EL SECRETOMA ESTIMADO DEL HONGO FITOPATÓGENO *STEMPHYLIUM LYCOPERSICI* CIDEFI-216

The predicted secretome of the plant-pathogenic fungus *Stemphylium lycopersici* CIDEFI-216.

Franco M. E. E. [1]*, López S. M. Y. , Medina R. [1], Troncozo M. I. [2], Lucentini G. [1], Saparrat M. C. N. [2, 3, 4] y Balatti P. A. [1, 2]

1 CIDEFI-CICBA, FCAyF, UNLP. 2 Cátedra de Microbiología Agrícola, FCAyF, UNLP. 3 Instituto de Botánica Carlos Spegazzini, FCNyM, UNLP. 4 INFIVE-CONICET, FCAyF-FCNyM, UNLP.
*ernesto.franco@agro.unlp.edu.ar

Introducción

Se entiende por *secretoma* al conjunto de proteínas exportadas por una célula en determinadas condiciones. En hongos, estimaciones actuales dan cuenta que entre un 5% y 15% del proteoma corresponde a proteínas secretadas. Este número, si bien alto, no debería sorprender si se tiene en cuenta la maquinaria enzimática extracelular que los hongos requieren para la degradación de macromoléculas utilizadas para su nutrición. El perfil funcional de proteínas secretadas por un hongo guarda estrecha relación con el nicho ecológico que éste ocupa, y esto puede ser de utilidad para la prospección de enzimas de interés biotecnológico. El secretoma de los fitopatógenos es de gran importancia puesto que su estudio puede conducir a la identificación de las proteínas claves en la interacción con su hospedante.

Stemphylium lycopersici (Ascomycota) es un fitopatógeno polífago de amplia distribución mundial. Este hongo, necrótrofo, es el agente causal de la mancha gris de la hoja del tomate (Fig 1), enfermedad de prevalencia y severidad creciente en Argentina. El **objetivo** del trabajo fue caracterizar el secretoma *in silico* de *S. lycopersici* CIDEFI-216.

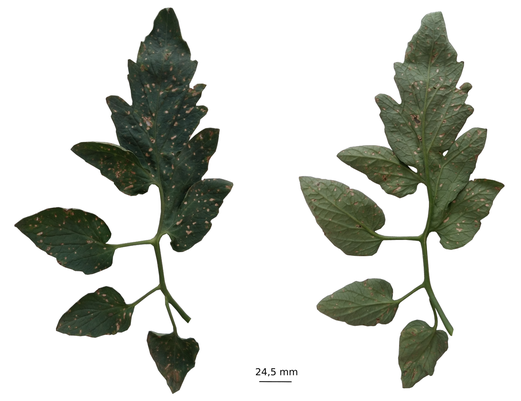


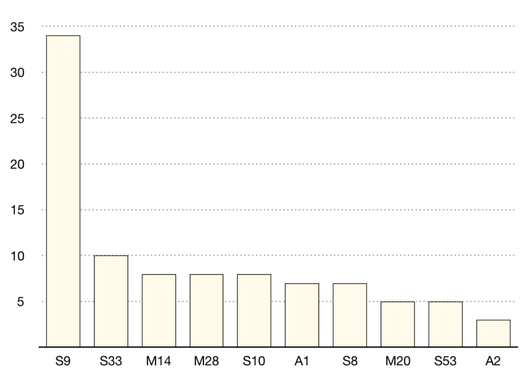
Fig 1. Mancha gris de la hoja del tomate. Cara adaxial (izquierda) y abaxial (derecha)

