J, Pérez-Mendoza D.** (2015). Mini-Tn7 vectors for stable expression of diguanylate cyclase PleD* in Gram-negative bacteria. *BMC Microbiol* 15: 190.
- Römling U, Galperin MY, Gomelsky M.** (2013). Cyclic di-GMP: the first 25 years of a universal bacterial second messenger. *Microbiol Mol Biol Rev* 77: 1-52.
- Ross P, Mayer R, Benziman M.** (1991). Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol Rev* 55: 35-58.
- Ryjenkov DA, Simm R, Römling U, Gomelsky M.** (2006). The PilZ domain is a receptor for the second messenger c-di-GMP: the PilZ domain protein YcgR controls motility in enterobacteria. *J Biol Chem* 281: 30310-4.

Grupo de Bacteriología de Plantas (BACPLANT)

Bacterias asociadas a plantas y líquenes: biología y aplicaciones biotecnológicas

Elena G. Biosca, Ricardo D. Santander, Ángela Figás-Segura y Belén Álvarez

Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Biológicas, Universitat de València

elena.biosca@uv.es



Foto de grupo. Arriba, miembros actuales del grupo BACPLANT. De izquierda a derecha: Elena G. Biosca, Belén Álvarez, Ricardo D.

Santander y Ángela Figás-Segura. Abajo, temáticas de estudio del grupo. De izquierda a derecha: chancros con exudados en tronco de encina afectada por *Lonsdalea quercina*; plantas de tomate con síntomas de marchitez causada por *Ralstonia solanacearum*; necrosis y marchitamiento en plántula de peral inoculada con *Erwinia amylovora*; detalle de un talo del líquen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf.

El grupo BACPLANT se constituyó en 2003, cuando la Dra. Elena G. Biosca abrió una línea de investigación sobre Bacteriología de Plantas en el Dpto. de Microbiología de la Universitat de València como profesora Titular. Actualmente el grupo está formado por la Dra. Belén Álvarez, investigadora posdoctoral, y Ricardo D. Santander y Ángela Figás-Segura, investigadores predoctorales. La actividad de BACPLANT abarca una gran variedad de aspectos de la biología de las bacterias asociadas a plantas, especialmente bacterias fitopatógenas de frutales (*Erwinia amylovora*), hortícolas (*Ralstonia solanacearum*) y forestales (*Brenneria* spp. y *Lonsdalea quercina*) y, más recientemente, la caracterización de bacterias asociadas a líquenes.

CARACTERIZACIÓN Y SUPERVIVENCIA DE *E. amylovora*

E. amylovora es una bacteria de cuarentena responsable del fuego bacteriano en frutales de pepita de

importancia económica. El control de la enfermedad se ve dificultado por la gran capacidad de diseminación y supervivencia de este patógeno dentro y fuera del huésped, que han sido objeto de nuestras investigaciones. Hemos observado cambios morfológicos, fisiológicos y la inducción del estado viable no cultivable (VNC) en respuesta a la oligotrofia y otros tipos de estrés, así como la recuperación de la cultivabilidad y la patogenicidad de estas células VNC *in planta*. También la influencia de la temperatura y la contribución de los exopolisacáridos a la supervivencia en oligotrofia, y la capacidad de supervivencia y transmisión por agua de riego a través de raíces del huésped y de la mosca *Ceratitis capitata*. Además, hemos empezado a desvelar los mecanismos celulares y moleculares de adaptación que permiten a este patógeno mantener la cultivabilidad en oligotrofia a temperaturas ambientales. Todas estas investigaciones han permitido avanzar en el conocimiento de la biología y epidemiología de *E. amylovora* y el fuego bacteriano.

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIOSIS EN FORESTALES

Los géneros *Brenneria* y *Lonsdalea* agrupan especies bacterianas que producen chancros con lesiones necróticas y exudados abundantes en plantas leñosas, habiéndose identificado en España algunas de ellas como responsables de chancros bacterianos en quercíneas (*L. quercina*), nogales (*B. nigrifluens* y *B. rubrifaciens*) y chopos (*Brenneria* sp.). Nuestros estudios han permitido comparar y/o desarrollar métodos de detección de dichas especies, así como caracterizar diversas cepas españolas de *L. quercina* y aportar información sobre la evolución temporal y espacial de este patógeno y clasificar de forma precisa aislados españoles de *Brenneria* sp. de chopo, aunque algunos de estos estudios todavía están pendientes de publicación.

SUPERVIVENCIA Y BIOCONTROL DE *R. SOLANACEARUM*

R. solanacearum es una bacteria de cuarentena que produce marchitez en cultivos básicos como la patata y el tomate, siendo una de las principales vías de diseminación el agua de riego. Por ello, nos hemos centrado en estudiar la influencia de factores abióticos y bióticos sobre la supervivencia de este patógeno en agua. Hemos observado que, una vez introducida en agua natural, puede sobrevivir durante varios años manteniendo su patogenicidad, haciendo necesaria la búsqueda de nuevos métodos de control. Nuestros estudios han permitido el aislamiento y caracterización de bacteriófagos con actividad lítica sobre la bacteria, y el desarrollo de una tecnología innovadora de biocontrol, gracias a un proyecto de la Universitat de València que ha permitido la presentación de una patente en 2015 (n.º P201530730). Esta tecnología es más eficaz que los métodos químicos y físicos, y con menor impacto ambiental.

RECUPERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS LIQUÉNICAS

Los líquenes, asociaciones simbióticas entre hongos y algas verdes unicelulares y/o cianobacterias, también albergan diversas comunidades bacterianas, cuya caracterización es crucial para entender las interacciones microbianas en estas simbiosis, así como para explorar su potencial biotecnológico. Sin embargo, apenas se han empezado a estudiar por la dificultad en su aislamiento, asociada al uso de medios de cultivo que no reproducen las complejas condiciones nutritivas de los líquenes. Nuestras investigaciones han permitido desarrollar una nueva metodología de cultivo y protocolos de aislamiento, que han sido objeto de una solicitud de patente en 2014 (n.º P2014311971), y que han permitido incrementar significativamente la recuperación de bacterias líquénicas, cuya caracterización está revelando su contribución a la simbiosis, así como sus diversas aplicaciones biotecnológicas.

COLABORACIONES

El grupo mantiene una estrecha colaboración con las Dras. M.M. López, responsable del Dpto. de Bacteriología del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) y E. Marco Noales, del mismo centro. Además con el Dr. J.D. Oliver (Universidad de Carolina del Norte, USA) y con el grupo del Dr. P. Rodríguez Palenzuela (Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid). También con la Dra. E. Barreno (Dpto. de Botánica e Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universitat de València).

ALGUNAS PUBLICACIONES RELEVANTES DEL GRUPO

- Álvarez B, Biosca EG, López MM. (2010). On the life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant pathogen. En: Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. A. Mendez-Vilas Ed. Editorial World Scientific Publishing Co. pp. 267-79 ISBN: 978-84-614-6195-0.
- Álvarez B, López MM, Biosca EG. (2007). Influence of native microbiota on survival of *Ralstonia solanacearum* phylotype II in river water microcosms. *Appl Environ Microbiol* 73:7210-7.
- Álvarez B, López MM, Biosca EG. (2008). Survival strategies and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* phylotype II subjected to prolonged starvation in environmental water microcosms. *Microbiology* 154(11):3590-8.
- Biosca EG, González R, López-López MJ, Soria S, Montón C, Pérez-Laorga E, López MM. (2003) Isolation and characterization of *Brenneria quercina*, causal agent for bark canker and drippy nut of *Quercus* spp. in Spain. *Phytopathology* 93:485-92.
- Biosca EG, López MM. (2012). Detection and identification methods and new test as developed and used in the framework of Cost873 for bacteria pathogenic to stone fruits and nuts. *Brenneria nigrifluens* and *Brenneria rubrifaciens*. *J Plant Pathol* 94(S1):105-13.
- Ordax M, Biosca EG, López MM, Marco-Noales E. (2012). Improved recovery of *Erwinia amylovora*-stressed cells from pome fruit on RESC, a simple, rapid and differential medium. *Trees* 26:83-93.
- Ordax M, Biosca EG, Wimalajeewa SC, López MM, Marco-Noales E. (2009). Survival of *Erwinia amylovora* in mature apple fruit calyces through the viable but nonculturable (VBNC) state. *J Appl Microbiol* 107:106-16.
- Ordax M, Marco-Noales E, López MM, Biosca EG. (2006). Survival strategy of *Erwinia amylovora* against copper: induction of the viable-but-nonculturable state. *Appl Environ Microbiol* 72:3482-8.
- Ordax M, Marco-Noales E, López MM, Biosca EG. (2010). Exopolysaccharides favor the survival of *Erwinia amylovora* under copper stress through different strategies. *Res Microbiol* 161:549-55.
- Ordax M, Piquer-Salcedo JE, Santander RD, Sabater-Muñoz B, Biosca EG, López MM, Marco-Noales E. (2015). Medfly *Ceratitis capitata* as potential vector for fire blight pathogen *Erwinia amylovora*: survival and transmission. *PLoS One* 10:e0127560.
- Santander RD, Català-Senent JF, Marco-Noales E, Biosca EG. (2012). In planta recovery of *Erwinia amylovora* viable but nonculturable cells. *Trees* 26: 75-82.
- Santander RD, Monte-Serrano M, Rodríguez-Herva JJ, López-Solanilla E, Rodríguez-Palenzuela P, Biosca EG. (2014). Exploring new roles for the *rpoS* gene in the survival and virulence of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. *FEMS Microbiol Ecol* 90:895-907.
- Santander RD, Oliver JD, Biosca EG. (2014). Cellular, physiological, and molecular adaptive responses of *Erwinia amylovora* to starvation. *FEMS Microbiol Ecol* 88:258-71.

Intercambio de nutrientes y señales en la simbiosis *Rhizobium-leguminosa*

Jose Manuel Palacios, Luis Rey, David Durán, Raquel García, Alba Pacheco, Anabel Bautista, Carmen Sánchez-Cañizares, Belen Brito, Marta Albareda, Laura Rubio-Sanz y Tomás Ruiz-Argüeso

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), Universidad Politécnica de Madrid, Campus de Montegancedo, 28223 Pozuelo de Alarcón, Madrid

jose.palacios@upm.es



Foto de grupo. Componentes del grupo de Asociaciones Simbióticas Planta-Microorganismo.

El grupo de Asociaciones Simbióticas Planta-Microorganismo del Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas centra su trabajo en el análisis de aspectos relacionados con la síntesis de metaloenzimas y la señalización en la interacción *Rhizobium-leguminosa*. La simbiosis *Rhizobium-leguminosa* es una asociación altamente específica en la que la bacteria infecta de forma controlada a la planta, colonizando las células del córtex radicular en bacteroides capaces de fijar nitrógeno atmosférico que transfiere a la planta en forma de amonio (Fig. 1). A cambio, la planta provee a la bacteria de un hábitat protegido con acceso a sustratos carbonados en forma de ácidos orgánicos.

