

La biología fúngica proteína a proteína

PROFA. ALMUDENA ESCOBAR-NIÑO, DR. OLIVIER COSTE Y PROF. FRANCISCO J. FERNANDEZ-ACERO

Laboratorio de Microbiología Y Proteómica del instituto de Investigaciones Vitivinícolas y Agroalimentarias (IVAGRO), Universidad de Cádiz.

✉ franciscojavier.fernandez@uca.es



Miembros del grupo.

De manera unánime, la época científica que disfrutamos en la actualidad esta caracterizada por el avance de las técnicas “-ómicas”, entre ellas, la genómica, transcriptómica y proteómica son las más destacadas. Nuestro grupo lleva trabajando en aproximaciones proteómicas a organismos no modelo desde sus inicios, en el 2006. La relevancia de los análisis proteómicos ha sido sobradamente resaltada, así, recientemente, en el periódico El País, pudo leerse un artículo con un anuncio sugerente: “*Descubierta una nueva forma de herencia alejada del ADN*” (Jesús Méndez González,

05 MAR 2025), dicho artículo se hacía eco de la publicación en la revista Nature Cell Biology (Eroglu *et al.*, 2024) en la que se propone una forma “no canónica” de herencia que no necesita ácido nucleico, sino solo proteínas. Este tipo de análisis solo puede hacerse mediante aproximaciones proteómicas. Además, el análisis de las proteínas nos enseña la realidad de lo que esta sucediendo. En 2016, Mahaney y col (Mahaney *et al.*, 2017) descubrieron, mediante análisis de secuenciación de ADN, el paso de montaña usado por Aníbal durante la segunda guerra púnica. Este

descubrimiento no significa que podamos ver elefantes en los Alpes hoy en día, sino que pasaron hace mucho tiempo. Este hito remarca que el análisis genómico no siempre nos cuenta lo que está ocurriendo en un momento determinado. Del mismo modo, está descrito que la correlación transcriptoma/proteoma, no es lineal y que no todo el ARN se transforma a proteína.. Visto desde nuestro punto de vista, todos estos datos justifican que son las proteínas el nivel relevante de análisis para determinar los factores responsables de cualquier proceso biológico (Rossignol *et al.*, 2009).

El Laboratorio de Microbiología y Proteómica del IVAGRO, surge con entidad propia a partir del 2014, dentro del ámbito de la Universidad de Cádiz, como una especialización del área de microbiología. Bajo la dirección del Catedrático Prof. Francisco Javier Fernández Acero, se han realizado los primeros pasos en la caracterización de microorganismos del ámbito agroalimentario, área que apenas había sido abordada desde el punto de vista proteómico. En años posteriores fueron sumándose distintos miembros al equipo hoy constituido por la Dra. Almudena Escobar Niño, el Dr. Olivier Coste y el Dr. Rafael Carrasco Reinado. El grupo de Microbiología y Proteómica del IVAGRO viene desarrollando su labor mediante la aplicación de técnicas de proteómica en organismos no modelo. Su labor se orienta a la resolución de problemas biológicos complejos, como la revalorización de la biomasa, análisis de factores de patogenicidad/virulencia, caracterización de subproteomas, etc. Todo este trabajo culminó en la inauguración del primer servicio de proteómica de la Universidad de Cádiz, en 2022 en el IVAGRO, que fue especialmente diseñado para el trabajo con muestras agroalimentarias y vitivinícolas (www.proteomica.uca.es).

Analisis proteómico de Hongos Fitopatógenos

El estudio de la patogenicidad de hongos fitopatógenos, y en particular de *Botrytis cinerea*, es el área de investigación principal dentro del grupo de investigación. *B. cinerea* es el hongo fitopatógeno causante de la podredumbre gris. Esta enfermedad afecta a un amplio rango de plantas hospedadoras, entre ellas, numerosos cultivos esenciales en la industria agroalimentaria, como tomates, uvas y fresas. Es por esto por lo que el ataque de este hongo fitopatógeno genera pérdidas económicas muy elevadas en toda Europa, especialmente graves en Andalucía. A parte de su relevancia agrícola y económica. Este hongo fitopatógeno se ha convertido en un modelo de estudio en fitopatología, lo que significa que es un organismo utilizado para comprender los procesos de infección y las interacciones entre patógenos y hospedadores (Liñeiro, Cantoral, and Fernández-Acero 2015). Una mejor comprensión de la base molecular de las interacciones entre plantas y patógenos debería ser la base para rediseñar el sistema de control de este patógeno agrícola. Considerando que la mayoría de

