



Entidad: Facultad de Ciencias/IHSM La Mayora, Universidad de Málaga

Título del proyecto: Microbiología y agricultura: Descifrando la interacción entre los microorganismos y las plantas.

Acrónimo: Microplant

Investigadores: José A. Gutiérrez Barranquero (Profesor Ayudante Doctor), Víctor J. Carrión (Investigador Ramón y Cajal), Eva Arrebola Díez (Profesora Titular), Sandra Tienda (Investigadora Postdoctoral), Francisco Cazorla (Catedrático).

Departamento del Investigador: Microbiología

Número de Alumnos: 5

Nivel educativo del alumnado: 1º y 2º de Bachillerato.

Horario y días en los que deben acudir los estudiantes: Los estudiantes deben acudir al menos 4 días durante los días comprendidos entre el lunes 17 al viernes 28 de junio.

Días: Lunes 17, martes 18, Miércoles 19, Jueves 20, Lunes 24, Martes 25, Miércoles 26 y Jueves 27. En horario de mañana. Una media de 3, 5 horas por día. Horario orientativo de 10:00 a 13:30.

Breve descripción del proyecto:

En el proyecto Microplant se plantea dar a conocer a los estudiantes como se producen las interacciones entre los microorganismos (principalmente bacterias y hongos) y las plantas. Nuestro grupo está interesado en conocer como se llevan a cabo las interacciones entre los microorganismos patógenos y las plantas, dando lugar a enfermedad, y de como se dan las interacciones entre microorganismos beneficiosos y las plantas, protegiéndolas de factores estresantes como pueden ser los microorganismos patógenos (estrés biótico) o frente a condiciones adversas, como la sequía y la salinidad (estreses abióticos). Nuestro grupo de investigación se centra principalmente en la interacción entre bacterias patógenas en cultivos subtropicales, principalmente el mango, y en la interacción bacterias beneficiosas-hongos patógenos-aguacate. Ambos cultivos subtropicales son singulares y de especial relevancia para la agricultura andaluza, y principalmente para la provincia de Málaga, que es actualmente en mayor productor y exportador de ambos cultivos en Europa. Actualmente y con la reincorporación del investigador Ramón y Cajal, Víctor Carrión, estamos incluyendo más modelos como son el tomate, y el arroz, dos de los cultivos más importantes a nivel mundial. Para comenzar a descifrar las interacciones que se llevan a cabo en estos modelos, se han diseñado una serie de experimentos de laboratorio donde los estudiantes podrán conocer de cerca a los microorganismos con los que vamos a trabajar (tanto patógenos como beneficiosos), y de cómo se realizan experimentos en

condiciones de laboratorio para entender y conocer en profundidad cómo se llevan a cabo estas interacciones en la naturaleza, yendo desde la ciencia aplicada a la ciencia básica. Se han diseñado diferentes experimentos donde los estudiantes podrán observar de una manera sencilla como se producen estas interacciones; y que se detallan a continuación:

1) Normas de seguridad y de trabajo en el laboratorio.

Este proyecto dirigido a estudiantes 1º, 2º de Bachillerato, 4º de ESO y ciclos formativos de grado superior comenzará el primer día explicándoles cuales son las normas de seguridad para trabajar en un laboratorio de investigación, y enseñándoles de primera mano, como se trabaja en el laboratorio. Además, se les dará una charla de aproximadamente una hora, donde participarán todos los miembros del proyecto y donde resumirán cuales son las principales líneas de investigación que se llevan a cabo en nuestro grupo.

Posteriormente, comenzaremos con las prácticas de laboratorio, comenzando con la preparación de medios de cultivo, el pilar básico, para comenzar a trabajar en un laboratorio de microbiología. Se les explicará también cuales son los principales componentes de los medios de cultivo, y de cómo se esterilizan estos medios para que estén libre de microorganismos.

2) Experimentos de antagonismo en placas de agar entre bacterias beneficiosas y hongos patógenos.

