



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



URUGUAY

Estudio de enfermedades de trigo generadas por bacterias del género *Xanthomonas*

5ta Expotesis INIA

Lic. Felipe Clavijo

Tutora: Dra. María Inés Siri¹

Co-tutora: Dra. Silvia Pereyra²

1: Laboratorio de Microbiología Molecular, Área de
Microbiología, DEP BIO, Facultad de Química, Udelar

2: INIA La Estanzuela



AÑO INTERNACIONAL DE LA
SANIDAD VEGETAL

2020



Introducción

Trigo en Uruguay

- ▶ Principal cultivo de invierno:
promedio de 342.000 has
anuales (MGAP-DIEA)
- ▶ Producción promedio de 1055
toneladas anuales (MGAP-DIEA)
- ▶ 30% consumo interno, 70%
exportación

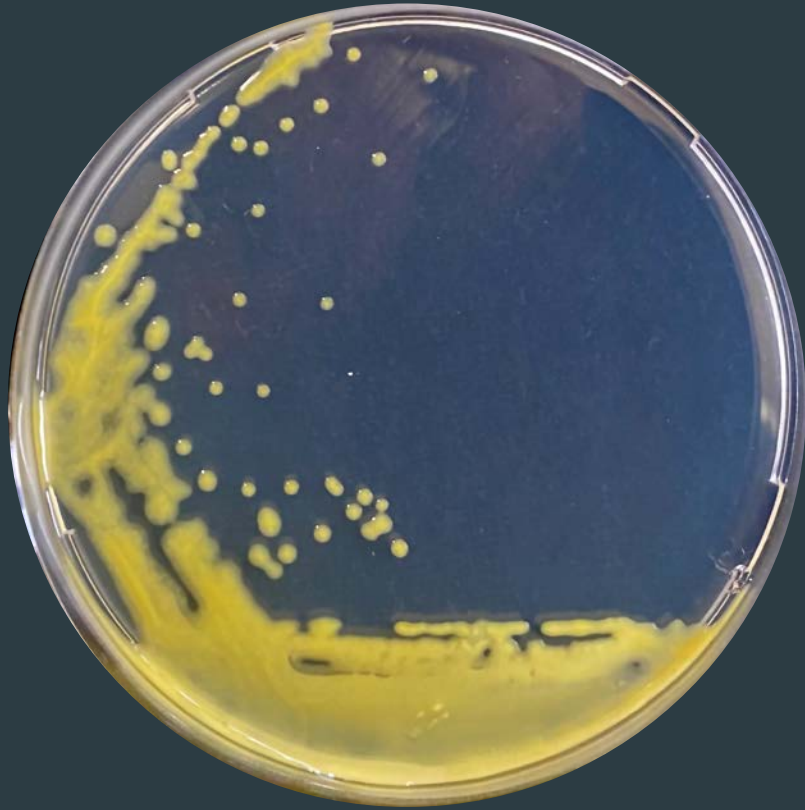


Estría Bacteriana de Trigo (BLS)

- ▶ Bacteriosis relevante por incidencia, pérdidas económicas. Distribución global
- ▶ Lesión transparente se alarga formando estría marrón, con exudado bacteriano que forma gotas en superficie
- ▶ Pérdidas en rendimiento de 10% y llegan hasta un 40%



Xanthomonas translucens



- ▶ *Xanthomonas*: más de 35 especies, patógenas de 400 especies vegetales
- ▶ *X. translucens*: única especie patógena de trigo
- ▶ Patovares: *cerealis*, *secalis*, *translucens* y *undulosa* causan BLS en distintos cereales.
- ▶ *X. translucens* pv. *undulosa* (Xtu) principal patovar asociado a trigo

BLS en Uruguay

- ▶ Incremento de incidencia en últimos años
- ▶ Niveles de susceptibilidad diferenciales en cultivares nacionales evaluados

