

Quimiotaxis a la acetilcolina en fitopatógenos bacterianos de relevancia global

JOSE A. GAVIRA¹, MANUEL J. GILABERT², SARAY SANTAMARÍA-HERNANDO^{3,4}, ANA MOLINA-OLLERO², MIRIAM RICO-JIMÉNEZ², JUAN J. CABRERA², EMILIA LÓPEZ-SOLANILLA^{3,4}, MIGUEL A. MATILLA²

¹Laboratorio de estudios cristaligráficos, IACT (CSIC), Armilla (España)

²Departamento de Biotecnología y Protección Ambiental, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada (España)

³Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid (UPM)-Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-CSIC), Pozuelo de Alarcón, Madrid (España)

⁴Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid (España)

 miguel.matilla@eez.csic.es

Las plantas y sus microbiomas asociados forman una unidad ecológica compleja e interdependiente, el holobionte vegetal, en la que los microorganismos desempeñan un papel crucial en la salud, el crecimiento y la adaptación de las plantas a los cambios ambientales. Las interacciones en este holobionte están reguladas por una compleja red de señales químicas, procedentes tanto de las plantas como de sus microbiomas. Sin embargo, los mecanismos que sustentan estas interacciones son, en gran medida, desconocidos.

La quimiotaxis permite a las bacterias desplazarse de forma direccional en gradientes químicos. La cascada de señalización que la regula se inicia con el reconocimiento de una molécula señal, ya sea un quimioatravente o un quimiorrepelente, por el dominio sensor de una proteína quimiorreceptora (Matilla *et al.*, 2025). Este reconocimiento genera un estímulo molecular que finalmente desencadena la respuesta quimiotáctica. La quimiotaxis constituye un determinante clave para la colonización e infección de las plantas por bacterias fitopatógenas, especialmente en las etapas iniciales de la interacción (Matilla and Krell 2018). De hecho, su interferencia se ha propuesto como una terapia anti-virulenta para combatir fitopatógenos (Matilla and Krell 2023). Por ello, el estudio de la quimiotaxis resulta de gran interés en el contexto de la interacción planta-bacteria.

La acetilcolina, una amina cuaternaria ancestral conocida principalmente por su papel como neurotransmisor, está emergiendo como una molécula señal en plantas y bacterias. Sin embargo, se desconocen en gran medida los mecanismos

mediante los cuales ejerce sus funciones en sistemas no animales. Nuestras investigaciones previas revelaron que varias bacterias fitopatógenas de los géneros *Agrobacterium* y *Dickeya* presentan fuertes respuestas quimiotácticas hacia la acetilcolina (Fig. 1A) (Matilla *et al.*, 2022), sugiriendo un papel importante en la interacción planta-fitopatógeno. Dando continuidad a este hallazgo, un estudio reciente nos ha permitido avanzar en la caracterización de los mecanismos moleculares responsables de estas respuestas y explorar la relevancia funcional de la acetilcolina en la fisiología, el metabolismo y la virulencia de estos fitopatógenos globales (Gavira *et al.*, 2025).

Los resultados obtenidos demuestran que *Agrobacterium fabrum*, *Dickeya solani* y *Dickeya dadantii* responden quimiotácticamente a la acetilcolina con intensidades comparables a las inducidas por aminoácidos y ácidos orgánicos - quimioatravientes habituales presentes en exudados vegetales. Los genomas de estas especies codifican un amplio repertorio de quimiorreceptores. Análisis bioinformáticos encaminados a la detección de residuos de aminoácidos previamente reconocidos como implicados en el reconocimiento de aminas cuaternarias por receptores bacterianos (Matilla *et al.*, 2022), nos permitieron identificar tres quimiorreceptores candidatos a mediar quimiotaxis hacia la acetilcolina. La posterior purificación y caracterización bioquímica de los dominios sensores de los quimiorreceptores AtuA, MkcA y DdaA de *A. fabrum*, *D. solani* y *D. dadantii*, respectivamente, confirmaron su capacidad para reconocer acetilcolina. Los receptores MkcA y DdaA también unieron colina, mientras que AtuA reconoció

un espectro más amplio de aminas cuaternarias (Fig. 1B).

Se cristalizó y determinó la estructura tridimensional del dominio sensor de MkcA a una resolución de 1,5 Å (Fig. 1C), lo que nos permitió identificar los determinantes moleculares del reconocimiento de aminas cuaternarias por los quimiorreceptores de las especies de *Dickeya*. Se pudo constatar que este reconocimiento se basa principalmente en interacciones catión-π, junto con varias interacciones adicionales mediadas por puentes de hidrógeno, que estabilizan y posicionan los ligandos en el bolsillo de unión. La mutagénesis puntual de varios de estos residuos confirmó su papel en el reconocimiento de acetilcolina.

Mutantes en los genes *atua* y *ddaa* perdieron la capacidad de responder quimiotácticamente a la acetilcolina en *A. fabrum* y *D. dadantii*, respectivamente. Sin embargo, un mutante en *mkcA* de *D. solani* no mostró variaciones en sus propiedades quimiotácticas, lo que sugiere la existencia de receptores adicionales en esta especie para el reconocimiento de acetilcolina. Ensayos *in planta* permitieron determinar que *ddaa* contribuye a la competitividad bacteriana durante la infección de plantas de patata (Fig. 1D). Además, la acetilcolina soportó el crecimiento de *A. fabrum* como fuente de carbono y de nitrógeno, aunque no el de *D. solani* ni *D. dadantii*. De forma notable, se mostró que la acetilcolina exhibió propiedades osmoprotectoras, promoviendo el crecimiento de *A. fabrum*, *D. solani* y *D. dadantii* en condiciones de alta salinidad (Fig. 1E). Considerando la ubicuidad de la acetilcolina en plantas, la capacidad de detectar y responder a

