

Interacción *Pseudocercospora fijiensis* con banano mediante el efector proteico PfAvr4

The Interaction between *Pseudocercospora fijiensis* and Banana Through the Effector Protein PfAvr4

Ignacio Islas-Flores^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-5353-073X>

Gilberto Muñoz-Pérez¹ <https://orcid.org/0000-0002-6687-6078>

Miguel Tzec-Simá¹ <https://orcid.org/0000-0003-1034-2509>

Blondy Canto-Canché² <https://orcid.org/0000-0003-0446-9503>

¹Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, México.

²Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. Mérida, Yucatán, México

*Autor de correspondencia: islasign@cicy.mx

Resumen

Introducción. *Pseudocercospora fijiensis* es un hongo filamentoso, causante de la enfermedad foliar llamada Sigatoka negra, la cual afecta a los bananos en todo el mundo (Arango *et al.*, 2016). Hasta hoy, su control eficiente se basa en la aplicación de fungicidas de contacto y sistémicos. Este fitopatógeno interactúa con su hospedero mediante la secreción de efectores de tipo fitotoxinas no específicas y efectores proteicos; los últimos menos comprendidos. **Objetivo.** Caracterizar el efecto de PfAvr4 en plantas de banano susceptibles y resistentes a la Sigatoka negra. **Métodos.** Se utilizaron clones de *Escherichia coli* conteniendo plásmidos ya sea con la región codificante del efector PfAvr4 inmaduro (PfAvr4_{innm}) o del producto maduro (PfAvr4_{mad}). De manera independiente, ambas regiones codificantes se subclonaron en el vector de expresión pLATE en *E. coli* y sus expresiones fueron inducidas con isopropil β-δ-1-thiogactopyranosido (IPTG); PfAvr4_{mad}

Abstract

Introduction. *Pseudocercospora fijiensis* is a filamentous fungus and causal agent of the foliar disease called black Sigatoka, which affects bananas worldwide (Arango *et al.*, 2016). To date, its control is based on the application of contact and systemic fungicides. This phytopathogen interacts with its host through the secretion of non-specific phytotoxin-type effectors and protein effectors, the latter less understood. **Objective.** To characterize the effect of PfAvr4 on susceptible and resistant banana plants to black Sigatoka disease. **Methods.** *Escherichia coli* clones, containing plasmids either with the full sequence corresponding to the immature PfAvr4 protein (PfAvr4_{innm}), or the mature product of Avr4 (PfAvr4_{mad}). On independent experiments, both coding regions were subcloned into the *E. coli* expression vector pLATE, in and induced with isopropyl β-δ-1-thiogactopyranoside (IPTG); PfAvr4_{innm} and PfAvr4_{mad} were purified by affinity

y PfAvr4inm fueron purificadas por cromatografía de afinidad en columnas His-Tag. Los polipéptidos fueron infiltrados en hojas de banano susceptible (*Musa acuminata*) y resistente (*Musa acuminata* ssp. burmannica), y su efecto sobre las hojas fue evaluado cada 24 horas, hasta las 96 horas. **Resultados y discusión.** Todos los tratamientos indujeron necrosis tanto en las hojas de las plantas susceptibles como en las resistentes a la Sigatoka negra, siendo más fuerte el efecto de PfAvr4mad. En los controles utilizados las áreas necróticas inducidas fueron más pequeñas, tanto en las plantas susceptibles como en las resistentes. **Conclusión.** El efector PfAvr4mad indujo una respuesta de hipersensibilidad en plantas de banano resistentes, pero también en las plantas susceptibles.

Palabras clave

Proteínas, efectores, *Musa acuminata*, expresión heteróloga.

chromatography on His-Tag columns. The polypeptides were infiltrated into banana leaves of susceptible (*Musa acuminata*) and resistant (*Musa acuminata* ssp. burmannica) plants, and their effect was monitored every 24 hours during 96 hours. **Results and discussion.** All treatments induced necrosis on both, susceptible and resistant plants to black Sigatoka disease, with stronger effect with PfAvr4mad. In control treatments, the necrotic areas were smaller in both, susceptible and resistant plants. **Conclusion.** The PfAvr4mad effector induced a hypersensitive response in susceptible and resistant banana plants.

Keywords

Proteins, effectors, *Musa acuminata*, heterologous expression.

Reconocimiento

A los proyectos CONACyT-México FOSEC-SEP No. 220957 y FOP16-2021-01 No. 320993.

Literatura citada

Arango, I.R.E.; Díaz-Trujillo, C.; Dhillon, B.; Aerts, A.; Carlier, J.; Crane, C.F.; de Jong, T.V.; de Vries, I.; Dietrich, R.; Farmer, A.D.; Fortes-Ferreira, C.; García, S.; Guzman, M.; Hamelin, R.C.; Lindquist, E.A.; Mehrabi, R.; Quiros, O.; Schmutz, J.; Shapiro, H.; Reynolds, R.; Scalliet, G.; Souza Jr, M.; Stergiopoulos, I.; Van der Lee, T.A.J.; de Wit, P.J.G.M.; Francoise-Zapater, M.; Harm-Zwieters, L.; Grigoriev, I.V.; Goodwin S.B. y Kema, G.H.J. (2016). Combating a global threat to a clonal crop: banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (Synonym *Mycosphaerella fijiensis*) genomes reveal clues for disease control. *PLoS Genetics*. 12(8): e1005876. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005876>