Cultivares	Años en eval	Caracterización sanitaria ¹								
		MH	MA	FUS	RH	OIDIO	RT	RE	X	P
LE 2210 (INIA TIJERETA) (TCL)	+de3	8	5	9	8	3	1	3	8	1
LE 2245 (INIA GORRION) (T)	+de3	5	5	4	6	5	5	3	2	2
LE 2346 (GENESIS 2346) (PCS)	+de3	5	6	6	1	5	1	5	5	2
LE 2359 (GENESIS 2359) (T)	+de3	2	2	8	8	1	2	9	2	8
LE 2366 (GENESIS 2366) (PCS)	+de3	8	6	4	9	2	1	8	5	5
LE 2425 (GENESIS 7.25) (PCS)	+de3	3	4	5	2	5	1	6	(1)	2
LE 2445	+de3	5	5	4	2	2	1	6	5	5
KLEIN MERCURIO (K7319B1)	3	8	5	5	3	2	1	8	(3)	s/i
NST MALEVO (NST CL 17)	3	2	3	8	2	2	1	2	(2)	s/i

Nivel de susceptibilidad B: bajo; I: intermedio; A: alto

Nivel de susceptibilidad	B	B-BI	BI	BI-IB	IB-BI	IB	IB-I	I-IB	I	I-IA	IA-I	IA	IA-AI	AI-IA	AI	AI-A	A-AI	A
Escala numérica	1		2		3		4		5		6		7		8		9	

Caracterización sanitaria de cultivares de trigo y cebada, INIA. (Castro et al. 2020)

Objetivos

General

- ▶ Generar conocimiento y herramientas que contribuyan al manejo eficiente de la estría bacteriana de trigo causada por *X. translucens* en el territorio uruguayo

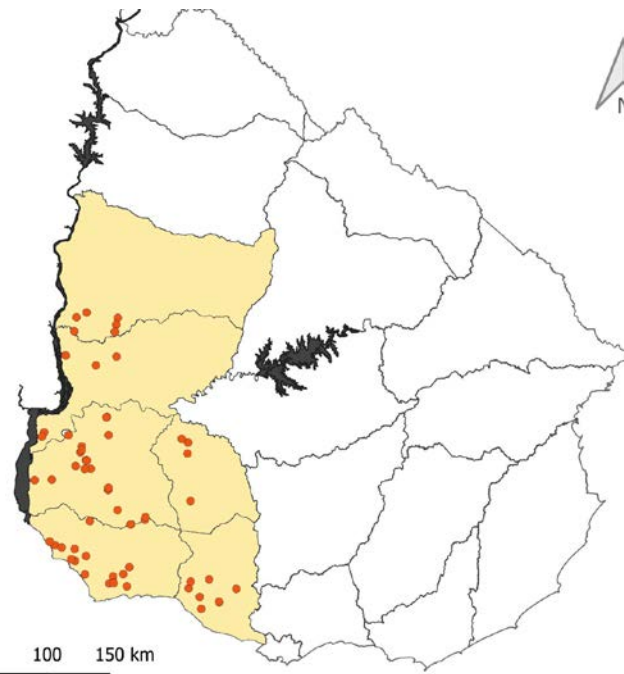
Específico

- ▶ Caracterizar las poblaciones de *X. translucens* causantes de estría bacteriana de trigo en Uruguay
- ▶ Desarrollar métodos moleculares de diagnóstico para la detección de este patógeno en plantas y muestras de semilla.

