

# Expresión heterogénea y colonización de la planta en *Pseudomonas syringae*

Nieves López-Pagán<sup>1</sup>, María-Antonia Sánchez-Romero<sup>2</sup>, José S. Rufián<sup>1,3</sup>, Laurent Aussel<sup>4</sup>, Josep Casadesus<sup>2</sup>, Javier Ruiz-Albert<sup>1</sup>, Carmen R. Beuzón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Depto. Biología Celular, Genética y Fisiología, Campus de Teatinos s/n, Málaga, E-29071-Spain <sup>2</sup>Departamento de Genética, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain <sup>3</sup>Shanghai Center for Plant Stress Biology, Shanghai Institutes of Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201602, China. <sup>4</sup>Laboratoire de Chimie Bactérienne, Institute de Microbiologie de la Méditerranée, Aix-Marseille Université, Marseille, France

## INTRODUCCIÓN

La heterogeneidad fenotípica se ha descrito en poblaciones clonales durante décadas. Bajo ciertos circuitos regulatorios, la heterogeneidad o ruido en la expresión génica puede dar lugar a un patrón de expresión bimodal en un ambiente homogéneo. Este proceso donde la población se divide en una subpoblación ON y una subpoblación OFF para la expresión de un determinado gen es conocido como biestabilidad. La relevancia de este proceso se ha demostrado en patógenos de animales durante la persistencia a antibióticos. Un fenómeno similar se ha observado en proteínas asociadas a virulencia, cuya reducción de la expresión se asocia con un incremento del fitness metabólico en células individuales. Dado que individuos no productores pueden beneficiarse de las proteínas de virulencia producidas por otros, la heterogeneidad fenotípica podría suponer una ventaja adaptativa para la población manteniendo la identidad genética de ésta. En *Pseudomonas syringae*, una bacteria fitopatógena Gram negativa, hemos observado que genes importantes para su virulencia muestran expresión heterogénea durante la colonización de la planta. Siendo este el primero caso descrito de heterogeneidad fenotípica en un huésped no animal.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para analizar la expresión a nivel de célula individual se han generado fusiones transcripcionales en el cromosoma de *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola a genes reporteros codificantes de proteínas fluorescentes. Los genes seleccionados fueron codificantes de diferentes elementos del sistema de secreción tipo III (T3SS) y la flagelina. Su análisis se ha llevado a cabo mediante técnicas de microscopía confocal y de citometría.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La expresión de genes del T3SS y del flagelo es heterogénea durante la proliferación en los espacios intercelulares de la hoja huésped. No obstante, en medio de inducción en el laboratorio, los genes del T3SS, pero no del flagelo, muestran expresión biestable que requiere división celular activa. Previamente hemos demostrado que las subpoblaciones que se forman durante la expresión biestable presentan diferencias fenotípicas respecto a virulencia. Asimismo, resultados previos de nuestro laboratorio indican un cierto grado de contra-regulación entre la expresión del T3SS y la motilidad flagelar. Mediante análisis de expresión de estos genes a nivel de célula individual, hemos confirmado que esta contra-regulación existe, pero no es todo o nada pudiéndose observar subpoblaciones que además de expresar uno u otro sistema, expresan ambos o ninguna.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo se ha financiado gracias a la financiación concedida por el Programa “Retos” del Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto BIO2015-64391R) a Carmen R. Beuzón y Javier Ruiz-Albert, y la COST Action SUSTAIN (FA1208).

## **BIBLIOGRAFÍA**

Ortiz-Martín, I., Thwaites, R., Macho, A.P., Mansfield, J.W., and Beuzón, C.R. (2010b) Positive regulation of the Hrp type III secretion system in *Pseudomonas syringae* Pv. phaseolicola. *Mol Plant Microbe Interact* 23: 665–681.

Rufián, J.S., Sánchez-Romero, M.A., López-Márquez, D., Macho, A.P., Mansfield, J.W., Arnold, D.L., Ruiz-Albert, J., Casadesús, J., and Beuzón, C.R. (2016) *Pseudomonas syringae* differentiates into phenotypically distinct subpopulations during colonization of a plant host. *Environmental Microbiology* 18(10), 3593–3605.