

Genómica de hongos fitopatógenos como herramienta para el desarrollo de estrategias de manejo

Genomic of phytopathogenic fungi as tool to develop of manage strategy

Ibonne Aydee García Romero*

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v21n2.84132

Los patógenos más devastadores de los cultivos agrícolas son los hongos, su manejo ha variado en el tiempo, este se ha dado de acuerdo al desarrollo del conocimiento de cada época y a la cultura. En las últimas dos décadas el desarrollo vertiginoso de las plataformas de secuenciación masiva y la bioinformática ha permitido la generación cientos de secuencias de genomas completos de hongos incluidos los fitopatógenos, abriendo la puerta para mejorar estrategias de manejo existentes y generar nuevas.

Los hongos son considerados los patógenos más devastadores de las plantas causando el 60% de las pérdidas, a pesar de que solo el 10% de los hasta ahora descritos puede colonizar plantas vivas (Aslam *et al.*, 2017); es decir, solo un pequeño número es considerado patógeno de especies vegetales. El manejo de enfermedades causadas por estos, en cultivos de importancia económica, siempre ha sido un reto que afrontar por el hombre desde la aparición misma de la agricultura. Las estrategias se han dado de acuerdo al desarrollo del conocimiento de cada época y a la cultura. Los primeros reportes escritos de enfermedades son mencionados en algunos textos griegos antiguos de Homero (1000 años a.C.); también aparecen en el antiguo testamento (750 años a.C.) y fueron documentadas de manera similar a como se abordaron las guerras y las enfermedades humanas. Los primeros agentes causales a los que se les atribuyeron las pérdidas de los cultivos fueron las divinidades a manera de castigo, y el manejo se daba a través de ofrecimiento de sacrificios a los dioses para que se apaciguaran y de esta forma evitar el daño de los cultivos a causa de mildes, royas entre otras plagas. También los textos de Homero señalan la posibilidad de manejarlas con el uso del azufre, y Demócrito (470 años a.C.) recomendaba el uso de aceite de oliva para contrarrestar los tizones (Agrios, 2005).

La concepción de que la causa de la pérdida de los cultivos se daba como castigo por los dioses se mantuvo en los siglos siguientes. Fue con el descubrimiento y la disponibilidad del microscopio que se despertó un enorme interés por el estudio de los hongos y su posterior asociación con muchas enfermedades de las plantas (Agrios, 2005). Uno de los primeros descubrimientos que llevaron a definir algunos hongos como agentes causales de enfermedades vegetales se dio en el año 1729 con el botánico Pier Antonio Micheli que describió géneros nuevos de hongos acuñando nombres científicos como *Aspergillus* y *Botrytis*, e ilustró sus estructuras reproductivas; además propuso que estos surgen de su propias esporas y no por genera-

* Química Farmacéutica, MSc en Microbiología, PhD en Ciencias Agrarias. Profesional especializado, Investigadora Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia*

ción espontánea (Schaechter, 1999). Desafortunadamente sus conclusiones no fueron aceptadas; pese a esto, algunos científicos siguieron trabajando en hongos fitopatógenos. Fue solo hasta en 1861 cuando Anton deBary logró demostrar que el tizón tardío de la papa era causado por un hongo (*Phytophthora infestans*, actualmente clasificado dentro de los Oomycota), y Louis Pasteur demostró que los microorganismos eran producidos por microorganismos preexistentes y las enfermedades más infecciosas causadas por gérmenes (Agris, 2005).

Durante las décadas posteriores hasta mediados del siglo XX, con el desarrollo de la microbiología, el estudio de hongos -incluidos los fitopatógenos- se direccionó a la generación de claves que permitieran su clasificación a través de las estructuras morfológicas, tanto a nivel macroscópico como microscópico, formadas en medios de cultivo. Paralelo a esto se desarrollaron diferentes tipos de estrategias de manejo, siendo el uso de químicos uno de los principales. Millardet a finales del siglo XIX implementó el caldo bordelés, aún usado en nuestros días (Arya & Perelló, 2010).

En los últimos cincuenta años a través de diferentes manejos, incluyendo la fertilización, técnicas de riego, control químico entre otras, se ha logrado aumentar la producción de cultivos agrícolas. Lo anterior también se ha visto soportado por las herramientas de la biología molecular con lo cual se avanzó en el diagnóstico y estudios de diversidad genética de los patógenos (Grover & Sharma, 2016).

Sin embargo, el uso de fungicidas y fertilizantes químicos ha llevado a impactar de manera negativa el ambiente. El aire, el agua y el suelo se están saturando de productos químicos comprometiendo la sostenibilidad de los sistemas agrícolas y la salud humana. Adicionalmente, la rápida aparición de resistencia a agentes de control químico por parte de los fitopatógenos incluidos los hongos, así como el quiebre de la resistencia de variedades vegetales desarrolladas, hace necesario una mayor adopción de manejos basados en control biológico y la generación de conocimiento que permita el desarrollo más rápido de variedades con resistencia durable, además de proponer nuevas estrategias.

En estas dos últimas décadas también se ha dado un vertiginoso desarrollo de las plataformas de secuenciación masiva, así como de la bioinformática, permitiendo la obtención de secuencias de genomas completos de diversas especies de hongos incluidos unos cientos de fitopatógenos. La información que se ha venido generando ha permitido empezar a comprender cómo viven y evolucionan, conocer sus rutas metabólicas, mejorar el diagnóstico, comprender cómo interactúan con sus hospederos, entre otros aspectos; es decir, ha contribuido a dilucidar cómo funcionan.