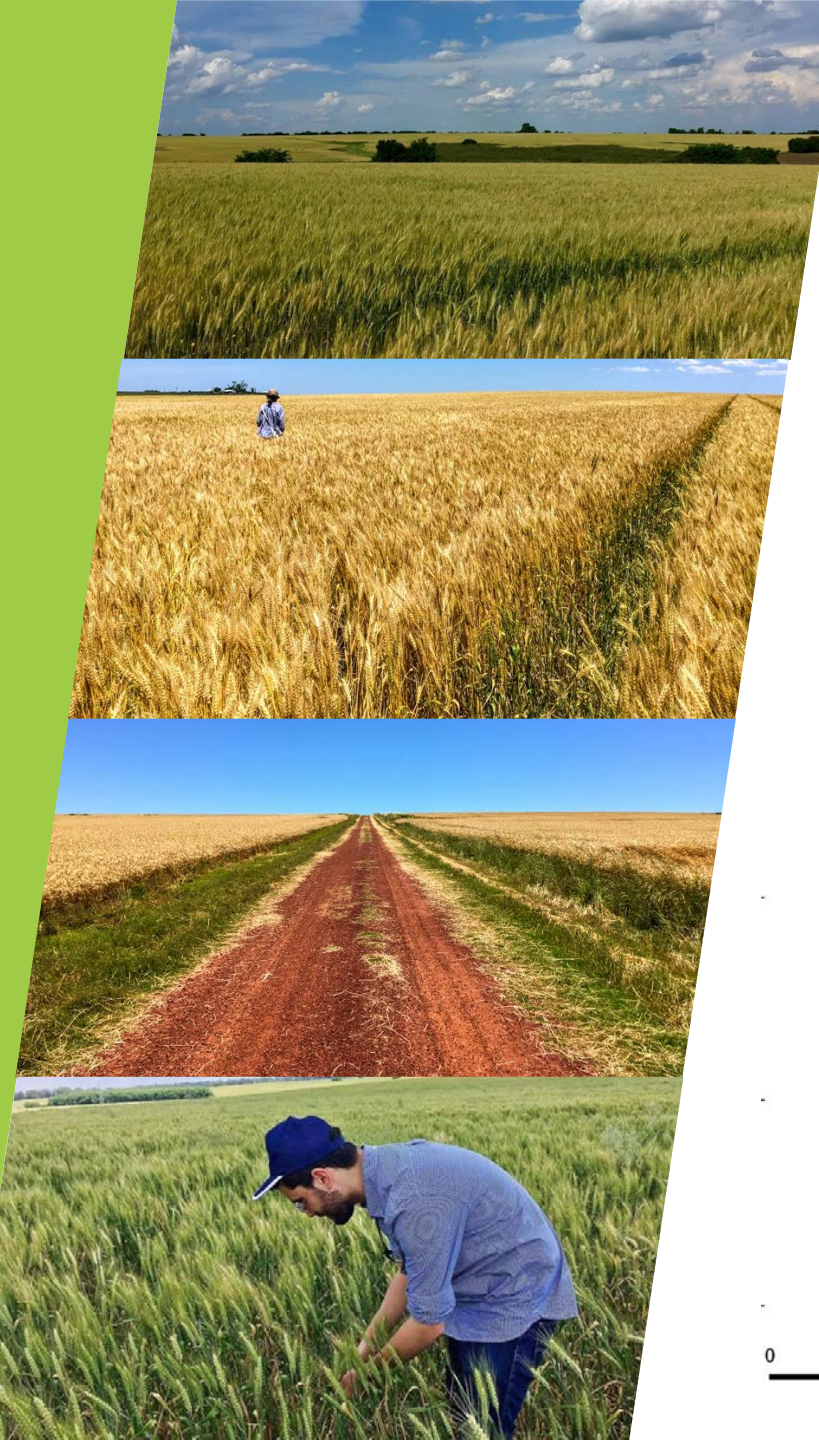
Avances

Muestreo de chacras de trigo

- ▶ 61 chacras: 2017 (4), 2018 (30) y 2019 (27).
- ▶ Se abarcó toda la región productora de trigo: San José, Colonia, Soriano, Río Negro, Paysandú y Flores

