

Biología Molecular de las Interacciones Microbio-Planta

CARLOS MOLINA-SANTIAGO, DIEGO ROMERO, CAYO RAMOS, LUIS RODRÍGUEZ-MORENO

Grupo de Biología Molecular de las Interacciones Microbio-Planta. Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM-UMA-CSIC) «La Mayora», Universidad de Málaga-CSIC.

✉ camolsan@uma.es | diego_romero@uma.es | crr@uma.es | lgrodriguez@uma.es



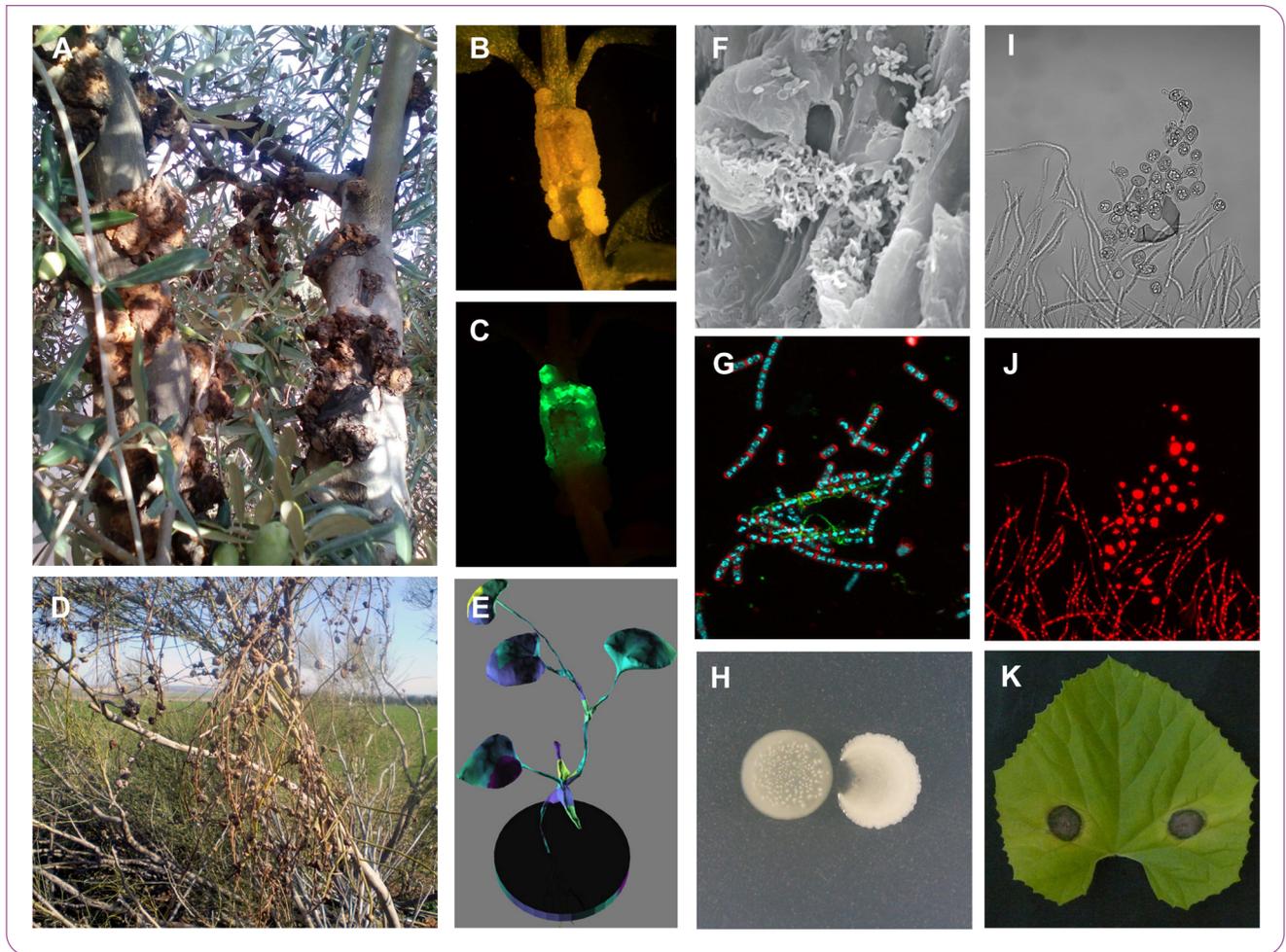
De izquierda a derecha: Antonio Arroyo (Investigador predoctoral); Noemí Fernández (estudiante TFG); Alejandro González (estudiante TFG); Isabel Imbroda (Técnico Superior); Javier Mora (estudiante TFG); Alicia Pérez (Investigadora predoctoral); Hilario Domínguez (Investigador predoctoral); Carla Lavado (Investigadora predoctoral); Carlos Molina (Investigador postdoctoral); Montse Grifé (Investigadora predoctoral); Laura Domínguez (Investigadora predoctoral); David Vela (Investigador postdoctoral); María Berlanga (Investigadora predoctoral); Jesús Hierrezuelo (Investigador postdoctoral); Diego Romero (Investigador Principal); Luis Rodríguez (Investigador Principal); Cayo Ramos (Investigador Principal).