Los trabajos desarrollados por el grupo en los últimos años nos han permitido describir aspectos fundamentales en la ruta de biosíntesis de la hidrogenasa FeNi de *Rhizobium leguminosarum*, una metaloenzima que recicla el hidrógeno producido por la nitrogenasa en el proceso de fijación de nitrógeno. La síntesis de esta enzima requiere de la participación de un conjunto de 18 genes (*hupSLCDEFGHIJKhypABFCDEX*), muchos de ellos implicados en la síntesis y ensamblaje del cofactor metálico NiFe(CN)₂CO. Las funciones descritas recientemente por nuestro grupo se refieren a la participación de dos de los

productos génicos del clúster *hup* (HupF y HupK) como intermediarios en el proceso de ensamblaje del precursor de dicho cofactor en la subunidad estructural HupL de la enzima. HupK actúa como una proteína de andamiaje, mientras que HupF protege a HupL de la presencia de oxígeno durante el proceso de biosíntesis (Albareda *et al.*, 2012; 2014)

Por otro lado, hemos abordado el estudio del mecanismo de provisión de níquel para la síntesis de la hidrogenasa. El principal sistema de transporte está constituido por una permeasa (HupE) que actúa como un sistema altamente específico de difusión facilitada permitiendo la entrada de este elemento a favor de gradiente de concentración mantenido por la unión del catión a proteínas intracelulares (Albareda *et al.*, 2015). La homeostasis celular de este metal, tóxico a concentraciones moderadas, es mantenida en *R. leguminosarum* bv *viciae* UPM791 por la acción de sistemas de salida de cationes metálicos como el sistema DmeRF que hemos descrito recientemente (Rubio-Sanz *et al.*, 2013)

El trabajo del grupo se orienta también hacia el análisis de los sistemas de señalización planta bacteria relevantes para la simbiosis. Dicha señalización incluye efectores trasladados mediante sistemas de secreción de tipo III (T3SS)

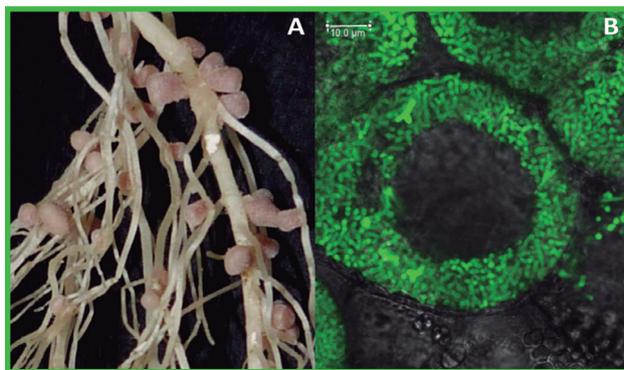


Figura 1. Simbiosis *Rhizobium*-leguminosa. A) Nódulos inducidos en raíces de guisante (*Pisum sativum*) por la bacteria *Rhizobium leguminosarum* bv viciae (Rlv). B) Células infectadas de un nódulo como los mostrados en A con bacteroides de Rlv UPM791 marcados con GFP.

y de tipo VI (T6SS), que son capaces de exportar proteínas sintetizadas por la bacteria al citoplasma del simbionte vegetal. Hemos identificado este tipo de sistemas de secreción en varias cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. Resultados preliminares indican que mutantes afectados específicamente en el T3SS de *Bradyrhizobium* modifican el rango de hospedadores efectivos de dicha bacteria.

El establecimiento y funcionamiento de la fijación simbiótica de nitrógeno por esta simbiosis requiere de la proliferación de bacterias en la superficie de las raíces de la leguminosa. En dicho incremento poblacional operan las señales de *quórum sensing* que permiten un comportamiento coordinado en respuesta a la acumulación de señales de tipo acil-homoserín-lactona (AHL). Con el fin de avanzar en el conocimiento de la relevancia simbiótica de este tipo de comunicación intercelular estamos analizando el efecto de mutaciones en los dos sistemas de quórum sensing presentes en *Rhizobium leguminosarum* bv viciae UPM791. Los datos disponibles permiten deducir que uno de los sistemas es esencial para la simbiosis, y que su importancia depende de determinantes génicos presentes en plásmidos crípticos de la cepa (Sánchez Cañizares *et al.*, manuscrito en preparación).

El análisis de las funciones simbióticas nos ha permitido obtener diversas evidencias que indican que la leguminosa hospedadora es capaz de modificar el comportamiento del microsimbionte en aspectos relacionados con la expresión de la actividad hidrogenasa, el transporte de níquel e incluso la propia capacidad de fijación de nitrógeno. En uno de los proyectos de investigación actualmente en desarrollo estamos abordando el estudio de las bases moleculares de este efecto del huésped. Para ello estamos analizando mutantes que son efectivos en un huésped (*Pisum sativum*) e inefectivos en una segunda leguminosa (*Lens sculenta*), un fenotipo simbiótico inusual que hemos denominado Hse (*Host-specific symbiotic efficiency*). La complementación de estos mutantes con una genoteca genómica nos ha permitido identificar una región del cromosoma de *Rhizobium leguminosarum* posiblemente implicada en la síntesis de nuevas señales de la bacteria que permiten la regulación fina de la

especificidad en la elección de leguminosa huésped.

Un aspecto de interés en la simbiosis es el análisis de nuevos sistemas *Rhizobium*-leguminosa. En colaboración con el grupo dirigido por el Dr. Juan Imperial hemos descrito la diversidad de microsimbiontes capaces de nodular de forma eficiente la leguminosa *Lupinus maría-josephae*, un endemismo recientemente descubierto en una zona del Levante español (Pascual, 2004). El análisis filogenético de las bacterias capaces de asociarse con esta leguminosa ha revelado la existencia de una elevada biodiversidad en dicho grupo (Sánchez-Cañizares *et al.*, 2011; Durán *et al.*, 2013) y ha conducido a la definición de una nueva especie de *Bradyrhizobium* (Duran *et al.*, 2014). La utilización de algunas de las cepas aisladas de suelo como inoculante en experimentos de campo ha permitido demostrar que la presencia de bacterias endosimbióticas es un factor esencial para la conservación de estas leguminosas en sus hábitats naturales (Navarro *et al.*, 2014).

Un mejor conocimiento de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa permitirá la mejora de los sistemas de biofertilización nitrogenada que constituyen una pieza clave en la definición de estrategias para la implementación de una agricultura sostenible. El trabajo del grupo se ha financiado mediante proyectos del Ministerio de Economía y competitividad (BIO2013-43040-P a J.M.P), de la Fundación BBVA (LUPICAL a T.R.A) y del Sistema Alemán de Intercambio Académico (ref. 57050413 a L.R.).

BIBLIOGRAFÍA

- Albareda M, Manyani H, Imperial J, Brito B, Ruiz-Argüeso T, Bock A, Palacios JM. (2012). Dual role of HupF in the biosynthesis of [NiFe] hydrogenase in *Rhizobium leguminosarum*. BMC Microbiol 12: 256.
- Albareda M, Pacios LF, Manyani H, Rey L, Brito B, Imperial J, Ruiz-Argüeso T, Palacios JM. (2014). Maturation of *Rhizobium leguminosarum* hydrogenase in the presence of oxygen requires the interaction of the chaperone HypC and the scaffolding protein HupK. J Biol Chem 289: 21217-29.
- Albareda M, Rodríguez A, Brito B, Ruiz-Argüeso T, Imperial J, Mandrand-Berthelot MA, Palacios J. (2015). *Rhizobium leguminosarum* HupE is a highly-specific diffusion facilitator for nickel uptake. Metallomics 7: 691-701.
- Duran D, Rey L, Navarro A, Busquets A, Imperial J, Ruiz-Argüeso T. (2014). *Bradyrhizobium valentinum* sp. nov., isolated from effective nodules of *Lupinus mariae-josephae*, a lupine endemic of basic-lime soils in Eastern Spain. Syst Appl Microbiol 37: 336-41.
- Duran D, Rey L, Sánchez-Cañizares C, Navarro A, Imperial J, y Ruiz-Argüeso T. (2013). Genetic diversity of indigenous rhizobial symbionts of the *Lupinus mariae-josephae* endemism from alkaline-limed soils within its area of distribution in Eastern Spain. Syst Appl Microbiol 36: 128-36.
- Navarro A, Fos S, Laguna E, Duran D, Rey L, Rubio-Sanz L, Imperial J, Ruiz-Argüeso T. (2014). Conservation of endangered *Lupinus mariae-josephae* in its natural habitat by inoculation with selected, native *Bradyrhizobium* strains. PLoS One 2014, 9:e102205.
- Pascual H. (2004). *Lupinus mariae-josephi* (Fabaceae), nueva y sorprendente especie descubierta en España. An Jard Bot Madrid 61:69-72
- Rubio-Sanz L, Prieto RI, Imperial J, Palacios JM, Brito B. (2013). Functional and expression analysis of the metal-inducible *dmeRF* system from *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae. Appl Environ Microbiol 79: 6414-22.
- Sánchez-Cañizares C, Rey L, Duran D, Temprano F, Sanchez-Jimenez P, Navarro A, Polajnar M, Imperial J, Ruiz-Argüeso T. (2011). Endosymbiotic bacteria nodulating a new endemic lupine *Lupinus mariae-josephi* from alkaline soils in Eastern Spain represent a new lineage within the *Bradyrhizobium* genus. Syst Appl Microbiol 34: 207-15.

Bacterias fitopatógenas en el IVIA: prevenir es mejor que curar

Ester Marco-Noales y María Milagros López

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia

mlopez@ivia.es



Foto de grupo. De izquierda a derecha: José F. Català, Clara Morente, Inma Navarro, Belén Álvarez, Ester Marco-Noales, María Martínez, Javier Peñalver, Adela Monterde, Teresa Gorris, María M. López, Pablo López y Félix Morán.

El grupo de Bacteriología del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), pionero en España en el estudio de bacterias fitopatógenas, fue creado en 1977 por María Milagros López, que es también responsable, desde 1993, del Laboratorio Nacional de Referencia de Bacterias Fitopatógenas del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. A lo largo de estos 38 años, el grupo ha abordado proyectos relacionados con el diagnóstico, la epidemiología y el control biológico de distintas bacterias fitopatógenas, con participación en más de sesenta proyectos nacionales y europeos sobre especies de *Agrobacterium*, *Brenneria*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Xanthomonas* y *Xylophilus*. Actualmente cuenta con doce miembros: tres investigadores, tres técnicos, tres auxiliares y tres becarios en formación. Su actividad presente se plasma en las líneas

de investigación que a continuación se presentan, en colaboración con los grupos de R. Peñalver, M. Cambra, E.G. Biosca, J. Cubero, A. Palacio y E. Montesinos, entre otros, además de con numerosos grupos internacionales.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

La prevención de los daños causados por bacterias fitopatógenas, especialmente de las consideradas de cuarentena en la Unión Europea, se ha basado esencialmente en el desarrollo de técnicas de diagnóstico sensibles y específicas, en el conocimiento de los reservorios de los patógenos, sus estrategias de supervivencia en nuestras condiciones y su diversidad intraespecífica, y en el desarrollo de tratamientos preventivos, como el control biológico.

