

ESTUDIO TRANSCRIPCIONAL DE LA RED DE QUORUM SENSING QUE DETERMINA LA ESPORULACIÓN DE *Bacillus velezensis* 83, EN FUNCIÓN DEL pH DEL CULTIVO

Lorena Yamileth Balón Rosas^{1*}, Agustín Luna Bulbarela¹, Leobardo Serrano Carreón^{1,2}, Enrique Galindo Fentanes^{1,2}. 1. Instituto de Biotecnología, UNAM. Depto. Ingeniería Celular y Biocatálisis. Av. Universidad 2001, Chamilpa 62210, Cuernavaca, Mor. 2. Agro&Biotecnia S de RL de CV, Limones 8, Amate Redondo 62334, Cuernavaca, Mor. *lorena.balon@ibt.unam.mx

Palabras clave: Bacillus, Esporulación, Quorum sensing.

Introducción. En *Bacillus*, la heterogeneidad celular es regulada por *quorum sensing* (QS), un sistema de comunicación celular por el cual, las bacterias actúan de manera concertada y dependiente de la concentración celular. En *Bacillus*, los sistemas de QS: ComQXPA y Rap/Phr están involucrados en la esporulación y la síntesis de compuestos importantes para ejercer un control biológico¹. No obstante, estudios previos reportaron que en *Bacillus velezensis* 83 (*Bv83*), el pH ácido abate la esporulación incluso cuando hay limitación nutricional (principal estímulo)². Dado esto, una de nuestras hipótesis es que el pH ácido afecta negativamente la expresión de los genes que codifican para los sistemas ComQXPA y Rap/Phr. El objetivo de este trabajo es determinar la expresión diferencial de los genes que codifican para las proteínas de QS en *Bacillus*, bajo condiciones ácidas.

Metodología. Se realizaron cinéticas de crecimiento de *Bv83* en lote a pH de cultivo 6.8 (control) y 5.0. Con base en los parámetros cinéticos, se seleccionaron los tiempos de muestreo idóneos y reproducibles (cada uno por triplicado), para realizar el análisis de expresión diferencial mediante RNAseq. M1: fase inicial, M2: fase exponencial tardía (FET), M3: fase limitación nutricional (FLN). Los parámetros para el análisis fueron: FDR (*false discovery rate*) = 0.05 y logFC (log *Fold Change*) ≥ 2 y ≤ -2.

Resultados. El pH ácido disminuyó significativamente la μ y el Yx/s, lo que indicó que el tiempo de duplicación celular es afectado negativamente por las condiciones ácidas, probablemente porque la célula requiere mantener la homeostasis intracelular antes que diferenciarse a espora. Asimismo, bajo condiciones ácidas la morfología de *Bv83* cambió: son alargadas y forman aglomerados (Fig1). Se identificó que de los de 3846 genes de *Bv83*, en la FET se expresaron diferencialmente 618 genes (16%) (340 up y 278 down) por efecto del pH ácido. Donde, los 5 genes que más se sub-expresaron en esta etapa fueron aquellos que codifican para proteínas que degradan ácidos grasos. El gen *comP* fue el único de esa vía que se sobre-expresó en esta etapa, mientras que *comX*, *comQ* se sub-expresaron. Por otra parte, en FLN, se expresaron

diferencialmente 955 genes (25%) (466 up y 489 down) por efecto del pH ácido. Donde, los genes que más se sub-expresaron fueron: *spolIB*, *sigE*, *spolIE* y *spolIGA*, todos involucrados en el proceso de esporulación. Lo que explicaría la ausencia de esporas en esta etapa. Concomitantemente, entre los genes que más se sobre-expresan en FNL, están *pxpB* (codifica para un inhibidor de KinA) y *lipC* (codifica para una fosfolipasa implicada en la germinación de esporas). Finalmente, se identificó que, en ambas etapas, se sobre-expresan: *glmR* y *rodA*, que codifican para proteínas involucradas en la determinación de la forma celular y que se han descrito como proteínas importantes en la formación de un elongasoma en *Bacillus subtilis*, lo que permite sugerir que estén involucrados en la morfología alargada bajo condiciones ácidas³.

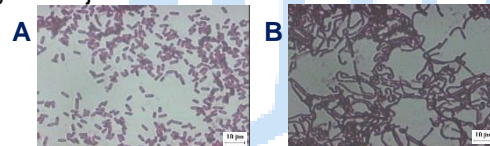


Fig.1. Morfología de *Bv83* en cultivos en lote. A) pH 6.8 B) pH 5.

Tabla 1. Genes de *Bv83* expresados diferencialmente.

Fase Exponencial Tardía (FET)		Fase de Limitación Nutricional (FLN)	
gen	≥ 2 logFC ≤ -2	gen	≥ 2 logFC ≤ -2
<i>fadF</i>	-6.51	<i>comQ</i>	-2.47
<i>fadN</i>	-6.22	<i>comP</i>	2.60
<i>fadA</i>	-6.30	<i>glmR</i>	2.04
<i>comX</i>	-2.48	<i>rodA</i>	2.01
		<i>spolIB</i>	-7.60
		<i>sigE</i>	-7.40
		<i>spolIE</i>	-7.22
		<i>spolIGA</i>	-6.03
		<i>pxpB</i>	8.51
		<i>lipC</i>	7.53
		<i>glmR</i>	2.07
		<i>rodA</i>	2.31

Conclusiones. En *Bacillus*, el pH ácido afecta la expresión de los genes de QS: *comQXP* y a los genes involucrados en la formación de esporas. La expresión de los genes *phr* no se ve afectada significativamente por el pH ácido. Los genes *glmR* y *rodA* podrían estar involucrados en el cambio morfológico de *Bv83* a pH 5.

Agradecimiento. A CONACyT por la beca otorgada núm. 957773 y a PAPIIT-UNAM por el financiamiento al proyecto IG201021.

Bibliografía.

- Lopez D, Vlamakis H, Kolter R. (2009). FEMS Microbiol Rev. 33(1):152-63.
- Cristiano S (2020). Tesis de doctorado en Ciencias Bioquímicas. Instituto de biotecnología, UNAM.
- Galinier A, Foulquier E, Pompeo F. (2021). Front Microbiol. 12:697930.