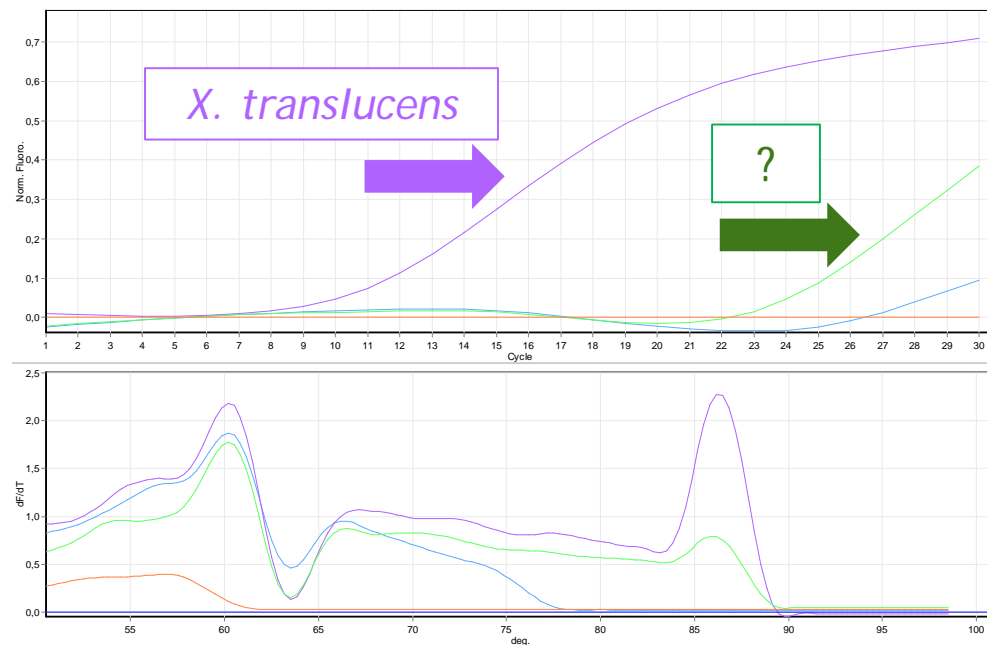


- ▶ Se incluyeron 15 cultivares de trigo utilizados por productores en la región
- ▶ Se tomaron muestras de tejido foliar sintomático



Aislamiento e identificación de las cepas

- Primera colección regional de *Xanthomonas* spp. que afectan cultivos de trigo.
- Aislamiento: dilución en medio sólido Wilbrink (WBA) a partir de muestras representativas de cada chacra (zona de avance de la lesión).
- Identificación: qPCR con *primers* específicos para *X. translucens* (Maes et al. 1996).

