

**Análisis genómico y funcional de los efectores de las familias HopAF y HopAO del sistema de secreción tipo III de *Pseudomonas savastanoi* pv. savastanoi NCPPB 3335**

**M. Pilar Castañeda-Ojeda<sup>1\*</sup>, Emilia López-Solanilla<sup>2</sup> and Cayo Ramos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Área de Genética, Universidad de Málaga, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”, Universidad de Málaga-CSIC (IHSM-UMA-CSIC), Campus de Teatinos, 29071-Málaga. E-mail: crr@uma.es

<sup>2</sup>Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), Universidad Politécnica de Madrid. E-mail: emilia.lopez@upm.es

*Pseudomonas savastanoi* pv. savastanoi (Psv) es el agente causal de la tuberculosis del olivo. El análisis bioinformático del borrador del genoma de Psv NCPPB 3335 permitió identificar 33 posibles efectores (T3E) del sistema de secreción tipo III (T3SS). Además, la secuenciación de los tres plásmidos de esta cepa reveló que los genes codificantes de los T3E HopAF1 y HopAO1 se localizan en los plásmidos pPsv48A y pPsv48B, respectivamente, codificándose en el cromosoma de esta cepa un homólogo de HopAF1 (HopAF1-2). Análisis posteriores revelaron que Psv NCPPB 3335 también codifica en el cromosoma un T3E (HopAO2) que contiene un dominio enzimático tirosina fosfatasa (PTP), similar al que posee HopAO1. El análisis filogenético de las familias HopAF y HopAO permitió identificar que ambas se encuentran ampliamente distribuidas dentro del complejo *P. syringae*. Análisis de translocación y transcripcionales validaron a los T3E HopAF1, HopAF1-2, HopAO1 y HopAO2 como nuevos T3E del secretoma del T3SS de Psv NCPPB 3335. La expresión heteróloga de estos 4 T3E tiene como consecuencia la interferencia con la respuesta de defensa primaria (PTI) de *Nicotiana tabacum*, lo que implica una reducción de la deposición de calosa y de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Asimismo, los T3E HopAF1-2, HopAO1 y HopAO2 también inhiben la inmunidad mediada por efectores (ETI) en este mismo hospedador. Por otro lado, y utilizando fusiones traduccionales a la proteína verde fluorescente (GFP), se localizaron los T3E HopAF1, HopAF1-2, HopAO1 y HopAO2 próximos a la membrana plasmática de las células de *Nicotiana benthamiana*. Además, HopAO2 también se localizó en vesículas del aparato de Golgi. La delección del gen *hopAF1* del plásmido pPsv48A en Psv NCPPB 3335 tuvo como consecuencia una ligera reducción en el tamaño de los tumores inducidos por este patógeno en plantas de olivo lignificadas, mientras que la delección del gen *hopAO1* conllevó una clara disminución de la virulencia del mismo.

Financiación: AGL2011-30343-C02-01 (MINECO), cofinanciado por FEDER