

ELENA GONZÁLEZ-FANDOS (EDITORIA)

AVANCES EN MICROBIOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE LA RIOJA
SERVICIO DE PUBLICACIONES

2015

AVANCES en microbiología / Elena González-Fandos (editora). – Logroño : Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2015
364 p. ; 24 cm.
ISBN 978-84-606-8181-6
Textos en español e inglés.
1. Microbiología. I. González-Fandos, Elena. II. Universidad de La Rioja. Servicio de Publicaciones
579
PSG - IBIC 1.1

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra solo puede ser realizada con la autorización de los titulares, salvo excepción prevista por la ley. Diríjase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos, www.cedro.org) si necesita fotocopiar, escanear o hacer copias digitales de algún fragmento de esta obra.

© Logroño 2015

Los autores

Edita: Universidad de La Rioja. Servicio de Publicaciones

Diseño de portada: Universidad de La Rioja. Servicio de Comunicación

Producción Gráfica: Reproestudio, S.A.

ISBN: 978-84-606-8181-6

Depósito Legal: LR 637-2015

Impreso en España - Printed in Spain

de microarrays Sm14kOligo según Nogales *et al.* 2010. BMC Genomics 11:157, y posterior comprobación mediante RT-qPCR y medida de actividad β -galactosidasa de células que contienen fusiones transcripcionales de promotores de interés al gen *lacZ*.

Resultados y discusión

El mutante GNS577 se aisló por mostrar una reducida movilidad en superficie. La caracterización genética reveló que el Tn5 interrumpe la secuencia del gen *ntrY* que codifica la proteína sensora del sistema regulador de dos componentes NtrY/X. GNS577 presenta fenotipo pleiotrópico. Por un lado, muestra defectos en motilidad general debido a un defecto en la síntesis de flagelos causado por la represión de VisNR, regulador máster del regulón flagelar. Además, produce gran cantidad de succinoglicano (EPS I), resultado de la activación de los genes *exo* lo que le permite formar más biofilm en superficies abióticas. GNS577 es además sensible a altas concentraciones de sal. Aunque este transposante es capaz de inducir nódulos fijadores de nitrógeno, sin embargo, está muy afectado en la capacidad competitiva por la ocupación de nódulos, muy probablemente como consecuencia de su limitada capacidad colonizadora de la raíz. Hemos comprobado que la menor motilidad bacteriana es responsable de su defecto simbiótico ya que la sobre-expresión de VisNR permite recuperar la capacidad de colonizar la raíz y competir por la ocupación de nódulos. Ensayos de complementación genética han demostrado que se requieren los dos componentes del sistema (NtrY y NtrX) para que GNS577 recupere el fenotipo silvestre. Un análisis transcriptómico reveló que entre los genes que mostraron expresión diferencial en GNS577 se encontraban genes que se inducen en condiciones microaeróbicas, tales como componentes de la ruta de desnitrificación o genes de la oxidasa terminal *cbb3*. El empleo de distintas fusiones transcripcionales nos han permitido comprobar que el sistema NtrY/X en *S. meliloti* contribuye a la expresión óptima de los genes de desnitrificación y del gen *nifA* en respuesta a la presencia de nitrato.

Conclusiones

El sistema NtrY/X de *S. meliloti* GR4 controla motilidad, producción de EPS I, y genes del metabolismo nitrogenado, pero no es esencial para la fijación simbiótica de nitrógeno.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por MINECO (BIO2010-18005; BIO2013-42801-P), fondos FEDER y MECD (FPU12/01006).

MULTIRRESISTENCIA A FUNGICIDAS EN AISLADOS DE *BOTRYTIS CINEREA* DESDE MUESTRA DE FRESA PROCEDENTES DEL SUDESTE DE LOS ESTADOS UNIDOS

DOLORES FERNÁNDEZ-ORTUÑO¹, ANJA GRABKE², PATRICIA KAREN BRYSON², XINGPENG LI²,
JUAN ANTONIO TORÉS¹, ANTONIO DE VICENTE¹, GUIDO SCHNABEL²

¹Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora"-Universidad de Málaga-
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Málaga

²School of Agricultural, Forest, & Environmental Sciences, Clemson University,
Carolina del Sur, Estados Unidos