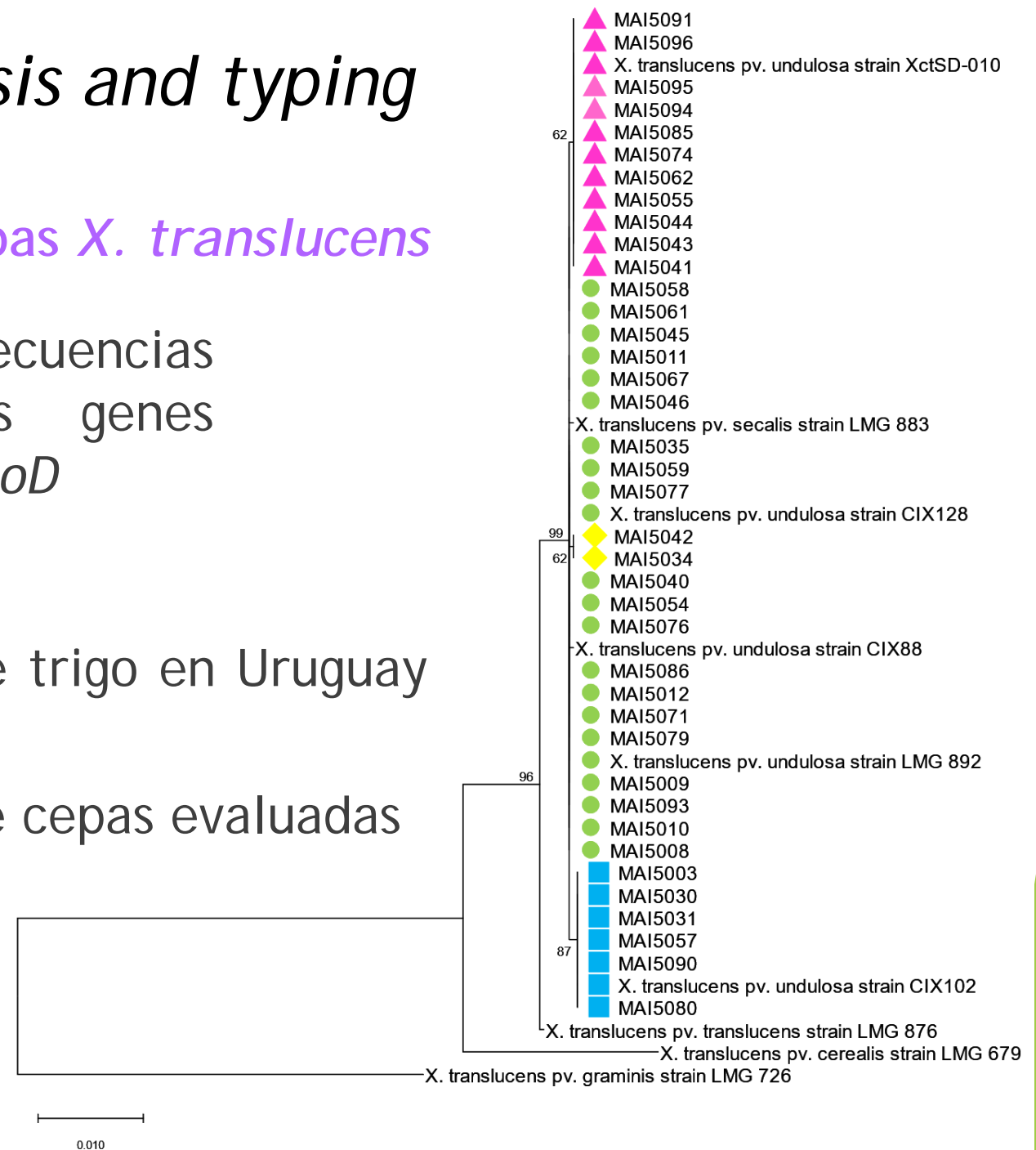


Multilocus sequence analysis and typing (MLSA-MLST):

Identificación y tipificación de cepas *X. translucens*

Análisis filogenético basado en secuencias concatenadas parciales de los genes *housekeeping dnaK*, *fyuA*, *gyrB* y *rpoD*

- ▶ Cepas de *X. translucens* aisladas de trigo en Uruguay pertenecen al **patovar *undulosa***
- ▶ 4 STs (variantes de secuencia) entre cepas evaluadas

