

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA

Boletín Informativo

Núm. 49 Marzo 2005

Carta del Presidente

Estimados y estimadas colegas,

La Junta Directiva de la SEF se modificó en la Asamblea General, celebrada durante el XII Congreso en Lloret de Mar a finales de Septiembre de 2004. En dicha Asamblea se renovaron los cargos de Tesorera (Carmen de Blas Beorlegui) y Vocales (Aurora Fraile Pérez, Cinta Calvet Pinós) y Presidente (Jose M^a Melero Vara). A todos ellos quiero brindar nuestro agradecimiento por su labor en la Junta y en las actividades de nuestra Sociedad. Los nuevos miembros elegidos fueron Tesorero (Carlos López Herrera), Vocales (José Luis Palomo, Íñigo Zabalgogezcoa) y Presidente (Emilio Montesinos Seguí).

Como consecuencia de dicha renovación, el cargo de Editora del Boletín de la SEF ocupado hasta entonces por nuestra colega Cinta Calvet, asistida por Amparo Laviña, ambas del Departamento de Protección Vegetal del IRTA,

quedó vacante. Quisiera aprovechar esta ocasión para agradecer y reconocer el trabajo de estos años realizado por nuestras colegas que han dado un nuevo impulso tanto al Boletín como a la página Web de nuestra sociedad.

En la pasada reunión de la Junta Directiva se aceptó la propuesta y acordó nombrar responsables del Boletín y Web de la SEF a José Luis Palomo del Centro Regional de Diagnóstico-Junta de Castilla y León e Íñigo Zabalgogezcoa del IRNA-CSIC de Salamanca.

Quiero finalmente hacer una llamada a la colaboración con los nuevos editores, como siempre necesitados de noticias de interés sobre las actividades que tanto a título individual como colectivo sean de interés para nuestra Sociedad, y que contribuyen a mantenerla viva.

Emilio Montesinos
Presidente

Actividades de los Socios

Jubilación de Fina de Castro

El pasado 14 de febrero se jubiló Serafina Castro, 'Fina'. Socia fundadora de la SEF, bien conocida de muchos, ya que en los últimos años (de 1996 a 2000) participó en la Junta Directiva como tesorera.

Farmacéutica, zamorana (hacía una gran propaganda de su tierra, Sanabria), sin pelos en la lengua, amante de la buena mesa, de la lotería y de las largas tertulias, nos regaló su constancia en el trabajo, su responsabilidad, sus desvelos por todos los que tenía alrededor y un gran corazón.

Hizo la carrera en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) y su tesis doctoral en el Instituto de Microbiología "Jaime Ferrán" del CSIC, bajo la dirección de Miguel Rubio, realizando estudios pioneros en microscopía electrónica sobre virus de clavel. Después de unos años en la cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia de la UCM, pasó al Departamento de Protección Vegetal del INIA en Madrid, donde ha estado el resto de su vida laboral, dedicada a sus dos grandes aficiones: la microscopía y el estudio de los parásitos intracelulares.

Su exitosa producción científica queda reflejada en sus publicaciones, tesis doctorales dirigidas y en el recuerdo de los cientos de fitopatólogos de todo el mundo que han pasado por su laboratorio para aprender las técnicas de detección de virus y fitoplasmas. Sus amigos le deseamos que tenga un feliz retiro y siga disfrutando de la vida como hasta ahora.



Nombramiento

La Asamblea General de la European Association for Research on Plant Breeding (EUCARPIA), ha nombrado Miembro de Honor al Catedrático de Genética, D. Fernando Nuez Viñals, del Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana (COMAV-UPV). Esta distinción se concede en base a la trayectoria científica del investigador, teniendo en cuenta la intensidad de su labor investigadora en el campo de la mejora genética de hortalizas y el valor de su aportación a la comunidad científica. Se trata del octavo Miembro de Honor de la Sociedad desde 1956, año en que fue nombrado el Profesor D. E. von Tschermak-Seyseng.