Detección y diagnóstico de bacterias fitopatógenas

Se han publicado más de 20 artículos SCI y participado en 10 protocolos internacionales sobre nuevos métodos de diagnóstico de bacterias fitopatógenas, de los que se señalan los más representativos. En cítricos, se ha puesto a punto un protocolo integrado de diagnóstico basado en PCR (Golmohammadi *et al.*, 2007), métodos serológicos y aislamiento para *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, causante de la canchrosis, y se ha desarrollado un kit de diagnóstico para material vegetal y psilas vectoras para el huanglongbing (greening), enfermedad que se asocia con tres especies de «*Candidatus Liberibacter*» (Bertolini *et al.*, 2014). En frutales, se han puesto a punto protocolos para la detección de *Agrobacterium* spp. basados en PCR (Cubero *et al.*, 1999), y de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, causante de la mancha bacteriana, basados en PCR en tiempo real (Palacio-Bielsa *et al.*, 2011). En frutales de pepita, se han diseñado técnicas serológicas y moleculares para la detección de *Erwinia amylovora* (Llop *et al.*, 2000), causante del fuego bacteriano de las rosáceas. En olivo, se ha desarrollado un protocolo de diagnóstico molecular que permite detectar simultáneamente cuatro virus y la bacteria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Bertolini *et al.*, 2003), causante de la tuberculosis. En solanáceas, se han desarrollado métodos de diagnóstico de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*, en material vegetal y en agua de riego (Caruso *et al.*, 2002, 2003; Marco-Noales *et al.*, 2008). Todas estas técnicas han sido transferidas a los Servicios de Sanidad Vegetal de las Comunidades Autónomas y algunas son la base de kits comerciales. Varios protocolos han sido adoptados por la *European and Mediterranean Plant Protection Organization* (EPPO) y la *International Plant Protection Convention* (IPPC) de la FAO (EPPO 2005, 2013, 2014; IPPC 2014). La experiencia del grupo ha sido la base de una revisión invitada en *Annual Review of Phytopathology* (De Boer y López 2012). El Laboratorio ha logrado recientemente la acreditación según la norma ISO 17025.

Se han detectado por primera vez en España más de veinte especies o patovares de bacterias fitopatógenas, entre ellas, recientemente, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* y *P. syringae* pv. *actinidifoliorum*, causantes del chancro bacteriano del kiwi y de las manchas foliares, respectivamente (Abelleira *et al.*, 2014, 2015), y «*Candidatus Liberibacter solanacearum*», asociado a desarreglos vegetativos en zanahoria y apio (Teresani *et al.*, 2014). También se ha descrito la nueva especie *Erwinia piriflorinigrans*, que produce necrosis en flores de peral (López *et al.*, 2011).

Epidemiología de las principales bacteriosis

La optimización de los métodos de detección ha permitido conocer mejor la epidemiología de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* en olivo (Quesada *et al.*, 2007) y la migración de *Agrobacterium tumefaciens* en distintas especies (Martí *et al.*, 1999). En *E. amylovora* se ha descrito la inducción

por cobre del estado viable no cultivable (VNC) (Ordax *et al.*, 2006), y la supervivencia en este estado en manzanas maduras (Ordax *et al.*, 2009) y en *Ceratitidis capitata* (Ordax *et al.*, 2015), por lo que pueden actuar como fuentes de inóculo. Se ha estudiado la capacidad de colonización de *Ralstonia solanacearum* en distintas especies (Álvarez *et al.*, 2008b) y la supervivencia de cepas españolas en agua, la influencia de la microbiota nativa, especialmente de fagos, y la inducción del estado VNC por oligotrofia (Álvarez *et al.*, 2007, 2008a). Recientemente, se ha demostrado la transmisión por semilla de «*Candidatus Liberibacter solanacearum*» en zanahoria (Bertolini *et al.*, 2014) y, en colaboración con el CITA de Zaragoza, la de *X. arboricola* pv. *pruni* en almendro.

Caracterización intraespecífica y genómica de bacterias fitopatógenas

Se ha realizado el análisis polifásico de cepas españolas de *E. amylovora* (Donat *et al.*, 2007; Llop *et al.*, 2011), *X. arboricola* pv. *pruni* y *R. solanacearum*. En todos los casos se ha demostrado que han sido varias las introducciones de cada uno de estos patógenos en nuestro país. Este tipo de estudios han permitido seleccionar marcadores específicos en *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (Quesada *et al.*, 2008) y determinar patrones de diseminación de la tuberculosis en distintas zonas de cultivo de olivo (Quesada *et al.*, 2010b).

También se ha colaborado en la secuenciación del genoma de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (Rodríguez-Palenzuela *et al.*, 2010) y en el de *E. piriflorinigrans* (Smits *et al.*, 2013) y sus plásmidos (Barbé *et al.*, 2013).

Gestión integrada de las principales bacteriosis

Se han estudiado los mecanismos implicados en el control biológico de los tumores causados por *Agrobacterium* spp. mediante la cepa K84, se ha demostrado la transferencia de plásmidos entre el agente de biocontrol y el patógeno, y se ha estudiado el comportamiento de cepas transconjugantes (Penyalver *et al.*, 2000). En olivo, se ha comprobado la eficacia preventiva de los tratamientos cúpricos frente a la tuberculosis, tanto en la diseminación de las poblaciones epífitas de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* como en la disminución de los síntomas (Quesada *et al.*, 2010a), y se ha evaluado la sensibilidad varietal (Penyalver *et al.*, 2006). En hortícolas, se está tramitando la patente del uso de bacteriófagos para el control biológico de la marchitez bacteriana causada por *R. solanacearum* (N.º: 201530730).

PERSPECTIVAS DE FUTURO

La experiencia de estos años nos anima a seguir investigando en los patógenos que en cada momento constituyen una amenaza más acuciante para la agricultura, como es actualmente el caso de «*Candidatus Liberibacter*» spp. y *Xylella fastidiosa*, porque la prevención es el mejor método para reducir las pérdidas que causan las bacteriosis en España.

REFERENCIAS

- Abelleira A, Ares A, Aguín O, Peñalver J, Morente CM, López MM, Sainz MJ y Mansilla P. (2015). J Appl Microbiol (en prensa).
- Abelleira A, Ares A, Aguín O, Picoaga A, López MM y Mansilla P. (2014). Plant Pathol 63: 691-9.
- Álvarez B, López MM y Biosca EG. (2007). Appl Environ Microbiol 73: 7210-7.
- Álvarez B, López MM y Biosca EG. (2008a). Microbiology 154: 3590-8.
- Álvarez B, Vasse J, Le-Courtois V, Trigalet-Démery D, López MM y Trigalet A. (2008b). Phytopathology 98: 59-68.
- Barbé S, Llop P, Blom J, Cabrefiga J, Goesmann A, Duffy B, Smits THM, Montesinos E y López MM. (2013). Plant Pathol 64: 1-13.
- Bertolini E, Felipe R, Sauer AV, Lopes S, Arilla A, Vidal E, Mourão-Filho FAA, Nunes WMC, Bové JM, López MM y Cambra M. (2014). Plant Pathol 63: 1149-58.
- Bertolini E, Olmos A, López MM y Cambra M. (2003). Phytopathology 93: 286-92.
- Bertolini E, Teresani GR, Loiseau M, Tanaka FAO, Barbé S, Martínez C, Gentit P, López MM y Cambra M. (2014). Plant Pathol 130: 5-12.
- Caruso P, Bertolini E, Cambra M y López MM. (2003). J Microbiol Methods 55: 257-72.
- Caruso P, Gorris MT, Cambra M, Palomo J, Collar J y López MM. (2002). Appl Environ Microbiol 68: 3634-8.
- Cubero J, Martínez MC, Llop P y López MM. (1999). J Appl Microbiol 86: 591-602.
- De Boer SH y López MM. (2012). Ann Rev Phytopathol 50:197-218.
- Donat V, Biosca EG, Peñalver J y López MM. (2007). J Appl Microbiol 103: 1639-49.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection). (2005). Diagnostics protocols for regulated pests. *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 35: 289-294. (MM López *et al.*).
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection). (2013). Diagnostics protocols for regulated pests. Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/20 (2). *Erwinia amylovora*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 43: 21-45. (MM López *et al.*).
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection). (2014). Diagnostics protocols for regulated pests. PM 7/121 (1) «*Candidatus Liberibacter africanus*», «*Candidatus Liberibacter americanus*» and «*Candidatus Liberibacter asiaticus*» Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 44 (3), 376-389. (By M.M. López *et al.*).
- Golmohammadi M, Cubero J, Peñalver J, Quesada JM, López MM y Llop P. (2007). J Appl Microbiol. 103: 2309-15.
- IPPC (International Plant Protection Convention)– FAO. (2014). International Standards for Phytosanitary Measures Draft Annex to ISPM 27:2006. Diagnostic Protocols: *Erwinia amylovora*; *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. (MM López *et al.*).
- López MM, Roselló M, Llop P, Ferrer S, Christen R y Gardan L. (2011). Int J Syst Evol Microbiol 61: 561-67.
- Llop P, Bonaterra A, Peñalver J y López MM. (2000). Appl Environ Microbiol 66: 2071-8.
- Llop P, Cabrefiga J, Smits THM, Dreo T, Barbe S, Pulawska J, Bultreys A, Blom J, Duffy B, Montesinos E y López MM. (2011). PLoS ONE 6:e28651.
- Marco-Noales E, Bertolini E, Morente C y López MM. (2008). Phytopathology 98: 949-55.
- Martí R, Cubero J, Daza A, Piquer J, Salcedo CI, Morente C y López MM. (1999). Eur J Plant Pathol 105: 39-50.
- Ordax M, Biosca EG, Wimalajeewa SC, López MM y Marco-Noales E. (2009). J Appl Microbiol 107: 110-6.
- Ordax M, Marco-Noales E, López MM y Biosca EG. (2006). Appl Environ Microbiol 72:3482-8.
- Ordax M, Piquer-Salcedo J, Santander RD, Sabater-Muñoz B, Biosca EG, López MM y Marco-Noales E. (2015). PLoS ONE 10(5): e0127560.
- Palacio-Bielsa A, Cubero J, Cambra MA, Collados R, Berruete IM y López MM. (2011). Appl Environ Microbiol 77: 89-97.
- Penyalver R, García A, Ferrer A, Bertolini E, Quesada JM, Salcedo CI, Piquer J, Pérez-Panadés J, Carbonell EA, del Río C, Caballero JM y López MM. (2006). Phytopathology 96: 313-9.
- Penyalver R, Vicedo B y López MM. (2000). Eur J Plant Pathol 106: 801-10.
- Rodríguez-Palenzuela P, Matas IM, Murillo J, López-Solanilla E, Bardaji L, Pérez-Martínez I, Rodríguez-Moskea ME, Penyalver R, López MM *et al.* (2010). Environ Microbiol 12,1604-1620.
- Quesada JM, García A, Bertolini E, López MM y Penyalver R. (2007). Int Microbiol 10:77-84.
- Quesada JM, Penyalver R, Pérez-Panadés J, Salcedo CI, Carbonell EA y López MM. (2010a). Crop Prot 29: 1413-20.
- Quesada JM, Penyalver R, Pérez-Panadés J, Salcedo CI, Carbonell EA y López MM. (2010b). Plant Pathol 59: 262-9.
- Quesada JM, Pérez-Martínez I, Ramos C, López MM y Penyalver R. (2008). Res Microbiol 159: 207-15.
- Smits THM, Rezzonico F, López MM, Blom J, Goesmann A, Frey JE, Duffy B. (2013). Syst Appl Microbiol 36: 449-56.
- Teresani GR, Bertolini E, Alfaro-Fernández AO, Martínez MC, Tanaka FA, Kitajima EW, Roselló M, Sanjuán S, Ferrándiz, JC., López MM, Cambra M y Font MI. (2014). Phytopathology 104: 804-11.