los fungicidas actuales utilizan como dianas proteínas del hongo, el Grupo de Investigación ha recurrido a técnicas de proteómica para abordar los aspectos fundamentales de la patogenicidad de *B. cinerea*. Las aproximaciones proteómicas nos permiten conocer proteínas clave en el proceso de patogenicidad (denominadas factores de virulencia o patogenicidad) que deberían convertirse en dianas óptimas para el diseño de fármacos. La hipótesis principal del grupo es que, debido a que la presencia de estos factores es esencial para el desarrollo del ciclo de infección, mediante la inhibición de sus actividades seremos capaces de disminuir o controlar la enfermedad, siendo la base para el desarrollo de nuevos botricidas respetuosos con el medio ambiente.

Una de las áreas clave de investigación es la comprensión de las cascadas de señalización que *B. cinerea* utiliza para infectar sus hospedadores. Cuando el hongo entra en contacto con una planta, desencadena una serie de eventos moleculares que le permiten colonizar y causar daño. La proteómica ha permitido a los investigadores identificar proteínas claves en la regulación de estas cascadas de señalización mediante el análisis de distintos subproteomas: secretoma; membranoma; fosfoproteoma; fosfomembranoma y surfactoma. La identificación de estas proteínas y su función en la infección es esencial para el desarrollo de estrategias de control. Además de las cascadas de señalización, la proteómica ha permitido a los investigadores identificar nuevas vías de comunicación e infección de *B. cinerea* y sus hospedadores, como son las vesículas extracelulares (Escobar-Niño, Morano Bermejo, *et al.*, 2021)(Escobar-Niño, Carrasco-Reinado, *et al.*, 2021)(Escobar-Niño *et al.*, 2023). Todos estos hallazgos han ayudado a avanzar en el conocimiento de cómo este hongo se comunica con la planta anfitriona y desarrolla el proceso de infección con éxito, siendo este el primer paso para encontrar formas de interferir en este proceso y reducir los daños causados por el hongo. El conocimiento generado a través de la proteómica y la investigación en la patogenicidad de este hongo proporciona una base sólida para el desarrollo de estrategias de manejo de su capacidad de infectar cultivos combatiéndolo desde un punto de vista sostenible con el medio ambiente. Esto ayudará a disminuir el uso de los productos químicos bioacumulables para el control de hongos en los cultivos, los cuales son perjudiciales para la salud humana.

De la actualización del MALDI a la Metaproteómica

En la actualidad el grupo de investigación está desarrollando nuevas aproximaciones a la biología fúngica, entre otras el análisis de PTMs, aplicaciones de IA y metaproteómica, así como caracterización taxonómica mediante MALDI TOF. El proteoma es una entidad dinámica que evoluciona dependiendo de las etapas del desarrollo y del contexto ambiental. Comprender estas modulaciones es clave para entender el comportamiento de este organismo. El proteoma no solo es dinámico en términos de presencia/ausencia o abundancia, sino también en la regulación de la actividad proteica mediante Modificaciones Postraduccionales (PTMs), un tema que hasta ahora ha sido poco explorado. Una mayor investigación sobre las PTMs podría mejorar significativamente nuestra comprensión de los mecanismos moleculares y las interacciones proteína-proteína.

En la última década se han logrado avances innegables en el campo de la inteligencia artificial (IA). Aunque es imposible predecir todas las aplicaciones e implicaciones de estas herramientas, la IA ya ha mejorado las tasas de identificación de proteínas en el análisis MS/MS. Para ir un paso más allá, la IA debe ayudar a unificar e interpretar la gran cantidad de datos generados, con el objetivo final de identificar posibles dianas moleculares y fármacos correspondientes para mejorar el control de hongos, anticipar la resistencia y diseñar estrategias de control sostenibles y rentables. El desafío no solo radica en interpretar los datos proteómicos, sino también en integrar todos los datos “-ómicos” disponibles—genómicos, transcriptómicos, proteómicos y metabolómicos—estableciendo vínculos más sólidos entre ellos. Un enfoque holístico proporcionará una comprensión más completa y mejorará nuestra capacidad de modelado, lo que finalmente conducirá a estrategias más eficaces para combatir *Botrytis cinerea*. También se espera que la IA mejore nuestra capacidad para diferenciar el proteoma de múltiples especies dentro de una misma muestra, un campo conocido como metaproteómica. Esta disciplina emergente podría ofrecer una comprensión más amplia de las interacciones hongo-hospedador, al integrar una visión sistemática del proceso como un holobionte, que incluye también las interacciones