Tesis

Francisco Teodoro Arroyo Cordero defendió el día 16 de noviembre de 2004 en el Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de Sevilla la Tesis Doctoral titulada "Caracterización del proceso de

infección de *Colletotrichum acutatum* Simmonds en plantas de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.): Estructura y Ultraestructura". La tesis ha sido realizada en el Departamento de Protección Vegetal del Centro de Investigación y Formación Agraria y Pesquera Las Torres-Tomejil de Alcalá del Río (Sevilla) bajo la dirección de los Drs. Fernando Romero Muñoz y Francisco Javier Moreno Onorato (Departamento de Biología Celular, Universidad de Sevilla) y recibió la calificación de Sobresaliente *cum laude* por unanimidad.

María del Mar Cátedra Cerón defendió el 22 de Diciembre de 2004 la Tesis Doctoral titulada "Estrategias de control de enfermedades fúngicas en trigo". El trabajo fue dirigido por Ignacio Solís Martel y Diego Rubiales Olmedo y se realizó en el Departamento de Ciencias Agroforestales de la Universidad de Sevilla. La tesis fue calificada por unanimidad con Sobresaliente *cum laude*.

María Isabel Matas Casado defendió el 17 de marzo de 2005 la tesis de licenciatura titulada "Diferenciación de perfiles moleculares en *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, agente causal de la tuberculosis del olivo". Este trabajo lo ha dirigido Cayo Ramos Rodríguez, del Área de Genética de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Málaga.

Empresas

Desde 1999 funciona una consultora agroambiental en biotecnología y medio ambiente, llamada **CIBIOTEC** (Centro de Innovación en Biotecnología y Medio Ambiente), ubicada en Dos Hermanas (Sevilla) para atender a los socios de manera gratuita en las consultas que fueran de interés general para la participación en proyectos de I+D, búsqueda de socios colaboradores (UE, internacional), cursos de formación, congresos nacionales internacionales, ofertas de empleo, etc. Contacto: gloriadpl@yahoo.es, jasoler@inicia.es.

Libros

Alien species and evolution: The evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes, and interacting native species, Cox, George W. 2004. 400 páginas. Island Press. ISBN: 1559630094. 36 €.

The Manual of Biocontrol Agents. Leonard G. Copping. 2004. 758 páginas. BCPC Publications. ISBN: 1901396355. 230 €

Ecological Methods in Forest Pest Management. David Wainhouse. 2004. 248 páginas. Oxford University Press. ISBN: 0198505647. 81 €

Viruses and Virus Diseases of Poaceae (Graminae) Lapierre H., Signoret P.A. 2004. 890 páginas. INRA Editions. ISBN: 2738010881. 95 €

Neotyphodium in cool season grasses, C. Roberts, C. West, D. Spiers. 2005. 352 páginas. Blackwell Publishing. ISBN: 0813801893. 110 €

Los parásitos de la vid. Estrategias de protección razonada. 5ª edición. Grupo de trabajo de la vid. 2005. 391 páginas. Mundi Prensa. ISBN: 8484762181. 45 €

Guía práctica de productos fitosanitarios. Edición 2005. J.I. Yagüe González, A. Yagüe Martínez de Tejada. 456 páginas. Mundi Prensa. ISBN: 8484762300. 40 €

Intercellular Communication in Plants. A. Fleming. 2005. 296 páginas. Blackwell Publishing ISBN: 1405120681. 214 €

Fungi: Biology and Applications. K. Kavanagh. 2005. 384 páginas. John Wiley & Sons. ISBN: 0470867027. 48 €

Alteraciones fisiológicas de los frutos cítricos. 2004. 126 páginas. Ministerio de Agricultura, pesca y Alimentación. ISBN: 8449106362. 9 €

A Colour Atlas of Diseases of Lettuce and Related Salad Crops. D. Blancard, H. Lot, B. Maisonneuve. 2005. 376 páginas, Manson Publishing. ISBN: 1840760508. 190 €

Colour Handbook of Pests, Diseases and Disorders of Rice. S. Leong, P. Teng, N. Cattlin. 2004. 240 páginas. Blackwell Publishing. ISBN: 1840760192. 80 €

Internet

Ante la necesidad de que se valoren más las revistas españolas y se divulguen mejor las noticias de tipo científico en nuestro país, se ha puesto en marcha un portal *on line* de revistas científicas españolas llamado “**REVICIEN**”, <http://www.revicien.net> Incluye aquellas revistas que tienen un Comité Editorial y evalúan

los artículos. Muchas de ellas están indexadas en el SCI. Este portal presenta la novedad de contar con un Gabinete de Prensa que elabora notas para la divulgación de los artículos más relevantes en los medios. También tiene una agenda, servicio de e-alerts, etc. No dejéis de visitarlo.