El grupo de **Biología Molecular de las Interacciones Microbio-Planta** del IHSM-UMA-CSIC en Málaga, está formado por tres investigadores sénior que coordinan los diferentes proyectos y contratos con empresas; Cayo Ramos (Catedrático del Área de Genética), Diego Romero (Profesor Titular del Departamento de Microbiología) y Luis Rodríguez (Profesor Contratado Doctor del Área de Genética). Hoy en día, forman parte del

grupo 3 investigadores posdoctorales, 11 investigadores en formación realizando su tesis doctoral y 3 técnicos de laboratorio, así como varios estudiantes completando su trabajo final de Grado o Máster (Foto de grupo). El interés del grupo se centra en el estudio de los mecanismos celulares y moleculares que determinan las interacciones entre microbios y plantas, dando lugar a dos líneas principales de trabajo:

***Pseudomonas savastanoi* como modelo de estudio de las enfermedades en huéspedes leñosos**

Esta línea de investigación, iniciada en el año 2002 por Cayo Ramos, y a la que se ha incorporado recientemente Luis Rodrí-



A) Tumores en el tronco de un olivo (*Olea europaea*) causado por la infección natural de la bacteria patógena *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. B) Tumor en plantas de olivo (*Olea europaea*) micropropagadas causado por la infección in vitro de *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. C) Tumor en plantas de olivo (*Olea europaea*) micropropagadas causado por la infección in vitro de *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* marcada con la proteína verde fluorescente (GFP). D) Tumor en retama (*Retama sphaerocarpa*) causado por la infección natural de la bacteria patógena *Pseudomonas savastanoi* pv. *retacarpa*. E) Representación 3D de la distribución de un metabolito en una planta de melón tras el tratamiento con *Bacillus subtilis* 3610. F) Micrografía electrónica de barrido de la infección de células de olivo por la bacteria patógena *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. G) Estudio de la localización de proteínas amiloides en el biofilm de *Bacillus cereus* mediante microscopía confocal. Se llevó a cabo un ensayo de inmunocitoquímica usando anticuerpos primarios específicos frente a la proteína y anticuerpos secundarios conjugados a Alexa-Fluor488. Para marcar la pared celular se utilizó una tinción que se une de forma específica a lectinas (color rojo) y el ADN de la bacteria se contrastó usando el colorante Hoescht (en color azul). H) Interacción bacteriana entre *Pseudomonas* sp. 250J (izq.) y *Bacillus velezensis* FZB42 (drcha.). I) Imagen de campo clara obtenida por microscopía electrónica de transmisión de *Botrytis cinerea* en la que se observan clamidosporas. J) Imagen de fluorescencia obtenida por microscopía electrónica de transmisión donde aparecen marcados con fluorescencia los núcleos de las hifas de una muestra de *Botrytis cinerea*. K) Lesiones causadas por el hongo necrotrofo *Botrytis cinerea* en una hoja de melón.

guez como investigador senior, surge con el objetivo de utilizar el análisis genómico como estrategia para la identificación de los factores genéticos que determinan la virulencia y especificidad de huésped de la bacteria *Pseudomonas savastanoi*. Esta especie bacteriana se engloba dentro del complejo *Pseudomonas syringae*, constituido por un grupo de bacterias fitopatógenas Gram-negativas con gran interés agrícola y relevancia económica. La especie *P. savastanoi* incluye diversos patovares

capaces de causar enfermedad en huéspedes leñosos: pv. *savastanoi* (aislados de olivo), pv. *nerii* (aislados de adelfa), pv. *fraxini* (aislados de fresno), pv. *retacarpa* (aislados de retama) y pv. *mandevillae* (aislados de dipladenia). La secuenciación en 2010 del genoma de la cepa *P. savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 en combinación con estrategias de análisis genómico funcional y ensayos de patogenicidad cruzados nos ha permitido identificar nuevos genes de virulencia y establecer a *P. savastanoi*

como un sistema modelo para el estudio de enfermedades en plantas leñosas. En la actualidad, nuestro interés se centra en: i) estudiar la interconexión existente entre diferentes mecanismos de regulación global de la expresión génica y su implicación en la virulencia de las cepas de *P. savastanoi*; ii) identificar y caracterizar el conjunto de efectores bacterianos secretados al espacio extracelular durante el proceso de infección de esta bacteria fitopatógena. Avanzar en el conocimiento de estas dos

líneas de trabajo nos permitirá desarrollar estrategias de control adecuadas frente a las enfermedades que ocasionan.