Percepción y adaptación en bacterias durante la interacción con la planta

Emilia López Solanilla, Pablo Rodríguez-Palenzuela, José Juan Rodríguez-Herva, Saray Santamaría Hernando, Mariela José Navas Vasquez, Jean-Paul Cerna Vargas

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), Universidad Politécnica de Madrid-Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Pozuelo de Alarcón, Madrid, y Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Madrid

emilia.lopez@upm.es



Foto de grupo. De izquierda a derecha: Mariela José Navas Vasquez, Pablo Rodríguez-Palenzuela, Saray Santamaría Hernando, Emilia López Solanilla, José Juan Rodríguez-Herva y Jean-Paul Cerna Vargas.

El grupo «Bacterias Fitopatógenas» del Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas está liderado por los doctores Emilia López Solanilla y Pablo Rodríguez Palenzuela. Las líneas de investigación en curso se desarrollan a través de aproximaciones mixtas en las que se combinan los datos experimentales con los estudios a nivel bioinformático.

Durante los últimos años el interés del grupo se ha centrado en el estudio de los mecanismos de entrada y adaptación al huésped durante los estadios iniciales de la infección bacteriana. Un aspecto clave durante el ciclo de vida de una

bacteria fitopatógena es la capacidad de adaptarse a los cambios que suceden en el ambiente que le rodea. Estos cambios van desde aquellos a los que se ve sometida en los estadios previos a la infección (cambios de temperatura, luz, cantidad de oxígeno, cantidad de nutrientes...) hasta el cambio de ambiente relacionado con el proceso de entrada al interior de la planta huésped (adaptación al ambiente del apoplasto, incluida la escasez de nutrientes y la presencia de sustancias antimicrobianas). El éxito de la infección residirá, por tanto, en la capacidad de percibir las señales del ambiente (físicas y químicas) y en la reprogramación

de la expresión génica dirigida a enfrentar las condiciones cambiantes.

El estudio de esos aspectos los llevamos a cabo en dos bacterias fitopatógenas modelo: la bacteria necrotrofa *Dickeya dandantii* 3937 (Dd3937), causante de la podredumbre blanda en un gran número de especies vegetales y *Pseudomonas syringae* pv tomato DC3000 (PsPto), bacteria hemibiotrofa que produce la peca del tomate.

PERCEPCIÓN DE SEÑALES AMBIENTALES: LA LUZ

Una de las señales con las que las bacterias fitopatógenas se encuentran durante la fase previa a la entrada son las condiciones lumínicas. Hoy en día es conocido cómo la luz no solo es empleada por organismos fotosintéticos sino que supone una señal que controla el estilo de vida en organismos no fototróficos (Elías-Arnanz *et al.*, 2011). Además, la luz y el ciclo circadiano regula los mecanismos de defensa de las plantas (Bhardwaj *et al.*, 2011). Los patógenos de plantas han debido evolucionar para percibir condiciones de luz asociadas con diferentes niveles de defensa en plantas. En el caso de PsPto nuestro grupo ha descrito recientemente cómo la luz blanca, y en concreto su componente azul, es responsable de la inhibición de la motilidad (Figura 1) y de la promoción de la adherencia a hojas cuando las condiciones son de alta intensidad lumínica. Estas condiciones se corresponden con estadios diurnos en los que la bacteria permanecería preferencialmente en un estadio sésil y protegida de otros factores de estrés, hasta la llegada de la noche (bajada de intensidad lumínica), momento en el que la motilidad y por tanto la entrada al interior de la planta se vería favorecida. Los mecanismos de defensa en planta son más activos durante el día, y por tanto la entrada al tejido vegetal en el periodo cercano a la noche sería más favorable para el éxito de la infección. De hecho, tratamientos de luz cortos realizados justo antes de llevar a cabo ensayos de infección en plantas, tienen un efecto significativo disminuyendo la virulencia de PsPto. Estos fenotipos se ven alterados en un mutante afectado en el fotorreceptor de luz azul LOV que ha sido identificado y caracterizado por nuestro grupo en este patógeno. Este estudio pone de manifiesto la importancia de la luz en la transición al estilo patogénico y su influencia sobre la virulencia de la bacteria (Río-Álvarez *et al.*, 2014).

Dado que no solo la intensidad de luz, sino también la calidad de la misma en cuanto a la prevalencia de distintos componentes (p.ej. azul vs rojo) es variable a lo largo del día en un lugar determinado, nos hemos propuesto llevar a cabo un estudio detallado de la influencia del ciclo de luz diario sobre el proceso de infección. Para ello, en primer lugar estamos llevando a cabo un estudio a nivel transcripcional de la regulación de distintos factores de virulencia bajo distintas condiciones de luz. Esta aproximación, nos permitirá conocer la dinámica de la infección en condiciones reales en relación a la activación de los mecanismos de virulencia dependientes de la luz en distintas fases de la infección.

PERCEPCIÓN DE SEÑALES DE LA PLANTAS: LA QUIMIOTAXIS

La motilidad es un carácter necesario para el éxito de la infección en la mayoría de las bacterias patógenas de plantas. Determina la capacidad de entrada por heridas o entradas naturales al interior del tejido vegetal. El fenómeno de la quimiotaxis permite a las bacterias detectar gradientes de concentración de determinados compuestos y dirigir su movimiento hacia o en contra de este gradiente. Por tanto este fenómeno, en el caso de bacterias fitopatógenas podría permitir detectar potenciales sitios de entrada al interior vegetal. En el caso de Dd3937, en nuestro grupo, hemos

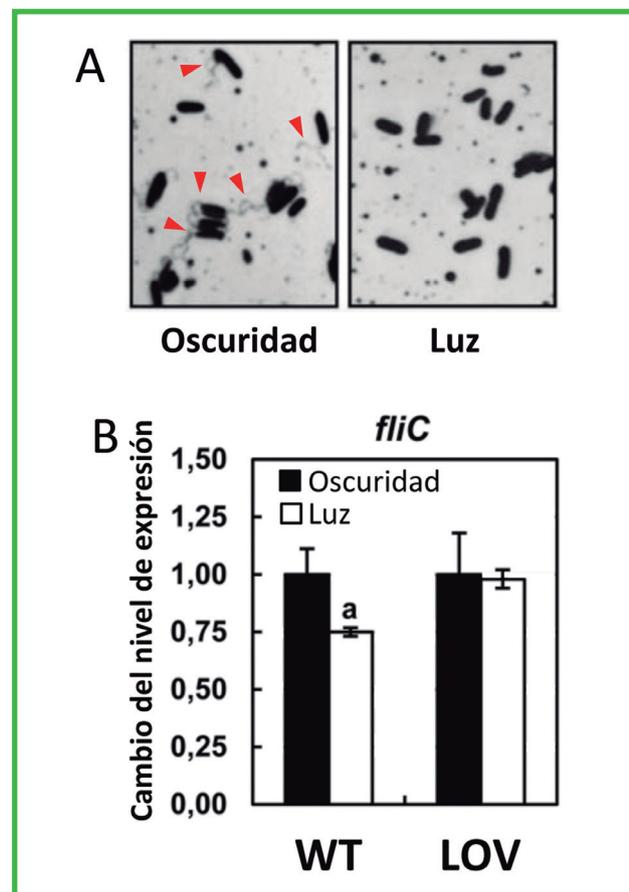


Figura 1. (A) Imágenes de microscopía óptica (630x) de bacterias de la cepa silvestre de PsPto teñidas específicamente para la visualización del flagelo sometidas a condiciones de luz u oscuridad. Las células obtenidas de las placas sometidas a iluminación prácticamente carecen de flagelos (señalados por una flecha roja en el panel de tratamiento en oscuridad). (B) La expresión del gen *fliC* de PsPto, que codifica la flagelina, disminuye significativamente tras un tratamiento de 10 min con luz blanca en comparación con el tratamiento en oscuridad (analizado por qRT-PCR). Dicha expresión, sin embargo, no se ve alterada bajo el mismo tratamiento en el caso de la cepa mutante en el gen que codifica el fotorreceptor LOV de PsPto.

determinado como la motilidad es esencial para el desarrollo de la infección en plantas huéspedes y hemos descrito el patrón de quimio percepción hacia distintos compuestos derivados de plantas (Antúñez-Lamas *et al.*, 2009a). Además hemos determinado como la atracción hacia la hormona vegetal ácido jasmónico es determinante del proceso de entrada a través de heridas (Antúñez-Lamas *et al.*, 2009b).

El proceso de quimiotaxis comienza con la función de unas proteínas quimiorreceptoras conocidas como MCPs (*methyl-accepting chemotaxis proteins*) que reconocen, generalmente a nivel del periplasma, determinados compuestos. Este reconocimiento desencadena un proceso de transducción de señal que concluye en la regulación del motor flagelar, y por tanto en el control de la motilidad. El dominio de estas proteínas implicado en la percepción se denomina LBR (*Ligand Binding Region*). Recientemente y con el objetivo de identificar quimiorreceptores implicados en la percepción de compuestos derivados de heridas en la planta, hemos llevado a cabo un estudio bioinformático que nos ha permitido identificar las proteínas MCP en Dd3937 y analizar sus LBR. La construcción de mutantes en 10 MCP seleccionadas por su frecuencia de aparición en bacterias patógenas de plantas, y los ensayos de quimioatracción y entrada en plantas, nos han permitido determinar la implicación de al menos dos de estos quimiorreceptores durante el proceso de entrada. Los datos sugieren que estos candidatos podrían participar en la percepción de xilosa y ácido jasmónico respectivamente (Río-Álvarez *et al.*, 2015).

En el caso de PsPto también estamos definiendo el perfil de quimiotrayentes que pudieran ser percibidos durante el proceso de entrada. En concreto estamos trabajando en la actualidad con el comportamiento de esta cepa frente a distintas moléculas de la familia de las oxilipinas generadas en la herida.

Con el objetivo de conocer mejor el fenómeno de percepción de compuestos derivados de la planta través de las proteínas MCPs, estamos iniciando el estudio del comportamiento de mutantes en quimiorreceptores en ambas bacterias modelo frente a extractos fraccionados de plantas y frente a colecciones sintéticas de químicos diseñados en base a información sobre la composición de extractos vegetales. El conocimiento de el fenómeno de percepción, dada su relevancia durante los estadios iniciales de la infección, será de gran utilidad en el diseño de estrategias de interacción en el establecimiento de la enfermedad.

Una vez en el apoplasto, las bacterias fitopatógenas han de adaptarse entre a otros factores, a la presencia de moléculas de defensa de la planta. Hemos llevado a cabo un estudio transcriptómico en Dd3937 con el fin de comprender el proceso de adaptación en este patógeno a la presencia de péptidos antimicrobianos que son comunes en plantas. Este estudio nos ha permitido conocer cómo las bacterias reprograman la expresión génica con la finalidad de sobreexpresar, por una parte genes involucrados en respuesta a estrés general, así como mecanismos de respuesta específicos como es el caso de la remodelación de la composición de la membrana o la expresión de transportadores específicos (Río-Álvarez *et al.*, 2012).

HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS PARA EL ESTUDIO DE LAS BACTERIAS ASOCIADAS A PLANTAS

La rápida mejora y abaratamiento de las técnicas de secuenciación ha permitido que dispongamos hoy de una gran cantidad de datos genómicos en los repositorios públicos; esto hace particularmente importante el análisis de dichos datos y el desarrollo de nuevas herramientas bioinformáticas que lo faciliten. Recientemente hemos analizado el genoma de la cepa UMAF0158, en colaboración con investigadores de la universidad de Málaga (Martínez-García *et al.*, 2015a). Dicha cepa es responsable de la necrosis apical del mango. Este análisis ha permitido identificar algunos factores diferenciales que podrían explicar su interacción con un hospedador leñoso, tales como nuevos sistemas de secreción, un repertorio específico de efectores y un operón implicado en la producción de celulosa (Arrebola *et al.*, 2015). En colaboración con el mismo grupo hemos comparado los genomas de dos importantes cepas *Bacillus amiloliquefaciens* utilizadas en control biológico (Magno-Pérez-Bryan *et al.*, 2015). Así mismo, hemos secuenciado y analizado el genoma de la cepa endófito de olivo *Pseudomonas fluorescens* PICF7, en colaboración con un grupo del IAS de Córdoba; dicha cepa es un efectivo agente de biocontrol contra la verticilosis del olivo y su análisis reveló genes potencialmente implicados en su interacción con la planta, tales como sistemas de secreción de los tipos 3 y 6, sideróforos, enzimas detoxificadoras y compuestos volátiles (Martínez-García *et al.*, 2015b).

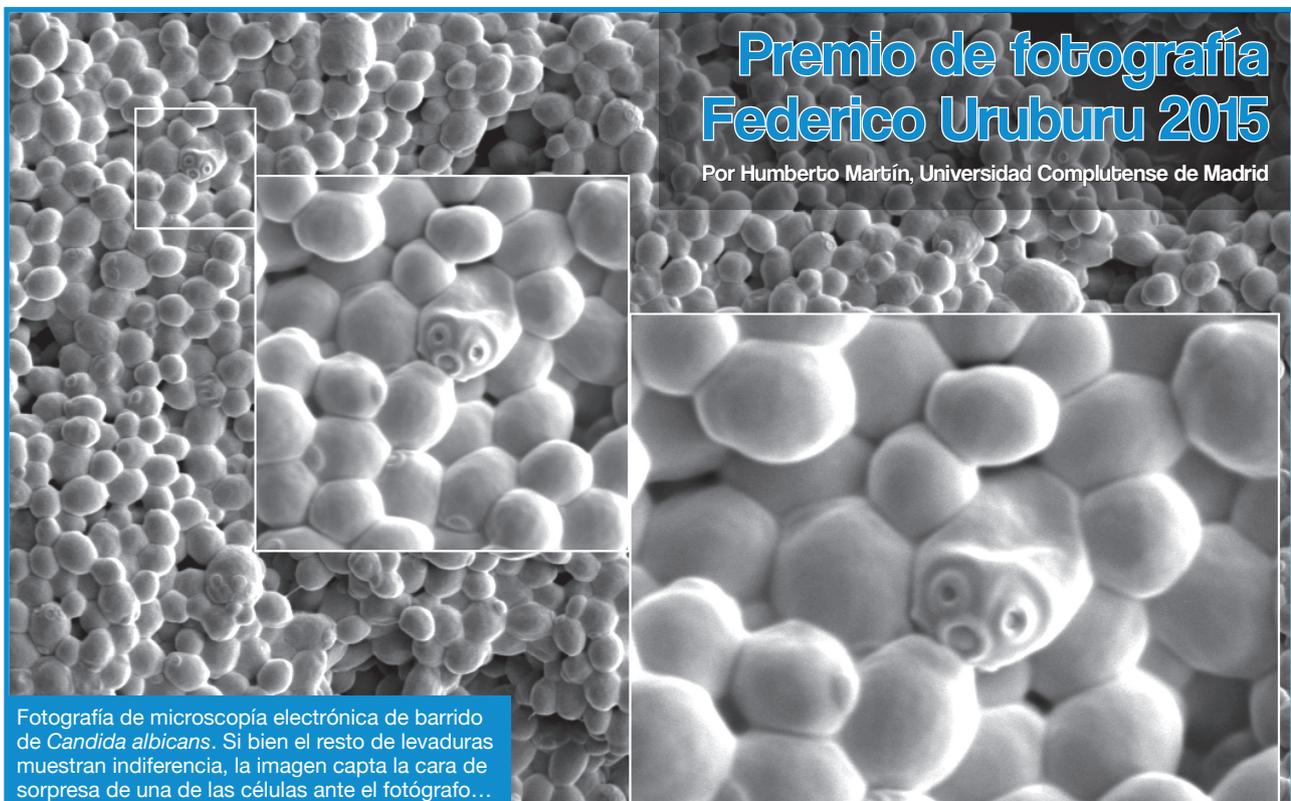
En paralelo hemos desarrollado dos herramientas bioinformáticas para el análisis de genomas bacterianos en el contexto de las interacciones planta-bacteria. T346Hunter (Martínez-García *et al.*, 2015c) es una aplicación web que permite identificar genes implicados en la síntesis de los componentes estructurales de los sistemas de secreción de tipo 3,4 y 6, los cuales tienen una probada implicación en la interacción planta-bacteria. Una segunda aplicación web denominada PIFAR (*Plant-bacteria Interaction Factors Resource*) consiste en un repositorio público de determinantes genéticos bacterianos implicados en la interacción planta-bacteria. Este trabajo parte de una búsqueda bibliográfica extensiva a partir de la cual se desarrolló una base de datos de factores genéticos. El usuario puede identificar en sus propios datos genómicos la presencia de factores similares (a través de un interfaz on-line). La herramienta se ejecutó sobre 3042 genomas bacterianos y los resultados también son accesibles a través de la interfaz (Martínez-García *et al.*, en revisión).

Por último, hemos abordado el problema de la clasificación de genomas bacterianos en relación a su interacción con plantas. Para ello se combinaron las herramientas anteriormente descritas (T346Hunter y PIFAR) y se empleó un clasificador de aprendizaje automático (Random Forest) para generar un modelo probabilístico basado en las anotaciones de ambas herramientas sobre una selección de 420 genomas bacterianos. La aplicación de este clasificador sobre 9500 genomas bacterianos ha revelado potenciales

asociaciones con plantas de una serie de cepas bacterianas comúnmente conocidas por producir enfermedades en mamíferos (Martínez-García *et al.*, en revisión).

REFERENCIAS

- Antúñez-Lamas M, Cabrera-Ordoñez E, López-Solanilla E, Raposo R, Trelles-Salazar O, Rodríguez-Moreno A, Rodríguez-Palenzuela P. (2009a). Role of motility and chemotaxis in the pathogenesis of *Dickeya dadantii* 3937 (ex *Erwinia chrysanthemi* 3937) (2009a) Role of motility and chemotaxis in the pathogenesis of *Dickeya dadantii* 3937 (ex *Erwinia chrysanthemi* 3937). *Microbiology* 155: 434-42.
- Antúñez-Lamas, M, Cabrera E, López-Solanilla E, Solano R, González-Melendi P, Chico J.M, Toth, I, Birch P, Pritchard L, Liu H, Rodríguez-Palenzuela, P. (2009b). Bacterial chemoattraction towards jasmonate plays a role in the entry of *Dickeya dadantii* through wounded tissues. *Mol Microbiol* 74:662-71.
- Arrebola E, Carrión VJ, Gutiérrez-Barranquero JA, Pérez-García A, Rodríguez-Palenzuela P, Cazorla FM, de Vicente A. (2015). Cellulose production in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*: a compromise between epiphytic and pathogenic lifestyles. *FEMS Microbiol Ecol*. 91.
- Bhardwaj V, Meier S, Petersen LN, Ingle RA y Roden LC. (2011). Defence responses of *Arabidopsis thaliana* to infection by *Pseudomonas syringae* are regulated by the circadian clock. *PLoS ONE* 6: e26968.
- Elías-Arnanz M, Padmanabhan S y Murillo FJ (2011). Light-dependent gene regulation in nonphototrophic bacteria. *Curr Opin Microbiol* 14: 128-35.
- Magno-Pérez-Bryan MC, Martínez-García PM, Hierrezuelo J, Rodríguez-Palenzuela P, Arrebola E, Ramos C, de Vicente A, Pérez-García A, Romero D. (2015). Comparative Genomics Within the *Bacillus* Genus Reveal the Singularities of Two Robust *Bacillus amyloliquefaciens* Biocontrol Strains. *Mol Plant Microbe Interact* 28:1102-16.
- Martínez-García PM, Rodríguez-Palenzuela P, Arrebola E, Carrión VJ, Gutiérrez-Barranquero JA, Pérez-García A, Ramos C, Cazorla FM, de Vicente A. (2015a). Bioinformatics analysis of the complete genome sequence of the mango tree pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* UMAF0158 reveals traits relevant to virulence and epiphytic lifestyle. *PLoS ONE* 10:e0136101. doi:10.1371/journal.pone.0136101.
- Martínez-García PM, Ruano-Rosa D, Schilirò E, Prieto P, Ramos C, Rodríguez-Palenzuela P, Mercado-Blanco J. (2015b). Complete genome sequence of *Pseudomonas fluorescens* strain PICF7, an indigenous root endophyte from olive (*Olea europaea* L.) and effective biocontrol agent against *Verticillium dahliae*. *Stand Genomic Sci* 10:10. doi: 10.1186/1944-3277-10-10.
- Martínez-García PM, Ramos C, Rodríguez-Palenzuela P (2015c). T346Hunter: a novel web-based tool for the prediction of type III, type IV and type VI secretion systems in bacterial genomes. *PLoS ONE*. 10:e0119317. doi: 10.1371/journal.pone.0119317.
- Río-Alvarez I, Rodríguez-Herva JJ, Cuartas-Lanza R, Toth I, Pritchard L, Rodríguez-Palenzuela P, López-Solanilla E. (2012). Genome-wide analysis of the response of *Dickeya dadantii* 3937 to plant antimicrobial peptides. *Mol Plant Microbe Interact* 25: 523-33.
- Río-Álvarez I, Rodríguez-Herva JJ, Martínez PM, González-Melendi P, García-Casado G, Rodríguez-Palenzuela P, López-Solanilla E. (2014). Light regulates motility, attachment and virulence in the plant pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. *Environ Microbiol* 16: 2072-85.
- Río-Álvarez, I, Rodríguez-Herva JJ, Martínez PM, González-Melendi P, García-Casado G, Rodríguez-Palenzuela P, López-Solanilla E. (2015). Role of *Dickeya dadantii* 3937 chemoreceptors in the entry to *Arabidopsis* leaves through wounds. *Molecular Plant Pathol* 16: 685-98.



Premio de fotografía Federico Uruburu 2015

Por Humberto Martín, Universidad Complutense de Madrid

Fotografía de microscopía electrónica de barrido de *Candida albicans*. Si bien el resto de levaduras muestran indiferencia, la imagen capta la cara de sorpresa de una de las células ante el fotógrafo...

Biología y control de enfermedades de plantas

Diego Romero, Francisco M. Cazorla, Dolores Fernández-Ortuño, Alejandro Pérez-García, Cayo Ramos, Juan A. Torés y Antonio de Vicente

Grupo de Biología y Control de Enfermedades de Plantas. Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM-UMA-CSIC) «La Mayora», Universidad de Málaga-CSIC

adevicente@uma.es



Foto de grupo. Miembros del grupo de Biología y Control de Enfermedades de Plantas delante de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Málaga.

