



Identificación de genes implicados en la interacción *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* - olivo

Isabel M. Matas* y Cayo Ramos

Área de Genética, Universidad de Málaga, 29071-Málaga, E-mail: crr@uma.es

Nuestro grupo de investigación está llevando a cabo un análisis genómico funcional de la interacción establecida entre el agente causante de la tuberculosis del olivo, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv), y su planta huésped: *Olea europaea* L. (ver también comunicación presentada por I. Pérez-Martínez). Tras la penetración de Psv en los tejidos vegetales a través de heridas en ramas y brotes, la multiplicación del patógeno desencadena una hipertrofia e hiperplasia de los mismos y, en consecuencia, la formación de tumores (agallas). En este trabajo planteamos utilizar una estrategia de genómica funcional, *Signature Tagged Mutagenesis* (STM), para la identificación de genes de Psv necesarios para su multiplicación dentro de los tejidos del olivo. Esta estrategia, basada en la utilización de una colección de transposones etiquetados (región central variable de 40 pares de bases detectable mediante hibridación *Southern*), combina la fuerza del análisis mutacional con la capacidad de seguir simultáneamente el comportamiento de un amplio número de mutantes en un único hospedador. Utilizando una mezcla de transposones *mini-Tn5*-STM (D. Holden, Imperial College, Londres), se construyó una colección de aproximadamente 5000 inserciones diferentes en el cromosoma y plásmidos nativos de la cepa de referencia Psv48 (NCPFB 3335). El análisis en masa de los mutantes se está llevando a cabo mediante inoculación simultánea de una mezcla homogénea de 48 mutantes diferentes (en total 10^3 - 10^4 UFC) en plantas de olivo cultivadas *in vitro*. Treinta días después de la infección, los tumores desarrollados albergan 10^6 - 10^7 UFC; la proporción de células portadoras de cada una de las etiquetas dependerá de la capacidad del mutante correspondiente de multiplicarse y sobrevivir dentro del tumor. Tras una segunda ronda de multiplicación *in vivo*, los mutantes no detectados se inoculan en proporción 1:1 junto con la cepa silvestre. Actualmente se han identificado 17 mutantes, de aproximadamente 2000 analizados, cuya supervivencia en olivo se encuentra significativamente reducida con respecto a la cepa parental. La identificación del punto de inserción del transposón y el análisis de las secuencias flanqueantes al mismo han revelado la identidad del gen interrumpido en cada uno de estos mutantes. Diez mutantes se encuentran afectados en genes implicados en el metabolismo central o de los ácidos nucleicos; dos, en genes relacionados con virulencia y secreción; tres, en genes implicados en la formación de envueltas celulares; uno, en un gen implicado en respuesta a estrés y adaptación ambiental y; un mutante, afectado en un gen implicado en quimiotaxis.