La matriz extracelular de *Bacillus* como moduladora de la comunicación con otros organismos

En el género *Bacillus* se engloban especies beneficiosas para la salud de las plantas y otras que, si bien son catalogadas como neutras en el nicho ecológico donde se encuentran, pueden causar enfermedades en humanos. Además de la esporulación, propiedad distintiva del género, las bacterias del género *Bacillus* viven en comunidades microbianas conocidas como biofilms, donde una polivalente matriz extracelular de composición variable protege a las células frente a agentes externos y regula flujos de señales y nutrientes. Mediante una investigación multidisciplinar donde se combina la microbiología con tecnologías ómicas y microscopías, química o biofísica, la línea de investigación coordinada por Diego Romero trata de dar respuesta a cuestiones mecánicas relacionadas con el papel de los distintos componentes de la matriz extracelular de *Bacillus* en las interacciones microbio-microbio y microbio-huésped: i) el impacto de los componentes de la matriz extracelular en la estimulación del crecimiento vegetal y la inmunización de la planta, ii) el papel de las proteínas de tipo amiloide en el ensamblaje del biofilm y en la viabilidad celular, iii) el papel del biofilm y la síntesis de metabolitos secundarios en las interacciones bacterianas simples y múltiples, hongos o nematodos, y v) adaptación a diferentes nichos desde la planta a mamíferos.

Publicaciones seleccionadas

➤ **Berlanga-Clavero MV, Molina-Santiago C, Caraballo-Rodríguez AM, Petras D, Díaz-Martínez L, Pérez-García A, de Vicente A, Carrión VJ, Dorrestein PC, Romero D.** (2022) *Bacillus subtilis* biofilm matrix components target seed oil bodies to promote growth and anti-fungal resistance in melon. *Nature Microbiology*. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01134-8>

➤ **Caballo-Ponce E, Pintado A, Moreno-Pérez A, Murillo J, Smalla K, Ramos C.** (2021) *Pseudomonas savastanoi* pv. *mandevillae* pv. nov., a clonal pathogen causing an emerging, devastating disease of the ornamental plant *Mandevilla* spp. *Phytopathology* 111: 1277-1288.

➤ **Caballo-Ponce E, Murillo J, Martínez-Gil M, Moreno-Pérez A, Pintado A, Ramos C.** (2017) Knots untie: Molecular determinants involved in knot formation induced by *Pseudomonas savastanoi* in woody hosts. *Frontiers in Plant Science* 8: 1089.

➤ **Cámara-Almirón J, Navarro Y, Díaz-Martínez L, Magno-Pérez-Bryan MC, Molina-Santiago Carlos, Pearson JR, de Vicente A, Pérez-García A, Romero D.** (2020) Dual functionality of the amyloid protein TasA in *Bacillus* physiology and fitness on the phylloplane. *Nature Communications* 11: 1859.

➤ **Molina-Santiago C, Vela-Corcía D, Petras D, Díaz-Martínez L, Pérez-Lorenzo AI, Sopeña-Torres S, Pearson JR, Caraballo-Rodríguez AM, Dorrestein PC, de Vicente A, Romero D.** (2021) Chemical interplay and complementary adaptive strategies toggle bacterial antagonism and co-existence. *Cell Reports* 36: 109449.

➤ **Molina-Santiago C, Pearson JR, Navarro Y, Berlanga-Clavero MV, Caraballo-Rodríguez AM, Petras D, García-Martín ML, Lamón G, Haberstein B, Cazorla FM, de Vicente A, Loquet A, Dorrestein PC, Romero D.** (2019) The extracellular matrix protects *Bacillus subtilis* colonies from *Pseudomonas* invasion and modulates plant co-colonization. *Nature Communications* 19: 1919.

➤ **Moreno-Pérez A, Ramos C, Rodríguez-Moreno L.** (2021) HrpL regulon of bacterial pathogen of woody host *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335. *Microorganisms* 9: 1447.

➤ **Moreno-Pérez A, Pintado A, Murillo J, Caballo-Ponce E, Tegli S, Moretti C, Rodríguez-Palenzuela P, Ramos C.** (2020) Host range determinants of *Pseudomonas savastanoi* pathovars of woody hosts revealed by comparative genomics and cross-pathogenicity tests. *Frontiers in Plant Science* 11: 973.