con el resto de microbiota presente y activa. Tales avances tienen el potencial de abrir camino hacia nuevos descubrimientos de fármacos o estrategias de control biológico. En este sentido, se han iniciado recientemente los primeros estudios metaproteómicos de *B. cinerea* analizando uvas en distintos estadios de infección, incluyendo podredumbre noble y gris [23]. Estos estudios muestran el uso potencial de la metaproteómica para profundizar en el papel de la microbiota en la interacción planta-patógeno. Por último, la tecnología MALDI-TOF-MS viene desarrollándose con éxito en el ámbito médico, principalmente para la identificación rápida de microorganismos, con la capacidad de identificar bacterias hasta el nivel de cepa. Esta tecnología se basa en comparar los espectros obtenidos del microorganismo con una base de datos de organismos previamente identificados. Aunque este método aún no ha sido suficientemente utilizado en el sector agroalimentario, tiene un gran potencial para aplicaciones agrícolas, particularmente para detectar fitopatógenos e implementar estrategias de control dirigidas. Como se mencionó anteriormente, esta herramienta depende de bases de datos espectrales, lo que significa que la precisión y rapidez de la detección están directamente relacionadas con la completitud y fiabilidad de estas bases de datos, un área que aún está en desarrollo, especialmente para hongos. En *Botrytis*, los primeros enfoques han demostrado la capacidad de una determinación rápida y sencilla del género *Botrytis* hasta el nivel de cepa (Fernández-Acero 2024).

Bibliografía

- Eroglu, Matthew, Tanner Zocher, Jacob McAuley, Rachel Webster, Maggie Z. X. Xiao, Bin Yu, Calvin Mok, and W. Brent Derry.** 2024. "Noncanonical Inheritance of Phenotypic Information by Protein Amyloids." *Nature Cell Biology* 26 (10): 1712-24. <https://doi.org/10.1038/s41556-024-01494-9>
- Escobar-Niño, Almudena, Rafael Carrasco-Reinado, Inés M. Morano, Jesús M. Cantoral, and Francisco J. Fernández-Acero.** 2021. "Unravelling the Initial Triggers of Botrytis Cinerea Infection: First Description of Its Surfactome." *Journal of Fungi*. <https://doi.org/10.3390/jof7121021>
- Escobar-Niño, Almudena, Anne Harzen, Sara C. Stolze, Hirofumi Nakagami, and Francisco J. Fernández-Acero.** 2023. "The Adaptation of Botrytis Cinerea Extracellular Vesicles Proteome to Surrounding Conditions: Revealing New Tools for Its Infection Process." *Journal of Fungi*. <https://doi.org/10.3390/jof9090872>
- Escobar-Niño, Almudena, Inés M. Morano Bermejo, Rafael Carrasco Reinado, Francisco Javier Fernández-Acero, Rafael Carrasco Reinado, and Francisco Javier Fernández-Acero.** 2021. "Deciphering the Dynamics of Signaling Cascades and Virulence Factors of *B. Cinerea* during Tomato Cell Wall Degradation." *Microorganisms* 9 (9): 1837. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091837>

- Fernández-Acero, Francisco Javier.** 2024. "Innovative Proteomics Approach to Grapevine vs Botrytis Interaction by Metaproteomics." In *18th Congress of the International Union of Microbiological Societies (IUMS 2024)*, 543-544. Florence Italy.
- Liñeiro, E., J.M. Cantoral, and F.J. Fernández-Acero.** 2015. *Contribution of Proteomics Research to Understanding Botrytis Biology and Pathogenicity. Botrytis - The Fungus, the Pathogen and Its Management in Agricultural Systems*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_16
- Mahaney, W. C., C. C. R. Allen, P. Pentlavalli, A. Kulakova, J. M. Young, R. W. Dirszowsky, A. West, et al.** 2017. "Biostratigraphic Evidence Relating to the Age-Old Question of Hannibal's Invasion of Italy, II: Chemical Biomarkers and Microbial Signatures." *Archaeometry* 59 (1): 179-90. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/arcm.12228>
- Rosignol, T., D. Kobi, L. Jacquet-Gutfreund, and B. Blondin.** 2009. "The Proteome of a Wine Yeast Strain during Fermentation, Correlation with the Transcriptome." *Journal of Applied Microbiology* 107 (1): 47-55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04156.x>
-