Congresos

International Plant Virus Epidemiology Symposium, Lima (Peru) del 4 al 8 de Abril de 2005. www.cipotato.org/training/PlantVirusEpidemSymp05

AGROFRUT'05, I Congreso Internacional de Fruticultura, Zaragoza (España) del 6 al 7 de abril de 2005. www.agrolatino.com/agrofrut/index.htm

IOBC-WPRS Working Group: Integrated Control In Glasshouses And Outdoor Nursery Stocks. Turku (Finlandia) del 10 al 14 de Abril de 2005. web.agrsci.dk/plb/iobc/meet2005.htm

9th International Workshop on Plant Disease Epidemiology, Landerneau (Francia) del 10 al 15 de Abril de 2005. www.rennes.inra.fr/epidemio2005/

International Working Groups on Legume and Vegetable Viruses, Fort Lauderdale (EE.UU.) del 11 al 15 Abril de 2005. conference.ifas.ufl.edu/vegleg/

International Edible Legume Conference in conjunction with the IV World Cowpea Congress, Durban (Sudáfrica) del 17 al 21 Abril de 2005. www.up.ac.za/conferences/ielc

1st International Conference on Plant-Microbe Interactions: Endophytes and Biocontrol Agents, Saariselkä (Finlandia) del 18 al 22 de abril de 2005. www.bioweb.fi/

XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología (AAF) y III Taller Argentino de Fitopatología. Villa Carlos Paz, Córdoba (Argentina) del 19 al 22 de abril de 2005. www.aafitopatologos.com.ar/congreso.html

57th International Symposium On Crop Protection, Gante (Bélgica) el 10 de mayo de 2005. www.iscp.ugent.be/

IOBC/WPRS Working Group. "Integrated Protection in Viticultura", Reims (Francia) del 18 al 20 de mayo de 2005. www.iobc-wprs.org/events/

III International Symposium on Figs, Faro (Portugal) del 16 al 20 de mayo de 2005. ileitao@ualg.pt

12th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Bari (Italia) del 21 al 27 de mayo de 2005. www.unifi.it/istituzioni/mpu/XIIMPUCongress/mputabinfo.html

IV International Symposium on Pistachio and Almond, Tehran (Irán) del 20 al 26 de mayo de 2005. www.pri.ir

II Simposio internacional sobre vigilancia fitosanitaria y su relación con la protección al entorno, La Habana (Cuba) del 30 de Mayo al 3 de Junio de 2005. www.inisav.cu/eventos.htm

V International Cherry Symposium, Bursa (Turquía) del 6 al 10 de junio de 2005. atillaer@uludag.edu.tr

International symposium on Plant Protection and Plant Health in Europe: Introduction and Spread of Invasive Species, Berlín (Alemania) del 9 al 11 de junio de 2005. www.phytomedizin.org/aktuell.htm#dpg_bcp

13th International Sclerotinia Workshop Monterey, California (EE.UU) del 12 al 16 de junio de 2005. http://cemonterey.ucdavis.edu/Custom_Program598/13th_International_Sclerotinia_Workshop.htm

XIII International Symposium on Apricot Breeding and culture, Murcia (España) del 13 al 17 de junio de 2005. www.viajescajamurcia.com/congresos/apricot/

XI International Asparagus Symposium, Horst/Venlo (Holanda) del 16 al 19 de Junio de 2005. www.ias2005.com/

13th European Weed Research Society Symposium, Bari (Italia) del 20 al 23 de junio de 2005. www.ewrs-symposium.com/

Second Asian Conference on Plant Pathology, 'Challenges and Opportunities in Plant Pathology in Asia'. Singapur del 25 al 28 de junio de 2005. www.2ndACPP.org

XXII Reunión Bienal de la Sociedad de Microscopía de España. Granada (España) del 28 de junio al 1 de julio de 2005. www.eez.csic.es/XXIIsmc/

18th World Congress of Soil Science. Filadelfia (EE.UU.) del 9 al 15 de Julio de 2005. www.colostate.edu/programs/IUSS/18wcsc/index.html

16th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Bilbao (España) del 17 al 22 de Julio de 2005. www.EAPR2005-Bilbao.com