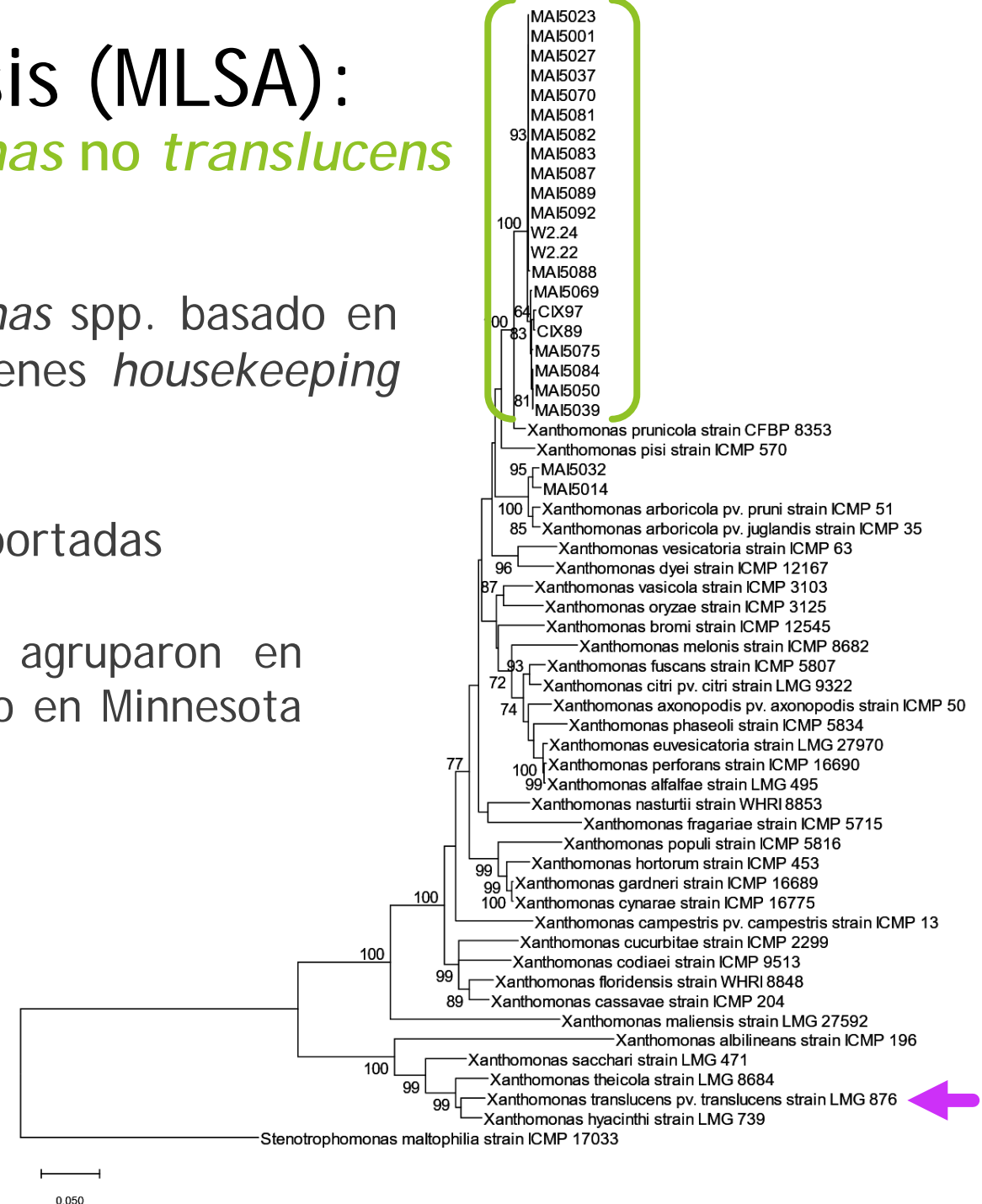


Multilocus sequence análisis (MLSA): Identificación de cepas de *Xanthomonas no translucens*

Análisis filogenético de cepas de *Xanthomonas* spp. basado en secuencias concatenadas parciales de los genes *housekeeping dnaK*, *gyrB* y *rpoD*.