Materiales y Métodos

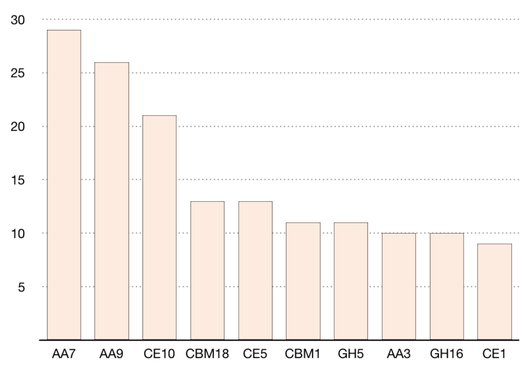
El secretoma de *S. lycopersici* CIDEFI-216 se predijo por la presencia en el proteoma teórico (GenBank: LGLR00000000.1) de péptidos señal de localización extracelular y ausencia de dominios transmembranales (SignalP 4.1, http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/). A partir de este sub-set de datos, se evaluó el contenido de enzimas activas sobre carbohidratos (CAZymes) (dbCAN, http://csbl.bmb.uga.edu/dbCAN/), de peptidasas y sus inhibidores (MEROPS, , https://www.ebi.ac.uk/merops/), de lipasas y otras hidrolasas de éster carboxílico (LED, http://www.led.uni-stuttgart.de) y de efectores (EffectorP, http://effectorp.csiro.au; PHI-base, http://www.phi-base.org).

Resultados

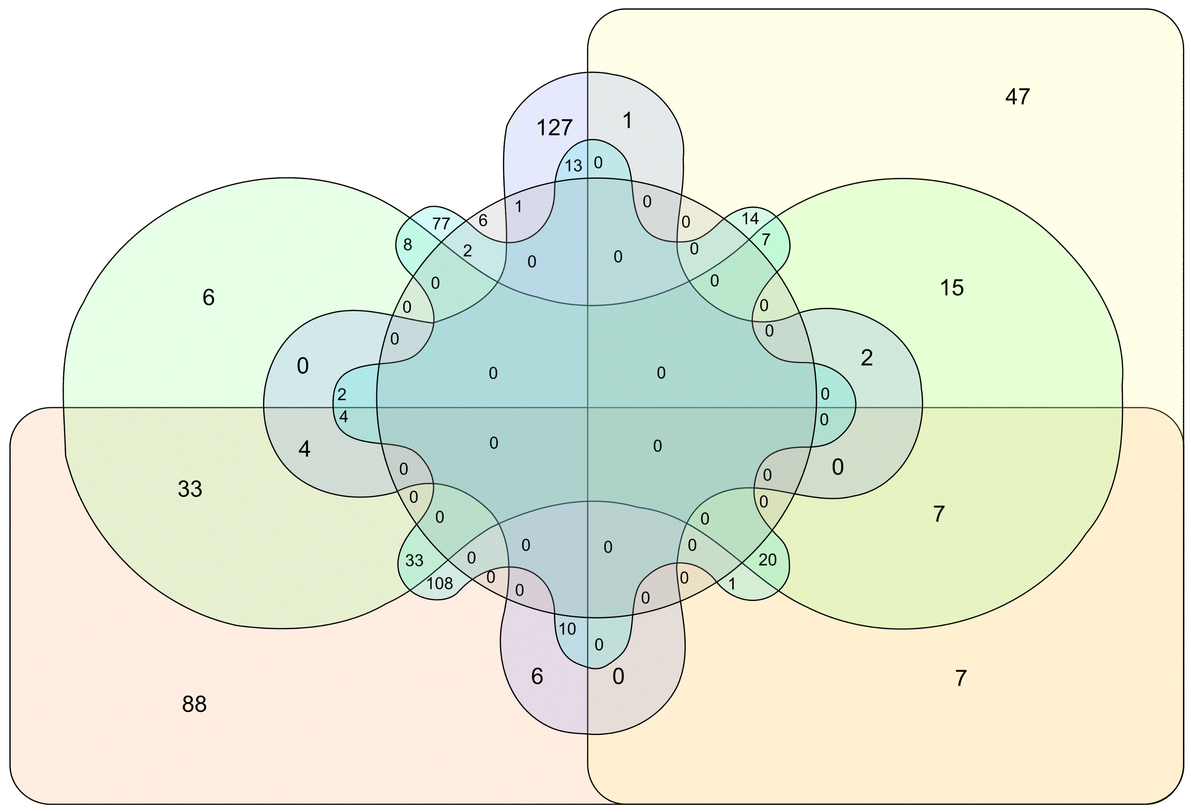
Se encontró que *S. lycopersici* CIDEFI-216 tiene el potencial para secretar 1005 proteínas, incluyendo 356 enzimas activas sobre carbohidratos, 121 peptidasas, 9 inhibidores de peptidasas, 134 hidrolasas de éster carboxílico. Las herramientas PHI-base y EffectorP estimaron 229 y 141 proteínas relacionadas con la patogénesis, respectivamente. En los gráficos de barra se presentan los 10 resultados más frecuentes, salvo para Inhibidores de peptidasas, donde se exhibe su totalidad.



