

Evasión de defensas en la interacción planta-bacteria

JOSE S. RUFIÁN, JAVIER RUIZ ALBERT Y CARMEN R. BEUZÓN

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea La Mayora – Universidad de Málaga – CSIC (IHSM – UMA – CSIC) (España)

✉ rufian@uma.es | javieruizal@uma.es | cbeuzon@uma.es

@type3lab.bsky.social

Nuestra investigación se centra en el estudio de bacterias fitopatógenas (*Pseudomonas syringae* y *Ralstonia solanacearum*) o patógenas de animales que colonizan plantas (i.e. *Salmonella enterica*) y su interacción con plantas modelo como *Arabidopsis* o *Nicotiana benthamiana*, y plantas de interés agronómico como judía y tomate.

El grupo forma parte del núcleo fundador del Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSMUMACCSIC), y es parte del área de Protección de Cultivos, proporcionando un entorno excelente para investigadores posdoctorales e investigadores en formación (Grado, Máster y Doctorado).

Financiado ininterrumpidamente desde 2003 (9 proyectos Plan Nacional, 5 proyectos Junta de Andalucía y 1 contrato Fundación Genoma España), actualmente tiene vigentes 2 proyectos del Plan Nacional (PID2024-160046OB-100 IPs C.R. Beuzón y J. Ruiz-Albert y PID2024-162073OA-I00 IP J.S. Rufián).

Investigación

Cubre los eventos moleculares y celulares implicados en la interacción bacteria-planta, incluyendo ambos lados de la interacción: disparo y regulación de defensas por parte de la planta, y mecanismos de evasión de defensas por parte del patógeno y su regulación. Elemento clave en nuestros estudios es el sistema bacteriano de secreción tipo III (T3SS) y las proteínas efectoras (T3Es) que transloca dentro de la célula huésped, que permiten al patógeno evadir y suprimir las defensas y promover la colonización bacteriana.



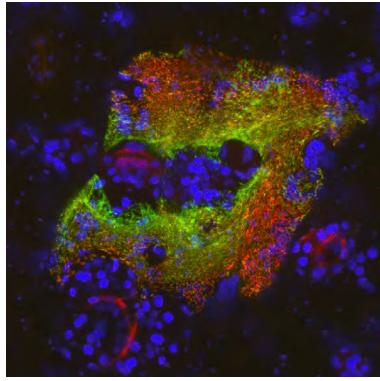
Foto de grupo.

➤ Líneas principales

1. Regulación genética y epigenética de la expresión génica bacteriana, con énfasis en los procesos implicados en la generación de **heterogeneidad fenotípica** en determinantes de virulencia, y su relevancia para la infección. Hemos sido los primeros en describir en bacterias fitopatógenas la heterogeneidad fenotípica del T3SS y del flagelo, que da lugar a complejos patrones de expresión estructurados espacialmente *in planta*, con subpoblaciones fenotípicamente distintas que cooperan entre sí para colonizar y diseminarse (1, 10). Hemos descrito la dinámica, clonalidad e interacciones entre subpoblaciones bacterianas *in planta* (9), determinado heterogeneidad fenotípica adicional en genes de síntesis de LPS (3), y

caracterizado el metiloma de *P. syringae*, y las correspondientes metilasas de DNA. También, estudiamos el papel de la heterogeneidad fenotípica de determinantes de virulencia del patógeno humano *Salmonella* en la colonización de la planta y el establecimiento de *biofilms*. Dado que más del 25% de los brotes epidémicos de salmonelosis están asociados a fruta y verdura fresca (ECDC), esta línea es social y económicamente relevante, y aprovecha la experiencia previa en *Salmonella* de Beuzón y Ruiz-Albert.

En esta línea hemos desarrollado herramientas moleculares y protocolos optimizados (4) y colaboraciones con investigadores de las U. de Sevilla (España), Lausanne (Suiza), Aix-Marseille (Francia), Imperial College London y West of England (UK).



*Virulencia cooperativa en plantas: microcolonia de *Pseudomonas syringae* en el interior de la hoja. Las bacterias cercanas a la célula vegetal (cloroplastos en azul) expresan el sistema de secreción tipo III (verdes) para proteger al resto de la microcolonia que expresa el flagelo (rojas).*

2. Interferencia bacteriana con la célula vegetal mediada por T3Es, con énfasis en la supresión de la inmunidad en planta (PTI, ETI y SAR) y en la interacción entre redes de efectores y componentes de defensa de la planta (2, 5, 6, 8). Partiendo de la determinación de la contribución a la virulencia de los T3Es de la estirpe modelo *P. syringae* 1448A, desarrollamos herramientas y métodos para la generación de mutantes y el análisis genético *in planta*. Mediante estas aproximaciones, fuimos los primeros en describir un T3E (HopZ1) capaz de suprimir todos los niveles de defensa de la planta (PTI, ETI, y SAR) (7), y hemos caracterizado la supresión de defensas por otro T3E relacionado, HopZ3, en su contexto natural (9).