Cepas tipo/patotipo de todas las especies reportadas

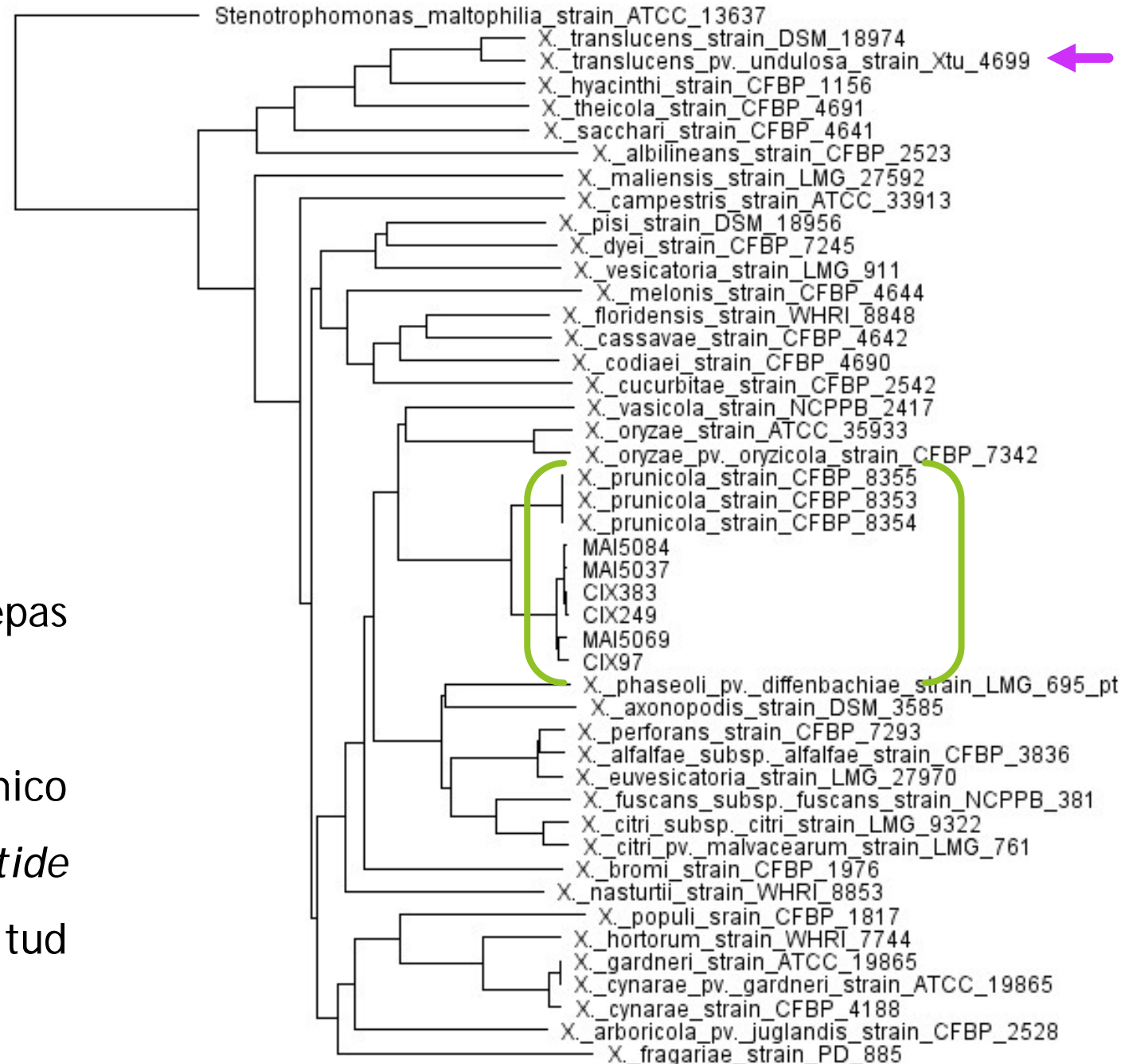
- ▶ Cepas de *Xanthomonas* (no *translucens*) agruparon en mismo *clade*, junto a cepas aisladas de trigo en Minnesota (R. Curland, *com. pers.*)
- Especie más relacionada: *X. prunicola*



Whole Genome Sequencing (WGS)

Identificación genómica de cepas de *Xanthomonas* -no *translucens*- aisladas de trigo

- ▶ Secuencias genómicas obtenidas por *Illumina Hi-Seq 2500*
- ▶ 3 cepas aisladas en Uruguay y 3 cepas aisladas en Minnesota
- ▶ Se construyó un árbol filogenómico usando valores de *Average Nucleotide Identity* (ANI), índice de similitud genómica global

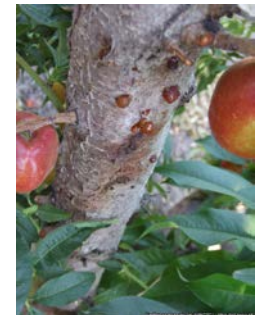


Whole Genome Sequencing (WGS)