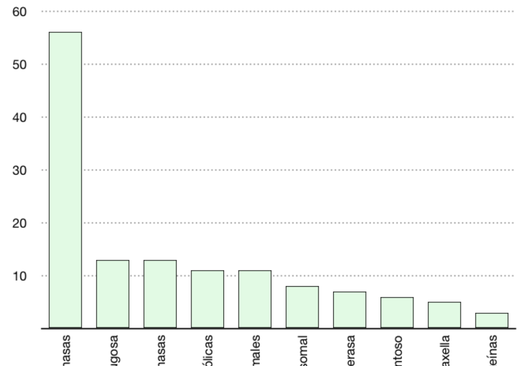
A: Aspartil-peptidasas S: Serin-peptidasas M: Metalo-peptidasas

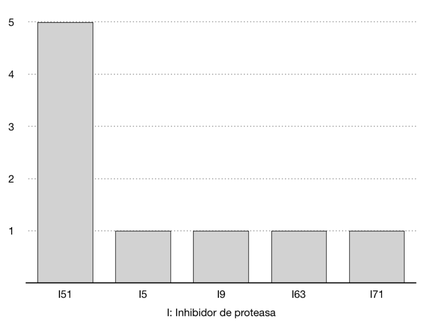


AA: Actividades auxiliares CBM: Modulo de unión a carbohidrato
CE: Carbohidrato esterasa GH: Glucósido hidrolasas



Cazymes (321)
Peptidasas (121)
Lipasas y relacionadas (141)
Inhibidores de peptidasas (9)
Interacción patógeno-hospedante (PHI-base, 299)
Efectores (EffectorP, 170)





I: Inhibidor de proteasa

Discusión

Teniendo en cuenta el número estimado de proteínas secretadas (1005), el 11,12 % del proteoma de *S. lycopersici* CIDEFI-216 es destinado al exterior de la célula. Este número está en el rango de lo esperado para un hongo fitopatógeno necrótrofo, que debe valerse de un arsenal de efectores secretados al espacio intercelular para poder colonizar el apoplásto de su hospedante, matar sus células y utilizarlas como fuente de nutrientes.

Así, en el secretoma de *S. lycopersici* CIDEFI-216 abundan lignocelulasas, pectinasas (CAZymes CEs y GHs) y cutinasas (CAZyme CE5, LED GX), enzimas claves en la degradación de la pared celular del hospedante. La familia CAZYme CBM18 se encontró en alta frecuencia (13); estas poseen un dominio de unión a quitina y podrían ser usadas para evadir el reconocimiento del hongo por la planta. Además, este patógeno tiene el potencial de secretar un gran número de peptidasas, particularmente Serina peptidasas, las cuales tienen un potencial rol en la patogénesis, así como inhibidores de peptidasas, entre los cuales se encuentra el inhibidor de serin-carboxipeptidasa Y (I05). Finalmente, las herramientas PHI-base y EffectorP (especializadas, pero con diferente criterio) acotan el número de proteínas secretadas relacionada con la patogénesis a 412, 41 % del secretoma estimado.

Los datos aquí presentados allanan el camino a estudios del secretoma *in planta* por el método de la huella peptídica. La comparación del secretoma de *S. lycopersici* CIDEFI-216 *in vivo* en interacciones con hospedantes compatibles e incompatibles evidenciarán efectores proteicos del hongo claves en el establecimiento de la enfermedad así como proteínas secretadas por la planta determinantes de la resistencia al patógeno. Esta información es base para el diseño racional de estrategias para el manejo de la mancha gris de la hoja del tomate.