Estudios de genómica comparativa de hongos de diferentes procedencias, como lo son oportunistas, patógenos animales y fitopatógenos han permitido establecer que estos últimos tienen secuencias más grandes, lo cual se ha asociado a la presencia de un alto número de fragmentos repetitivos y no necesariamente a que tengan un mayor número de genes (Aylward *et al.*, 2017). Estas secuencias repetitivas corresponden a elementos transponibles (ET) y secuencias simples repetidas (SSRs) (Rao, Sharda, Oddi & Nandineni, 2018). Los ETs se han encontrado flanqueando genes que codifican proteínas efectoras y contribuyen a dos características principales de los hongos fitopatógenos: su variabilidad y adaptabilidad. La presencia de ETs promueve la variabilidad genómica ya que estos pueden direccionar la generación de nuevas proteínas, las cuales confieren posibles ventajas a la supervivencia, que en el caso de los hongos fitopatógenos es superar el sistema de defensa de la planta para infectar y colonizar (Aylward *et al.*, 2017; Mat, Cheah & Nadarajah, 2019). Por otro lado, los SSRs o microsatélites también juegan un rol importante en la organización génica y contribuyen a la evolución de una determinada especie, creando variantes genéticas (Rao *et al.*, 2018).

El análisis de las secuencias genómicas también ha permitido avanzar en la identificación de efectores. Se sabe que algunas de estas proteínas presentan características estructurales similares: en el caso de los Oomycota, a través de métodos bioinformáticos de enriquecimiento especiales es posible predecir secretomas de otras especies de oomycetes (Jones, Bertazzoni, Turo, Syme & Hane, 2018). Sin embargo, en los hongos estas secuencias son mucho menos conservadas y su predicción se dificulta. Los métodos ac-

tuales de predicción génica generalmente son asistidos por una combinación de estrategias *in silico* y apoyados por alineamientos a partir de secuencias de transcritos obtenidos con RNA-seq (Joshi, Megha, Basu, Rahman & Kav, 2016; Jones *et al.*, 2018).

La genómica de hongos fitopatógenos ha permitido acelerar los resultados de las investigaciones, además de allanar el trabajo en el laboratorio. Los desarrollos hasta ahora obtenidos y que se están generando de manera constante abren opciones diferentes que permiten ampliar las estrategias de manejo. En el caso de marcadores tipo SSRs cuya generación a finales del siglo XX era bastante dispendiosa y prácticamente imposible para especies de difícil manejo *in vitro*, mediante el análisis de la secuencia de genomas ensamblados es posible obtenerlos rápida y masivamente (Möller & Stukenbrock, 2017); de esta manera se han optimizado y con ello los estudios de diversidad genética e incluso el diagnóstico a nivel de variantes intraespecie.

De otro lado, la información generada a partir de estudios de genómica comparativa de poblaciones de una especie de hongo presente en una área específica, unido a las investigaciones de campo, ha permitido en algunos patosistemas predecir el tiempo que le tomará al patógeno quebrar la resistencia de los cultivares establecidos (Howlett, 2018). Lo anterior genera herramientas que apoyan y reorientan los programas de mejoramiento.

Finalmente, aunque la anotación del 100% de las secuencias codificantes de los genomas ensamblados aún esté en proceso y requiera de validación en el laboratorio, sumado a que hasta ahora empezamos a entender el papel que juegan las secuencias no codificantes, se abren dentro de las posibilidades el establecer posibles moléculas blanco de otras moléculas con actividad antifúngica permitiendo predecir cuál sería el comportamiento del patógeno *in vivo* y -porqué no- predecir los posibles mecanismos con los que podría generar resistencia.

Bibliografía

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Academic press.
- Arya, A., & Perelló, A. E. (Eds.). (2010). Management of fungal plant pathogens. Cabi.
- Aslam, S., Tahir, A., Aslam, M. F., Alam, M. W., Shedayi, A. A., & Sadia, S. (2017). Recent advances in molecular techniques for the identification of phytopathogenic fungi—a mini review. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 493-504.
- Aylward, J., Steenkamp, E. T., Dreyer, L. L., Roets, F., Wingfield, B. D., & Wingfield, M. J. (2017). A plant pathology perspective of fungal genome sequencing. *IMA fungus*, 8(1), 1.
- Grover, A., & Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(2), 290-302.
- Howlett, B. J. (2018). 2017 Daniel McAlpine Memorial Lecture. A 'genome to paddock' approach to control plant disease. *Australasian Plant Pathology*, 47(3), 239-243.
- Jones, D. A., Bertazzoni, S., Turo, C. J., Syme, R. A., & Hane, J. K. (2018). Bioinformatic prediction of plant-pathogenicity effector proteins of fungi. *Current Opinion in Microbiology*, 46, 43-49.
- Joshi, R. K., Megha, S., Basu, U., Rahman, M. H., & Kav, N. N. (2016). Genome wide identification and functional prediction of long non-coding RNAs responsive to *Sclerotinia sclerotiorum* infection in *Brassica napus*. *PLoS One*, 11(7), e0158784.
- Mat Razali, N., Cheah, B. H., & Nadarajah, K. (2019). Transposable Elements Adaptive Role in Genome Plasticity, Pathogenicity and Evolution in Fungal Phytopathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 3597.
- Möller, M., & Stukenbrock, E. H. (2017). Evolution and genome architecture in fungal plant pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 15(12), 756.
- Rao, S., Sharda, S., Oddi, V., & Nandineni, M. R. (2018). The Landscape of Repetitive Elements in the Refined Genome of Chilli Anthracnose Fungus *Colletotrichum truncatum*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2367.
- Schaechter, E. (1999). Pier Antonio Micheli, the father of modern mycology: A paean.