El grupo de Biología y Control de Enfermedades de Plantas del IHSM-UMA-CSIC en Málaga, está compuesto por siete investigadores sénior que coordinan los diferentes proyectos y contratos con empresas; en la Universidad de Málaga, Francisco Cazorla, Alejandro Pérez, Diego Romero y Antonio de Vicente (Departamento de Microbiología) y Cayo Ramos (Área de Genética); en la Estación Experimental La Mayora del CSIC, Dolores Fernández-Ortuño y Juan A. Torés. Además forman parte del grupo, a día de hoy, un investigador postdoctoral, catorce investigadores en formación realizando su tesis doctoral y tres técnicos de laboratorio, así como varios estudiantes de Master y TF Grado (Foto de grupo). El interés del grupo se centra en el estudio de la etiología, epidemiología y control de enfermedades de culti-

vos subtropicales y mediterráneos relevantes (mango, aguacate, olivo, cucurbitáceas, fresa), y en la caracterización de la biología, patología, virulencia y ecología de los patógenos (bacterias y hongos) responsables. El uso de una estrategia multidisciplinar que abarca desde la fitopatología convencional a la microscopía, la genética, la química o genómica nos está permitiendo profundizar en el detalle molecular de las interacciones microbio-planta en escenarios como: i) el estudio de cepas bacterianas como agentes de control biológico, ii) la detección y caracterización de la resistencia a fungicidas, iii) el análisis de las interacciones moleculares de patógenos humanos como *Bacillus cereus*, o patógenos de plantas, como *Podosphaera xanthii* y *Pseudomonas savastanoi* con distintos cultivos.

PATOLOGÍAS EMERGENTES DEL CULTIVO DEL MANGO

El mango es uno de los cultivos subtropicales más extendidos y asentados en Andalucía. Nuestro grupo, bajo la coordinación de A. de Vicente y F.M. Cazorla, viene trabajando desde 1992 en aportar soluciones prácticas para el control y la prevención de los dos problemas fitosanitarios más importantes de este cultivo en España, la necrosis apical y la malformación. Actualmente estamos concentrados en el estudio de la biología, ecología, virulencia, epidemiología y control de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, agente causal de la necrosis apical del mango en diferentes áreas subtropicales y mediterráneas (España, Israel, Italia o Australia) (Figura 1A). La reciente secuenciación del genoma de una cepa modelo nos ha mostrado algunas singularidades relacionadas con: i) su virulencia sobre mango, un huésped leñoso, y ii) su estilo de vida, con alternancia de etapas patogénicas, en las que produce los síntomas en el árbol, y etapas de vida epífita asintomáticas. Entre los factores característicos de

las cepas patógenas de mango destacan la producción de mangotoxina, implicada en la virulencia de la bacteria y la producción de celulosa, relacionada con la capacidad de colonizar epifíticamente. En cuanto a la malformación del mango, enfermedad que afecta a los brotes, reduciendo fuertemente a la producción, nuestros trabajos centrados en el estudio de la etiología y la epidemiología de la enfermedad han demostrado la presencia en España de al menos dos especies, *Fusarium mangiferae* y *Fusarium tuiense*, y apuntan a varias entradas diferentes del patógeno en España.

GENÓMICA Y EVOLUCIÓN DE LA VIRULENCIA Y ESPECIFICIDAD DE HUÉSPED EN *PSEUDOMONAS SAVASTANOI*

Línea de investigación iniciada en 2002 y coordinada por C. Ramos, inicialmente dirigida al análisis genómico de la bacteria patógena del olivo *Pseudomonas savastanoi*

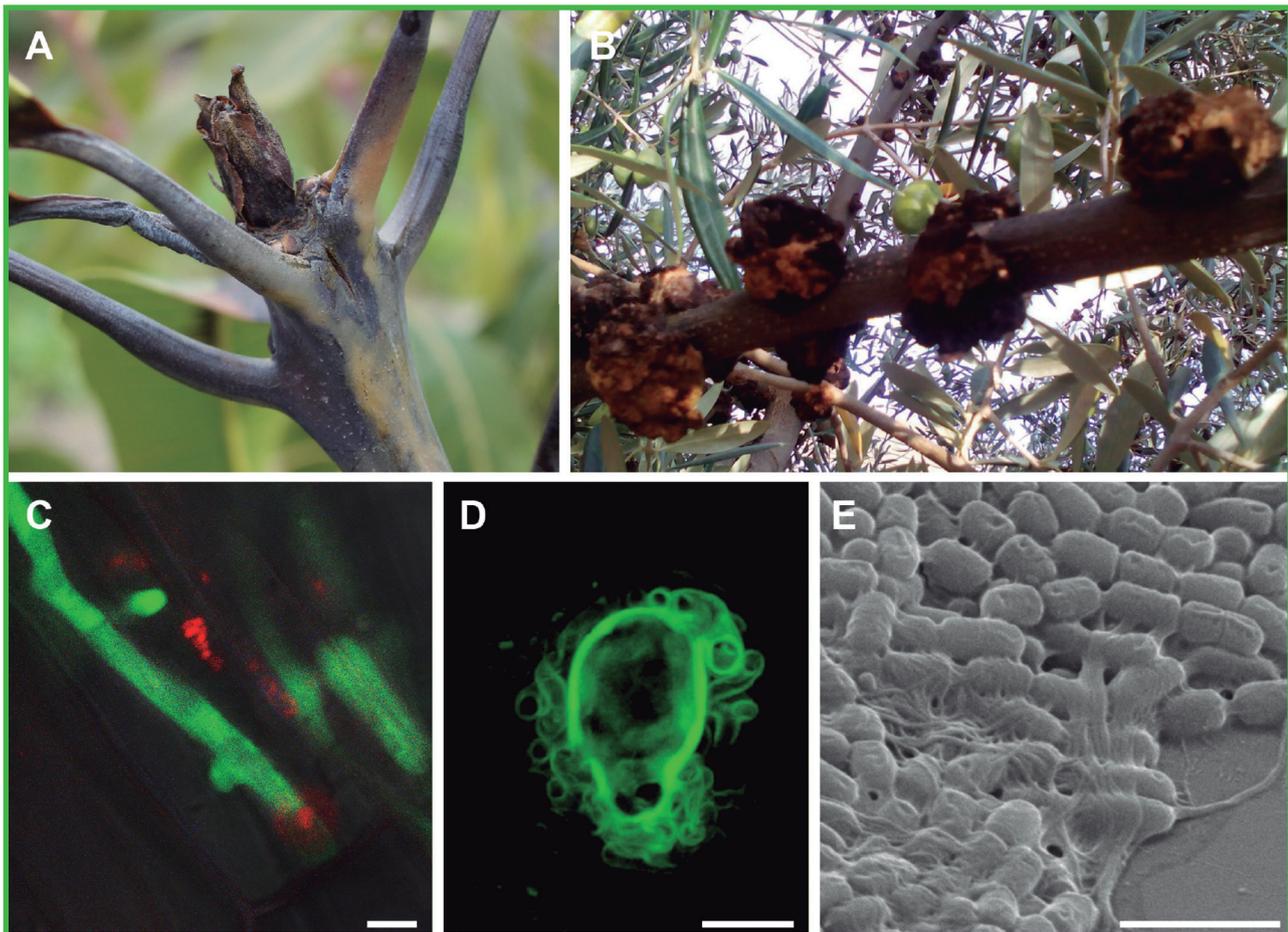


Figura 1. A) Síntomas característicos de la necrosis apical del mango causada por *Pseudomonas syringae*. B) Olivo mostrando un fuerte ataque de tuberculosis causada por *Pseudomonas savastanoi*. C) Micrografía confocal de las interacciones multitróficas entre la raíz de aguacate, las hifas de *Rosellinia necatrix* (expresando gfp) y *Pseudomonas chlororaphis* (expresando rfp). D) Micrografía confocal de un haustorio aislado de *Podosphaera xanthii* marcado con WGA-Alexa Fluor 488. E) Micrografía electrónica de barrido de un biofilm de *Bacillus cereus*, donde las células están embebidas en una matriz extracelular adhesiva. (Barras, 5 µm).

pv. savastanoi (Psv), perteneciente al complejo *Pseudomonas syringae*. *P. savastanoi* produce tumores aéreos en el huésped, provocando la tuberculosis, una de las enfermedades más importantes del olivo (Figura 1B). Además es patógeno de otras especies de plantas, como la adelfa, el fresno, el granado, el jazmín o la retama, y recientemente se ha revelado como un patógeno emergente en la especie ornamental *Mandevilla sanderi* (dipladenia), arbusto de tendencia trepadora y cuyo cultivo en Andalucía genera más de siete millones de ejemplares anuales destinados principalmente al Centro y Norte de Europa. La secuenciación en 2010 del genoma de la cepa Psv NCPPB 3335 en combinación con estrategias de análisis genómico funcional, nos han permitido identificar nuevos genes de virulencia y establecer a *P. savastanoi* como un modelo para el análisis molecular de la interacción entre bacterias patógenas y plantas leñosas. Durante los últimos cinco años, nuestra investigación centrada en el análisis de la patogenidad y virulencia en *P. savastanoi* ha permitido: i) identificar dos nuevas familias de proteínas (efectores) inyectadas por la bacteria en las células del huésped a través del sistema de secreción tipo III (familias HopBK y HopBL) ii) determinar la implicación de dos enzimas relacionadas con el metabolismo del segundo mensajero diguanilato cíclico (di-GMPc), en la supervivencia y virulencia de la bacteria en olivo. En paralelo, nuestro interés está dirigido al análisis genómico comparativo y funcional de la especificidad de huésped en los diversos patovares de *P. savastanoi*.

INTERACCIONES MULTITRÓFICAS EN LA RIZOSFERA

En esta línea de investigación, dirigida por F.M. Cazorla, estamos interesados en el estudio de las interacciones que tienen lugar entre distintos microbios con la rizosfera de las plantas, especialmente durante los eventos de control biológico. Para ello trabajamos principalmente con el modelo aguacate / *Rosellinia* (Figura 1C), en paralelo con los modelos trigo / *Rosellinia* y tomate / *Fusarium*. El aguacate es un cultivo de máximo interés en nuestra área, y *R. necatrix* es un patógeno fúngico emergente que causa la podredumbre blanca radicular, una enfermedad devastadora de este cultivo. En un primer abordaje nos hemos centrado en el estudio de las bases moleculares mediante las cuales rizobacterias (principalmente los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*) desarrollan su actividad de biocontrol frente a distintos patógenos fúngicos de suelo, incluido *R. necatrix*. Nuestros trabajos han demostrado la relevancia de la producción de antibióticos antifúngicos, la eficiente colonización de raíces, la formación de biofilm o la interacción directa con el hongo patógeno, en la biología de los microbios en la rizosfera así como en los procesos que tienen lugar en la misma. Un segundo abordaje, consistente en el estudio del efecto de aplicaciones de enmiendas orgánicas a suelos agrícolas, se produce: i) la mejora tanto del estado fisiológico como del estado fitosanitario de las plantas y ii) el fomento en el desarrollo de supresividad frente

a patógenos fúngicos. El uso de diferentes herramientas como la genómica funcional, nos están permitiendo profundizar en el efecto de las enmiendas orgánicas en la diversidad microbiana de los suelos agrícolas y en la rizosfera de las plantas, y revelar su papel en dicha supresividad.