Una de las enfermedades mas comunes que afecta al cultivo de fresa es la podredumbre gris causada por el hongo *Botrytis cinerea*. Esta enfermedad se presenta principalmente en frutos, pero también puede afectar a hojas, peciolo, yemas, pétalos y pedúnculos florales. Importantes

pérdidas económicas están asociadas a esta enfermedad que puede no solo presentarse durante el periodo de cultivo, sino también después de la cosecha, durante el almacenamiento y transporte. La principal estrategia para controlar esta enfermedad es a través del uso de diferentes clases de fungicidas. Sin embargo, *B. cinerea* ha sido catalogado como un hongo con alto riesgo para desarrollar resistencias al poco tiempo de uso de estos compuestos. Como parte de un programa de supervisión de resistencia a fungicidas llevado a cabo durante las campañas de cultivo 2012 y 2013 en el sudeste de los Estados Unidos, un total de 1.890 aislados de *B. cinerea* fueron analizados mediante un sencillo ensayo de sensibilidad a fungicidas que evaluaba la presencia o ausencia de desarrollo micelial del hongo en placas multipocillos con medio agarizado que incluían diversas clases de fungicidas a ciertas concentraciones discriminatorias. Las frecuencias medias de resistencia obtenidas en 2012 fueron del 76, 42, 29, 27, 25, 3, y 1%, para metil-tiofanato, piraclostrobina, boscalida, ciprodinil, fenhexamida, iprodiona y fludioxonil, respectivamente. En 2013, las frecuencias medias fueron del 85, 59, 5, 17, 26, 2, y 1%, respectivamente. Los aislados analizados fueron resistentes a uno (23%), dos (18%), tres (19%), cuatro (14%), cinco (3%), o seis (0.1%) clases de fungicidas en 2012. En 2013 esta distribución fue del 24%, 29%, 26%, 8%, 2%, y 0.3%, respectivamente, pero además 6 aislados (0.3%) fueron resistentes a todos los fungicidas autorizados. La resistencia a boscalida, fenhexamida, piraclostrobina y metil-tiofanato estuvo correlacionada con mutaciones puntuales en los correspondientes genes dianas (*sdbB*, *erg27*, *cytb* y *B-tubulina*). Los aislados fueron clasificados como MDR1 o MDR1h en función de los niveles de sensibilidad a fludioxonil y variaciones aminoacídicas en el factor de transcripción *mrr1*. La expresión del transportador ABC, *atrB*, fue mayor en aquellos aislados clasificados como MDR1h. El descubrimiento de aislados de *B. cinerea* resistentes a todos los fungicidas autorizados para el control de la podredumbre gris con mecanismos de acción específicos representa un hecho sin precedente que confirma la absoluta ineficacia de ciertas clases de fungicidas y justifica la implementación de programas continuos de monitorización de resistencia a fungicidas.

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA APLICACIÓN DE PGPR EN CULTIVOS BIOSALUDABLES: ENSAYO EN VIÑEDO

GONZALO SACRISTÁN¹, DOMINGO JAVIER LÓPEZ², ANA GARCÍA-VILLARACO³, FRANCISCO JAVIER GUTIÉRREZ³

¹Área de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Burgos

²Área de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Ciencias, Universidad de Burgos

³Área de Fisiología Vegetal y Ecología, Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo CEU

Actualmente existe una creciente demanda de alimentos "saludables", con elevada concentración de sustancias antioxidantes. La eficacia del empleo de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, P.G.P.R.) ha sido demostrada en diversos trabajos de investigación. La aplicación de las PGPR no solamente se ha aplicado al ámbito de la agroalimentación sino que también se emplean en otros sectores tales como el sector forestal y/o medioambiental. Se ha llevado a cabo un ensayo de inoculación de una suspensión mixta de PGPR en viñedo. Se realizó mediante el convenio establecido entre la Universidad de Burgos y el Centro de Formación Agraria "Príncipe Felipe" situado en Albillos (Burgos) y perteneciente a la Junta de Castilla y León. La suspensión bacteriana empleada contenía *Pseudomonas fluorescens* N21.4 y *Pseudomonas aeruginosa* N17.35 (10^8 ufc/ml) y se aplicó mediante pulverización foliar. Se anotaron los valores del: número de racimos/cepa; peso de 100 bayas; peso de racimos/cepa; peso de la parte aérea y la acidez total. También se realizaron las medidas del contenido de Sólidos Solubles Totales (°Brix) y se determinaron los índices de polifenoles, de color, de antocianos y taninos tanto