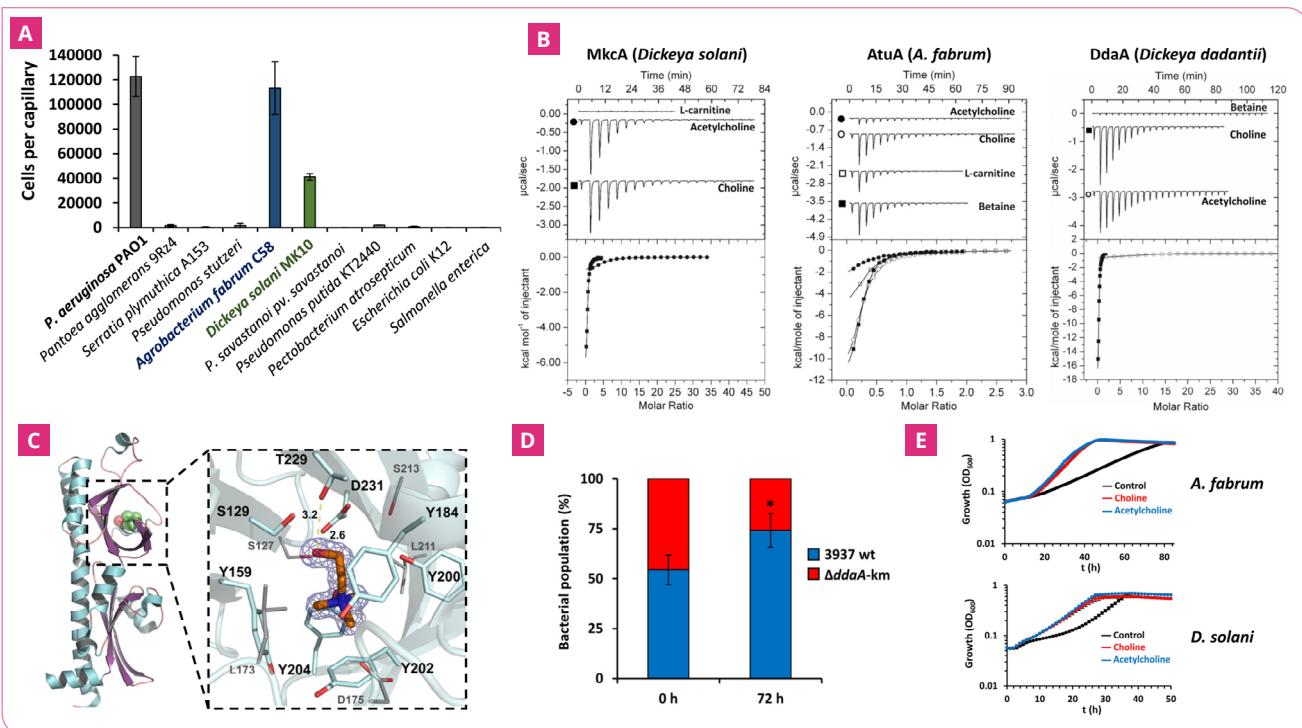


Figura 1. La acetilcolina como molécula señal en la modulación de procesos quimiotácticos de bacterias fitopatógenas. A. Quinotaxis hacia la acetilcolina en diferentes especies bacterianas de distintos orígenes. B. Ensayos de microcalorimetría que muestran la unión de distintas aminas cuaternarias a los dominios sensores de los quimiorreceptores MkcA, AtuA y DdaA de *Dickeya solani*, *Agrobacterium fabrum* y *Dickeya dadantii*, respectivamente. C. La estructura tridimensional del dominio sensor de MkcA con colina unida. D. Papel del quimiorreceptor DdaA de *D. dadantii* en la capacidad competitiva en planta. Se muestran las proporciones bacterianas al inicio del experimento y 72 h después de la co-inoculación en hojas de patata de mezclas 1:1 de la cepa silvestre de *D. dadantii* y un mutante en ddaA. E. Efectos osmoprotectores de la acetilcolina y la colina en *A. fabrum* y *D. solani*.

esta amina cuaternaria podría representar una estrategia adaptativa frente al estrés osmótico, y sugiere dinámicas co-evolutivas entre las plantas y sus microbiomas asociados.

Matilla, M.A., Gavira, J.A., Monteagudo-Cascales, E., Zhulin, I.B., Krell, T. (2025) Structural and functional diversity of sensor domains in bacterial transmembrane receptors. *Trends in Microbiology* 33: 796-809.

Matilla, M. A., Velando, F., Tajuelo, A., Martín-Mora, D., Xu, W., Sourjik, V., Gavira, J.A., Krell, T. (2022) Chemotaxis of the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* to the neurotransmitter acetylcholine. *mBio* 13: e0345821.

Referencias

Gavira, J.A., Gilabert, M.J., Santamaría-Hernando, S., Molina-Ollero, A., Rico-Jiménez, M., Cabrera, J.J., López-Solanilla, E., Matilla, M.A. (2025) Acetylcholine chemotaxis in global bacterial plant pathogens. *Microbiological Research* 300: 128294.

Matilla, M.A., Krell, T. (2018) The effect of bacterial chemotaxis on host infection and pathogenicity. *FEMS Microbiology Reviews* 42: fux052.

Matilla, M.A., Krell, T. (2023) Targeting motility and chemotaxis as a strategy to combat bacterial pathogens. *Microbial Biotechnology* 16: 2205-2211.