Estamos caracterizando efectores conservados en los complejos ***Pseudomonas syringae* y *Ralstonia solanacearum* y sus dianas en la planta (Arabidopsis y tomate)**, para identificar procesos relevantes en la interacción planta-bacteria. Este trabajo ha permitido colaboraciones con investigadores de la U. de Warwick (UK), UCLA (USA), y el Shanghai Center for Plant Stress Biology (China).

3. Regulación de la inmunidad en plantas mediante redes de miRNA/phasiRNA codificadas por la planta, centradas en el control de la expresión de genes que codifican proteínas de resistencia TIR-NBS-LRR (7). El mecanismo caracterizado

controla la expresión de TIR-NBS-LRR en ausencia de patógenos, permitiendo su activación en dos oleadas en respuesta al patógeno (7). Este mecanismo varía durante el desarrollo de la planta y también está implicado en la regulación de la defensa frente a herbívoros.

Este trabajo se ha desarrollado en colaboración con investigadores del IHSM, CRAG, CBGP y UCM (España), y de la U. de Copenhagen (Dinamarca).

4. Protección vegetal mediante agentes fitoquímicos y biológicos. Esta nueva línea explora cómo ciertas moléculas producidas de forma natural por las plantas (fitoquímicos) pueden inducir mecanismos de resistencia y modificar la infección bacteriana, así como el uso de bacteriófagos para proteger los cultivos frente a bacterias fitopatógenas, con énfasis en su efecto sobre la heterogeneidad fenotípica de las poblaciones. Esta línea ofrece una vía de transferencia del conocimiento científico hacia soluciones aplicables en la agricultura.

Artículos seleccionados

Lopez-Pagán N, Rufián JS, Luneau J, Sánchez-Romero M-A, Aussel L, van Vliet S, RuizAlbert J, Beuzón CR. (2025). *Pseudomonas syringae* subpopulations cooperate by coordinating flagellar and type III secretion spatiotemporal dynamics to facilitate plant infection. Nat. Microbiol. 10, 958–972.

López-Pagán N, Rufián JS, Ruiz-Albert J, Beuzón CR. (2024). Dual-Fluorescence Chromosome-Located Labeling System for Accurate In Vivo Single-Cell Gene Expression Analysis in *Pseudomonas syringae*. Methods Mol Biol. 2751:95–114.

López-Márquez D, Del-Espino A, López-Pagán N, Rodríguez-Negrete EA, RubioSomoza I, Ruiz-Albert J, Bejarano ER, Beuzón CR. (2021). MiR825-5p targets TIRNBS-LRR gene MIST1 and downregulates basal immunity against *Pseudomonas syringae* in Arabidopsis. J Exp Bot. 72(20):7316–7334

Mancera-Miranda L, Rufián JS, López-Pagán N, Ruiz-Albert J, Beuzón CR. (2025). *Pseudomonas syringae* Lipopolysaccharide Synthesis Gene wbpL Displays Heterogeneous Expression Within In Vitro and In Planta Populations. MicrobiologyOpen 14(4):e70031.

Rufián JS, Liu X, Wang Y, Rueda-Blanco J, Yu G, Ruiz-Albert J, Macho AP. (2025). The *Ralstonia solanacearum* effector RipAV targets plant U-box proteins and induces proteasomal-dependent degradation of BIK1. New Phytol.

Rufián JS, Lucía A, Rueda-Blanco J, Zumaquero A, Guevara CM, Ortiz-Martín I, RuizAldea G, Macho AP, Beuzón CR, Ruiz Albert J. (2018). Suppression of HopZ EffectorTriggered Plant Immunity in a Natural Pathosystem. Front Plant Sci. 2018 Aug 14;9:977.

Rufián JS, Macho AP, Corry DS, Mansfield JW, RuizAlbert J, Arnold DL, Beuzón CR. (2018). Confocal microscopy reveals in planta dynamic interactions between pathogenic, avirulent and non-pathogenic *Pseudomonas syringae* strains. Mol Plant Pathol. Mar;19(3):537-551.

Rufián JS, Rueda-Blanco J, Beuzón CR, Ruiz-Albert J. (2023). Suppression of NLR-mediated plant immune detection by bacterial pathogens. J Exp Bot. Jul 10:erad246.

Rufián JS, Rueda-Blanco J, López-Márquez D, Macho AP, Beuzón CR, Ruiz-Albert J. (2021). The bacterial effector HopZ1a acetylates MKK7 to suppress plant immunity. New Phytol. 231(3): 1138–1156.

Rufián JS, Sanchez-Romero MA, Lopez-Marquez D, Macho AP, Mansfield JW, Arnold DL, RuizAlbert J, Casadesus J, Beuzon CR. (2016). *Pseudomonas syringae* differentiates into phenotypically distinct subpopulations during colonization of a plant host. Environmental Microbiology 18(10): 3593–3605.