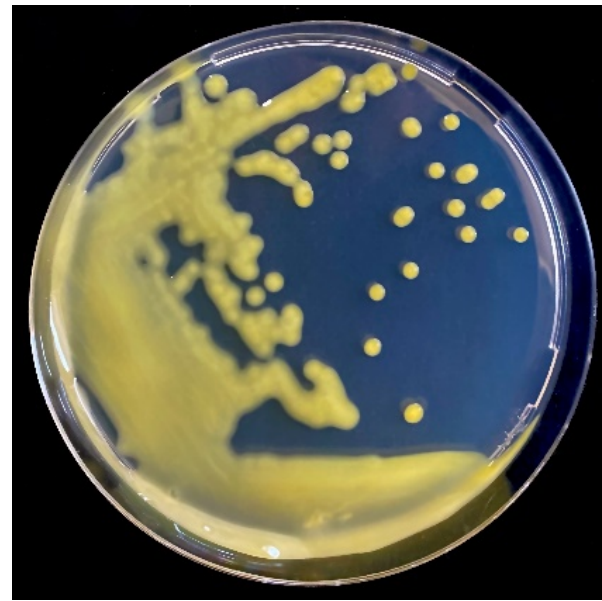
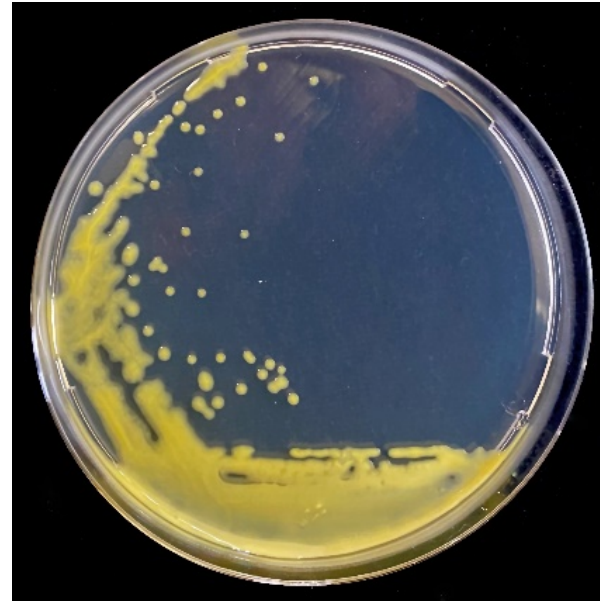
Identificación genómica de cepas de *Xanthomonas* -no *translucens*- aisladas de trigo

Query	Subject	dDDH (%)	ANI (%)
MAI5037	<i>X. prunicola</i> CFBP8353	72.5	97
MAI5069	<i>X. prunicola</i> CFBP8353	72.5	97
MAI5084	<i>X. prunicola</i> CFBP8353	73.0	97
CIX97	<i>X. prunicola</i> CFBP8353	72.6	97
CIX249	<i>X. prunicola</i> CFBP8353	72.5	97
CIX383	<i>X. prunicola</i> CFBP8353	72.2	97

- ▶ Asignación de especie en base a las distancias intergenómicas con cepas tipo de referencia disponibles en bases de datos, utilizando como valores de corte de 70% (dDDH) y 94-96% (ANI)
- ▶ **Las 6 cepas identificadas como *X. prunicola***
- ▶ Descrita recientemente (López et al. 2018)
- ▶ Aislada en España de árboles de nectarinas (durazno pelón)



Ensayo de patogenicidad



X. translucens
pv. *undulosa*

X. prunicola

Conclusiones y Perspectivas

- ▶ Los cultivos de trigo en Uruguay se encuentran afectados por cepas de *X. translucens* pv. *undulosa* causantes de estría bacteriana y cepas de *X. prunicola* asociadas a un síntoma de necrosis seca
 - ▶ Las cepas de *X. prunicola* aisladas de trigo en Uruguay y MN son el primer reporte de *Xanthomonas* no *translucens* patógenas en cereales
-
- ▶ Caracterizar la nueva patología de trigo causada por cepas de *X. prunicola*
 - ▶ Desarrollar métodos moleculares de diagnóstico para la detección de ambos patógenos en plantas y semilla

“BACTERIAS FITOPATÓGENAS: MECANISMOS DE RESISTENCIA HOSPEDERA Y DE INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO”

Proyecto financiado por el Programa Grupo de Investigación I+D de CSIC

“HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNÓSTICO, ESTUDIO Y MANEJO DE LA ESTRÍA BACTERIANA DE TRIGO CAUSADA POR *Xanthomonas translucens*”

Proyecto financiado por el Programa Grupo de Investigación I+D de CSIC Proyecto de investigación Fundamental Fondo Clemente Estable financiado por la ANII

ANII

AGENCIA NACIONAL
DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



FACULTAD DE
CIENCIAS
UDELAR | fcien.edu.uy



UNIVERSITY
OF MINNESOTA

Agradecimientos

Contacto: felipeclavijo94@gmail.com