EL OÍDIO DE LAS CUCURBITÁCEAS

A pesar de los grandes esfuerzos invertidos tanto por compañías de semillas como de agroquímicos, los oídios (*Erysiphales*) continúan siendo uno de los principales factores limitantes para muchos cultivos. El oídio de las cucurbitáceas (*Podosphaera xanthii*) es una de las pesadillas a las que se enfrenta el cultivo de cucurbitáceas en todo el mundo (Figura 1D). La previsión en la aparición de resistencias a los fungicidas usados en el control de la enfermedad, y la diversidad de razas del patógeno que dificultan la aplicación de programas de mejora genética, fuerzan a identificar nuevas dianas para el desarrollo de nuevas herramientas para el control de la enfermedad. La expansión de la genómica y el avance de las tecnologías para explotar esta información, proporcionan una plataforma novedosa desde la cual se pueden desarrollar el futuro arsenal de herramientas de fitoprotección. En esta línea de investigación, coordinada por A. Pérez-García, usamos la información genómica de *P. xanthii* y otras especies de oídios para abordar los objetivos siguientes: i) definir el secretoma de *P. xanthii* mediante la combinación de datos de secuencia de los transcriptomas epifítico y haustorial, ii) identificar proteínas secretadas del hongo claves para el proceso patogénico mediante el análisis funcional de efectores candidatos y de proteínas secretadas conservadas, y iii) identificar las dianas moleculares de estos efectores en melón, preferiblemente aquellos implicados en la manipulación de las defensas del hospedador. Los resultados esperados deberían permitir la identificación de nuevas dianas para el desarrollo de fungicidas o de nuevas variedades de melón resistentes, y así contribuir al desarrollo de una agricultura más sostenible y productiva.

RESISTENCIA A FUNGICIDAS

Esta línea de investigación liderada por J.A. Torés empezó a trabajar en resistencia a fungicidas del oídio de cucurbitáceas (*Podosphaera xanthii*, sin.: *Podosphaera fusca*) a partir del año 1998. Los trabajos iniciales permitieron desarrollar las técnicas y métodos que permitieron superar las dificultades inherentes a su naturaleza como patógeno estricto, que no puede crecer en medios de cultivo. En sucesivos proyectos se abordó el estudio de la resistencia del oídio a fungicidas como las estrobilurinas, los inhibidores de la enzima C-14 demetilasa (biosíntesis del ergosterol) y otras materias activas como bupirimato, metil-tiofanato y quinoxifen. Con los resultados obtenidos se han completado mapas de distribución de resistencia a las diferentes materias activas y/o mecanismos de acción en los cultivos de cucurbitáceas en la mitad sur de España, permitiéndonos hacer recomendaciones acerca del empleo

de diferentes antioídios en función de la provincia y del cultivo. Más tarde dirigimos nuestro interés a la búsqueda de proteínas clave en la patogénesis (v.g. efectores) para tratar de hallar nuevas dianas para el control de la enfermedad. A partir de 2014 hemos iniciado una nueva línea de investigación centrada en el control químico del hongo *Botrytis* en fresa y coordinada por D. Fernández-Ortuño, que se reincorporó a nuestro grupo con un contrato Marie Curie COFUND «Umobility» (Universidad de Málaga). En este proyecto se pretende monitorizar la resistencia a fungicidas en patógenos de fresa, de forma que se contribuya al desarrollo de una agricultura más sostenible y productiva.

LA VIDA EN SOCIEDAD DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS EN LA SUPERFICIE DE PLANTAS

Bacillus es un género bacteriano apasionante, donde tienen cabida especies patógenas de humanos y otras que puedan ser beneficiosas para la salud de las plantas. Como otras especies bacterianas, *Bacillus* es capaz de vivir en comunidad (biofilms), donde las células quedan embebidas y protegidas dentro de una matriz extracelular hecha de diferentes polímeros (Figura 1E). En esta línea de investigación coordinada por D. Romero, estamos interesados en el estudio de la regulación de la formación de biofilms de diferentes especies de *Bacillus* y su contribución a la ecología e interacción con la superficie aérea de las plantas. Para ello trabajamos con *B. cereus*, sobre todo cepas patógenas de humanos, o *B. amyloliquefaciens* y *B. subtilis*, eficaces agentes de control biológico de enfermedades de plantas. Desde un prisma multidisciplinar abordamos un estudio integral del nicho planta-microbio que permita dar respuesta a cuestiones mecanísticas relacionadas con: i) el ensamblaje de la matriz extracelular, prestando especial atención al papel de las proteínas tipo amiloide, ii) el impacto de los biofilms en la interacción *Bacillus*-planta, ecología de la bacteria y fisiología de la planta, y iii) el papel de los biofilms en la interacción entre diferentes especies bacterianas en la superficie vegetal. Nuestra línea de investigación se alimenta de los principios que definen la producción sostenible de alimentos, donde: i) se potencia el efecto beneficioso de los agentes de biocontrol en la salud de la planta, y ii) se reduzca la presencia de patógenos de humanos en los cultivos, siempre minimizando el daño al ambiente.

PUBLICACIONES SELECCIONADAS

- Aragón IM, Pérez-Mendoza D, Gallegos MT, Ramos C. (2015). The c-di-GMP phosphodiesterase BifA is involved in the virulence of bacteria from the *Pseudomonas syringae* complex. *Mol Plant Pathol* 16: 604-15.
- Bellón-Gómez D, Vela-Corcía D, Pérez-García A, Torés JA (2015). Sensitivity of *Podosphaera xanthii* populations to anti-powdery mildew fungicides in Spain. *Pest Manag. Sci.* 71: 1407-1413.
- Bonilla, N, Vida C, Martínez-Alonso M, Landa BB, Gaju N, Cazorla FM, de Vicente A. (2015). Organic amendments to avocado crops induce suppressiveness and influence the composition and activity of soil microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 81: 3405-18.
- Calderón, CE, de Vicente A, Cazorla FM (2014). Role of 2-hexyl, 5-propyl resorcinol production by *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606 in the multitrophic interactions in the avocado rhizosphere during the biocontrol process. *FEMS Microbiol Ecol* 89: 20-31.
- Caro-Astorga J, Pérez-García A, de Vicente A y Romero D. (2015). A genomic region involved in the formation of adhesin fibers in *Bacillus cereus* biofilms. *Front Microbiol* 5: 745.
- Crespo M, Arrebola E, Cazorla FM, Maymon M, Freeman S, Aoki T, O'Donnell K, Torés JA, de Vicente A. (2015). Analysis of genetic diversity of *Fusarium tuiense*, the main causal agent of mango malformation disease in southern Spain. *Plant Disease*: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0153-RE>.
- Fernández-Ortuño D, Grabke A, Li X, Schnabel G (2015). Independent emergence of resistance to seven chemical classes of fungicides in *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 105: 424-32.
- Magno-Pérez-Bryan MC, Martínez-García PM, Hierrezuelo J, Rodríguez-Palenzuela P, Arrebola E, Ramos C, de Vicente A, Pérez-García A, Romero D. (2015). Comparative genomics within the *Bacillus* genus reveal the singularities of two robust *Bacillus amyloliquefaciens* biocontrol strains. *Mol Plant Microbe Interact* 28: 1102-16
- Martínez-Cruz J, Romero D, Dávila JC, Pérez-García A. (2014). The *Podosphaera xanthii* haustorium, the fungal Trojan horse of cucurbit-powdery mildew interactions. *Fungal Genet Biol* 71: 21-31
- Martínez-García P, Rodríguez-Palenzuela P, Arrebola E, Carrión VJ, Gutiérrez-Barranquero, JA, Pérez-García A, Ramos C, Cazorla FM, de Vicente A. (2015). Bioinformatics analysis of the complete sequence of the mango tree pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* UMAF0158 reveals traits relevant to virulence and epiphytic lifestyle. *PLoS ONE* 10:e0136101.
- Matas IM, Castañeda-Ojeda MP, Aragón IM, Antúnez-Lamas M, Murillo J, Rodríguez-Palenzuela P, López-Solanilla E, Ramos C. (2014). Translocation and functional analysis of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 type III secretion system effectors reveals two novel effector families of the *Pseudomonas syringae* complex. *Mol Plant Microbe Interact* 27: 424-36.
- Vela-Corcía D, Romero D, Torés JA, de Vicente A, Pérez-García A. (2015). Transient transformation of *Podosphaera xanthii* by electroporation of conidia. *BMC Microbiol.* 15: 20-

La sección «nuestra ciencia» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima es de 250 palabras. Envía tus reseñas a la Dirección de las revistas o al delegado de Difusión de tu Grupo Especializado.

semaforo@semicrobiologia.org
noticiasem@semicrobiologia.org

Querido Presidente,



Desierto de Atacama (Chile) con campamento de la expedición en 2013.

Creo que con esta invitación para participar en la Sección «Carta al Presidente» se intenta conocer la opinión de un investigador extranjero, que desde hace bastante tiempo desarrolla su actividad científica en España. En este breve relato pretendo hacer un viaje al pasado y compararlo con el presente. Agradezco mucho al Presidente esta posibilidad y es para mí un honor cumplir la promesa de compartir brevemente con los lectores de SEM@foro mis experiencias, mis vivencias y mis observaciones acerca de actividad investigadora y de la vida de un científico polaco en un país tan lejano físicamente y tan cercano emocionalmente como ha sido y es para mí España. En realidad mi visión de la actividad investigadora en España es aparentemente muy parecida a la de mis compañeros científicos españoles. Pero y como suele pasar a lo mejor algunas de mis observaciones resultarán por lo menos curiosas por ser percibidas por un extranjero.

Mi llegada a España por primera vez en 1985 no ha sido un accidente sino que ha sido el resultado de un intercambio entre Centros de Investigación. Todo eso gracias a un convenio entre el Consejo Superior de Investigaciones Científicas y la Academia Polaca de Ciencias (PAN), donde he emprendido mi carrera investigadora en 1983. Es importante subrayar, que ya en los años ochenta muchos jóvenes científicos extranjeros, incluso predoctorales (mi caso) han tenido posibilidad de visitar y trabajar en muchos centros de investigación en España. En mi caso he visitado como becario predoctoral el Instituto de Edafología y Biología Vegetal (IEBV) – CSIC en Madrid en 1986, 1988 y 1989. ¿Y porque tantas veces y allí? Resulta agradable y justo decir que en este instituto he encontrado maravillosas personas, desde investigadores con renombre hasta el personal técnico y todas estas personas con muchas ganas de ayudarme en la realización de mis ideas científicas. Es interesante

Jacek Wierzchos



Jacek Wierzchos es Científico Titular del Museo Nacional de Ciencias Naturales del CSIC, Madrid y es Doctor en Ciencias Químicas por la Academia Polaca de Ciencias (1990). Sus principales áreas de investigación están englobadas en: geomicrobiología, ecología de los microorganismos en ambientes extremos, biodeterioro de monumentos históricos, microscopía electrónica, fotónica y sistemas de microanálisis, y micropaleontología. Sus líneas de investigación se centran en la ecología microbiana y geomicrobiología de los microorganismos litobióticos en ambientes áridos e hiperáridos y en particular en:

- Caracterización de los procesos de desertificación en relación con Cambio Climático en contexto de la historia de la Tierra y su vida microscópica.
- Determinación de límites de vida microbiana litobiótica en ambientes de extrema hiperaridez e identificación de la presencia de biominerales, biomoléculas y microfósiles de microorganismos - testigos de vida extinguida.
- Estudio de biorreceptividad de sustratos líticos en ambientes extremos.
- Identificación de estrategias de adaptación utilizadas por las comunidades microbianas litobióticas.
- Detección de biomoléculas con las posibles aplicaciones biotecnológicas. En relación con sus líneas de investigación fue invitado por la NASA a participar en el estudio de la búsqueda de las posibles huellas de vida en el famoso meteorito procedente de Marte ALH84001. J. Wierzchos ha participado y dirigido muchas expediciones científicas al desierto de Negev (Israel), desierto de Mojave (EE.UU.) y sobre todo al desierto de Atacama (Chile) y ha sido descubridor de la vida microbiana dentro de las rocas de sal en la zona hiperárida de este desierto.