Los hongos patógenos son uno de los principales factores limitantes para la producción de numerosos cultivos de interés agronómico. En Andalucía, el hongo patógeno de suelo *Rosellinia necatrix*, y recientemente hongos aéreos pertenecientes al género *Botryosphaeria*, son los principales causantes de la merma de este cultivo en la provincia de Málaga. Estos experimentos se realizan mediante inoculaciones en placas de medios de cultivo con agar, donde se enfrentan las bacterias beneficiosas frente a estos hongos patógenos, pudiendo observar de manera directa y visual como las bacterias beneficiosas pueden inhibir el crecimiento de estos hongos patógenos. Esta actividad se da principalmente por la producción de compuestos antifúngicos por parte de las bacterias beneficiosas.

3) Interacción entre bacterias beneficiosas y bacterias patógenas en placas de agar.

Las bacterias beneficiosas no solo presentan actividad frente a hongos patógenos, sino que también en algunos casos, pueden tener un amplio rango de patógenos a los que pueden afectar, incluyendo las bacterias patógenas. Mediante inoculaciones de tanto bacterias patógenas como beneficiosas en placas de medios de cultivo con agar realizando enfrentamientos de ambos, seremos capaces de observar como las bacterias beneficiosas pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas. Esta inhibición se da

principalmente por la producción de compuestos antimicrobianos, y en particular por un tipo especial de sustancias antimicrobianas como son las bacteriocinas.

4) Ensayos de formación de biopelículas tanto de bacterias patógenas como beneficiosas.

La formación de biopelículas sobre diferentes partes de las plantas es una de las características más importantes para las bacterias patógenas a la hora de ser capaces de llevar a cabo un proceso de infección; y además es también característica indispensable para que las bacterias beneficiosas puedan llevar a cabo de manera eficiente su capacidad de proteger a las plantas. La capacidad de formar biopelículas se asocia principalmente a la capacidad que tiene las bacterias para producir diferentes compuestos y estructuras bacterianas, como son los polisacáridos y la producción de proteínas como las adhesinas, respectivamente. Para ellos se realizarán ensayos de formación de biopelículas tanto de bacterias patógenas como beneficiosas, juntas y por separado, con dos protocolos diferentes que usan diferentes colorantes, como son el rojo Congo, que tiene principalmente polisacáridos, y el cristal violeta, que se usa principalmente a las células bacterianas. Mediante mediciones de absorbancia utilizando un espectrofotómetro, los estudiantes podrán cuantificar la producción de biopelícula de las bacterias analizadas.

5) Ensayos de producción de toxinas antimetabolito por parte de bacterias patógenas.

Las toxinas antimetabolito, son un tipo especial de toxinas que producen algunas bacterias fitopatógenas y que son relevantes a la hora de llevar a cabo el proceso de infección. Estas toxinas inhiben la síntesis de aminoácidos importantes para las plantas, lo que conlleva a la muerte celular. Se realizarán experimentos de producción de toxinas en placas de medios de cultivo, y gracias al uso de diferentes aminoácidos podremos conocer que tipo de toxina produce nuestra bacteria patógena en cuestión.

6) Ensayo de infección de bacterias patógenas en plantas de tomate.

Los ensayos en planta son el último paso a la hora de determinar un proceso de infección o una actividad beneficiosa. La problemática de estos experimentos es que se suelen extender como mínimo tres o cuatro semanas en el tiempo. Para incluir experimentos en planta en este proyecto, se ha puesto a punto un sistema para poder ensayar el proceso de infección de bacterias patógenas en plantas de tomate, con el cual podemos ver síntomas a partir del quinto día de haber inoculado las bacterias sobre la planta. Determinaremos el grado de infección, llevando a cabo el índice de la enfermedad, que se basa en la aparición de manchas necróticas sobre las hojas de la planta de tomate, pudiendo determinar diferentes niveles de enfermedad dependiendo de la bacteria que estemos usando.