Jacek Wierzchos
Dept. Biogeoquímica y Ecología Microbiana
Museo Nacional de Ciencias Naturales – CSIC, 28006 Madrid
c/Serrano 115 bis.

mencionar que nadie me intentó imponer líneas de trabajo. Han sido mis ideas las que estuvieron recibiendo un estupendo apoyo científico y metodológico. Además ya en 1988 y en 1989 se me financió participación en Cursos de Especialista en microscopía, microanálisis y mineralogía. Nuestro centro estaba lleno de estudiantes de predoctorado, becarios postdoctorales, investigadores y profesores extranjeros en estancias de hasta 1-2 años y procedentes de gran variedad de continentes y países. La verdad es que se vivía y se respiraba una atmosfera de investigación —lo imprescindible en esta nuestra labor tan compleja y creativa. He aprendido muchísimas estrategias de investigación en el campo de la mineralogía y geomicrobiología con la aplicación de técnicas de microscopía electrónica y microanálisis— nada habitual en los años ochenta. Por ello enseguida tuve claro, que después de mi defensa de la tesis, con resultados en parte obtenidos en IEBV-CSIC, (1989) y en Polonia en el Instituto de Agrofísica-PAN que quería continuar tan apasionantes líneas de investigación sobre el entorno situado entre lo inerte (rocas y sus minerales) y lo vivo (microbiota). Creo que estas líneas han sido tan atractivas y relevantes científicamente, que no me he separado de ellas hasta hoy y espero seguir por estos caminos. Por supuesto que he tenido suerte por contar con la enseñanza, apoyo y colaboración de la pionera en estos temas, la Prof. Carmen Ascaso (hoy en el Museo Nacional de Ciencias Naturales (-MNCN) y luego más tarde ya en finales de los 90 con la colaboración del Prof. Imre E. Friedmann (NASA) eminente microbiólogo que nos indujo a investigar, haciendo acopio de nuestra experiencia, sobre los ambientes extremadamente hiperáridos de los Valles Secos de la Antártida. Así que después de la lectura de la tesis y de acuerdo con mi intención, he sido contratado para tres años en IEBV-CSIC en Madrid dentro un programa de contratos del Ministerio de Educación y Ciencia (en aquella época los ministerios que dirigían asuntos de actividad investigadora todavía se llamaban «...y Ciencia») denominado: Estancias de Investigadores y Tecnólogos Extranjeros. Por cierto, en nuestro centro en ese momento hemos estado dos investi-

gadores (el otro era estadounidense) contratados dentro del citado programa en el mismo departamento. Otro hincapié: Aquí, en este País y en esta institución –CSIC, hace 25 años se interesaban por acoger expertos extranjeros y se les contrataba con muy aceptables condiciones económicas para ellos y con seguro médico privado incluido para toda la familia del investigador. Todo esto puede sonar a los más jóvenes que puedan leer este texto, como *Ciencia Ficción*, pero así fue en España de los noventa. Durante esta estancia he progresado mucho en calidad de mi actividad investigadora, incluso poniendo a punto con Carmen Ascaso una nueva técnica de visualización y análisis de la interfase mineral-microbiota. Fueron años (1990-1993) estupendos cuando uno se dedicaba hacer Ciencia con apoyo y ayuda del personal técnico y administrativo, acudiendo a Congresos, Workshops y Simposios y cursos de las cada vez más avanzadas técnicas. En esta época hemos publicado trabajos creo que muy interesantes. Aunque no recuerdo oír la palabra excelencia, ni cuartiles, ni percentiles. Simplemente nos hemos dedicado a nuestra pasión y nuestra labor científica que era (y es) hacer la Ciencia y todo eso con ayuda y apoyo de nuestros compañeros y de las autoridades. Más tarde el contrato se terminó y mi Instituto y mi grupo de investigación prácticamente no tuvieron posibilidades de proporcionarme ningún puesto de trabajo para que pudiera seguir trabajando con ellos. Polonia a los principios de los noventa todavía no era sitio donde podría desarrollar exitosamente mis líneas de investigación, así que decidí aceptar un contrato laboral en la Universidad de Lérida (UdL) como responsable de un Servicio de Microscopía que todavía no existía y tenía que poner en marcha con un HR-TEM, SEM, EDS y CLSM. Por cierto el microscopio confocal que se instaló en UdL ha sido el cuarto instalado en Península Ibérica (!). Me gustó la idea de un desafío tan interesante como instalar y poner a punto un Servicio de Microscopía y formar investigadores para que puedan aprovechar novedosas técnicas de microscopía y microanálisis en sus líneas de investigación. En ningún momento deje de pensar que mi formación investigadora puede y

debe ser abandonada y sabía que puedo por un lado llevar el Servicio y por el otro investigar. Para mí esto ha sido una composición perfecta de un experto en microscopía y un investigador experto en geomicrobiología para poder enseñar e ir ayudando a tantos científicos en UdL. A la vez he estado abierto a la colaboración con el sector empresarial y pensé que las autoridades de la UdL deberían sentirse muy contentos de este «fichaje». Y la verdad fue diferente. No entendía cómo es posible que no hubiera intención de aprovechar todos estos recursos que estaba voluntariamente proporcionando. Al final, sí que



Zona de recolección de calcitas colonizadas. Valle de la Luna al fondo (Desierto de Atacama).



Zona de recolección de halitas colonizadas en Yungay (Desierto de Atacama). JW preparando la estación de recogida de datos microclimáticos por transmisión por satélite.

tenía permisos incluso para dirigir los Proyectos Nacionales del Plan Nacional de Investigación y/o convenios de colaboración, pero todo eso gracias a muy buena voluntad de los Vicerrectores de Investigación de la UdL y todo eso como excepciones. No podía entender que con el paso de tiempo cada vez parecía que se me hacía más y más un favor cuando se me daba algún permiso para pedir un proyecto nacional y/o firmar algún convenio de colaboración. Siendo científico sabía que no todo es explicable y toda esta situación me inspiró para realizar más esfuerzo y así llegue a ser Profesor Agregado de la UdL en 2007 y Científico Titular de CSIC en 2008.

Muchas circunstancias me han inclinado a la vuelta a mi grupo de investigación de Ecología y Geomicrobiología de Sustrato Lítico que ahora está ubicado en el MNCN-CSIC. Y es que he vuelto lleno de ilusiones y ganas de progresar en mis proyectos de investigación y quizás con un profundo deseo de formar y enseñar a los jóvenes científicos tal como a mí hace décadas se me ha enseñado. En términos generales estoy totalmente realizado científicamente: hemos descubierto varios ecosistemas microbianos endolíticos en el más hiperárido desierto del mundo y estamos progresando desde hace diez años con deleite realizando proyectos científicos colaborando exitosamente con varios y excelentes grupos de investigación de España y de otros países. Me da mucha satisfacción poder utilizar las más vanguardistas estrategias de investigación gracias a muy buen equipamiento de nuestros laboratorios y excelente trato del personal al cargo de laboratorios y los Servicios. Sin embargo, tengo que decir que personal es cada vez más escaso porque no se reponen plazas, con el consiguiente incremento de carga de trabajo para los que quedan. También es muy gratificante la organización que he llevado a cabo de siete expediciones al desierto de Atacama. Obviamente no todo es de color rosa. Y aquí ver este mismo vaso medio lleno o medio vacío podría formar otra Carta al Presidente. Ha llegado la crisis y estuve convencido que la falta de recursos económicos va por fin

inducir a mucho mejor aprovechamiento eso de que tenemos. Es la ley de la naturaleza. Los microorganismos en ambientes extremos colaboran y elaboran muy sofisticadas estrategias de defensa contra las condiciones hostiles. Pero me siento muy extranjero y extrañado porque en vez de describir mis resultados de investigación y realizar mis publicaciones, me siento obligado escribir informes exhaustivos sobre la adquisición de tal o cual material adquirido hace media docena de años, material que cualquier persona que lea con detalle los objetivos de aquellos y estos proyectos, vería totalmente justificada su adquisición sin que el investigador tuviera que dar explicaciones de cada cosa una y *mil veces*. Todos nosotros y todos los días sin excepción y cada vez más, nos encontramos con miles de absurdos y derroches de tiempo, de energía, de dinero y de recursos. Y sigo con la pregunta de un extranjero y ¿cómo se puede ser «excelente» en estas condiciones y competir con nuestros colegas de otros países que escriben artículos? Es por eso que aprecio tanto a mis compañeros científicos españoles por su afán por la CIENCIA, por su extraordinaria pasión y por trabajar muchas horas al día, cosa que hacen la mayoría de ellos. Tiene que ser eso –la pasión por la CIENCIA, si no ¿cómo podríamos como País seguir en los rankings muy valorados (por lo menos lo hemos sido) en la excelencia científica? Decía Jean-Jacques Rousseau: «Todas las pasiones son buenas mientras uno es dueño de ellas, y todas son malas cuando nos esclavizan». Se han vertido mares de tinta con la intención de implicar a nuestros políticos y responsables administrativos y convencerles de que sí que podemos volver a ser «excelentes» pero con la condición de que se nos empiece a apoyar en nuestra tan compleja y difícil labor. Como investigadores somos libres en tomar decisiones acerca de nuestras estrategias de investigación, y libres debemos de sentirnos en cuanto a nuestra pasión por la ciencia. Sin embargo, cuando ya no nos quede más que la pasión, seremos solamente excelentes esclavos del sistema. Quiero entender que no será así, y ojalá cuanto antes.

Colabora con el banco de imágenes D+D SEM en flickr

Utiliza y comparte fotogramas, gráficos o imágenes de interés didáctico en nuestro repositorio común



Visítanos en:
www.flickr.com/photos/dydm_sem/

Se puede remitir todo tipo de imágenes relacionadas con la Microbiología: Microscopía, cultivos, pruebas de identificación, técnicas, historia...

Las imágenes, en color RGB o en tono de gris, se enviarán en formato JPG con un tamaño mínimo de 1024x768 píxeles o equivalente (es recomendable de 1600x1200 a 2048x1536 para mejorar la visualización).

Envía tus imágenes a los responsables del grupo de trabajo (sbarcena@alumni.unav.es) junto con la información que aparecerá en la foto:

Puedes descargarlas en distintos tamaños:

Cuadrado (150 × 150)
Pequeña (240 × 180)
Mediana (640 × 480)
Grande (2048 × 1536)
Original (4000 × 3000)
Ver todos los tamaños



DyDM SEM

+ Seguir

Título corto

Anabaena (Nostoc) sp. PCC7120 (Nitrógeno atmosférico)

Descripción

Cianobacteria filamentosa Anabaena (Nostoc) sp. PCC7120 creciendo sobre medio sin fuente de nitrógeno combinado. En estas condiciones se diferencian unas células (heterocistos) especializadas en la fijación de nitrógeno atmosférico. Los heterocistos se observan a intervalos semiregulares como células de mayor tamaño que el resto de las células del filamento (células vegetativas).

Autoras: Elvira Olmedo-Verd y Alicia M. Muro-Pastor

Autores

FEMS 2017

7TH CONGRESS OF EUROPEAN MICROBIOLOGISTS

JULY 9-13, 2017 VALENCIA, SPAIN



XXVI SEM
Congreso



www.fems-microbiology2017.kenes.com