International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions, Cancún (México) del 17 al 22 de Julio de 2005. www.ismpminet.org

XVII International Botanical Congress (XVII IBC 2005), Viena (Austria) del 18 al 23 de Julio de 2005. www.ibc2005.ac.at

Joint meeting of the 3 Divisions of the international Union of Microbiological Societies 2005: XIth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology / XIth International Congress on Mycology / XIIIth International Congress of Virology, San Francisco (EE.UU) del 23 al 28 de Julio de 2005. www.iums2005.org

Phyllosphere 2005: 8th International Symposium on the Microbiology of Aerial Plant Surfaces, Oxford (Inglaterra) del 24 al 27 de Julio de 2005. www.ceh.ac.uk/phyllosphere/

7th International IOBC/WPRS Workshop on Orchard Diseases, Piacenza (Italia) del 31 de agosto al 3 de septiembre de 2005.
www.iobc-wprs.org/events/

American Phytopathological Society Annual Meeting, Austin (EE.UU) del 30 de Julio al 3 de agosto de 2005. www.apsnet.org

International conference on biological and pro-ecological methods for control of diseases in orchards and small fruit plantations, Skierniewice (Polonia) del 29 al 31 de agosto de 2005. www.pomocentre.insad.pl/

International Congress of Auchenorrhyncha, Berkeley (EE.UU) del 11 al 15 de agosto de 2005. nature.berkeley.edu/hoppercongress/

International Conference on Environmental Effects of Agricultural Practices: Remediation, Prevention, and Sustainability, Hawaii (EE.UU.) del 21 al 24 de agosto de 2005.
<http://www.dce.ksu.edu/dce/conf/ag&environment/>

International Conference & Exhibition on Soilless Culture, Singapur del 1 al 4 de septiembre de 2005.
www.singaporehydroponics.com

International Symposium on Growing Media, Angers (Francia) del 4 al 10 de septiembre de 2005.
<http://ishs-angers.agrena.org/>

Potato 2005, Emmeloord (Holanda) del del 5 al 11 de septiembre de 2005. www.potato2005.com

III International Symposium on Cucurbits, Townsville (Australia) del 12 al 16 de septiembre de 2005. cucurbitsymposium.org.au/symposium/

IV International Symposium on Rose Research and Cultivation, California (EE.UU) del 12 al 16 de septiembre de 2005.
b-pemberton@tamu.edu

The VIII International Symposium on Thysanoptera and Tospoviruses. Pacific Grove (EE.UU) del 11 al 15 de septiembre de 2005. www.istt2005.net.

International Symposium on Advances in Grapevine and wine Research, Venosa (Italia) del 15 al 17 de septiembre de 2005.
nuzzo@unibas.it

XX Congreso Nacional de Microbiología, Cáceres (España) del 19 al 22 de Septiembre de 2005. micelio.unex.es/sem2005/

XV Meeting of the Eucarpia Tomato Working Group. Bari (Italia) del 20 al 23 de septiembre de 2005.
http://www.eucarpia.org/02meetings/Tomato2005_1stAnnouncement.doc

International Symposium on Biotechnology of Temperate Fruit Crops and Tropical Species, Daytona Beach (EE.UU) del 10 al 14 de octubre de 2005. conference.ifas.ufl.edu/ishscrops

1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases, Darmstadt (Alemania) del 23 al 26 de octubre de 2005.
www.bba.de/veranst/bcbpd_2005/bcbpd.htm

III World Mycotoxin Forum, Noordwijk aan Zee (Holanda) del 10 al 11 de noviembre de 2005.
<http://www.bastiaanse-communication.com/html/3th-wmf.html>

IX International Rubus and Ribes Symposium, Santiago (Chile) del 5 al 7 de diciembre de 2005.
pbanados@puc.cl

Emerging Trends in Plant-Microbe Interactions, Chennai (India) del 8 al 10 de diciembre de 2005. gnanamanickam@yahoo.com

15th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, Stellenbosch (Sudáfrica) del 3 al 7 de Abril de 2006. www.sasev.org

International Symposium on Advances in Soil and Soilless Cultivation under Protected Environment. Agadir (Marruecos) del 19 al 24 de febrero de 2006.
www.iavcha.ac.ma/ishs-morocco2006/

XX International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops and XI International Symposium of Small Fruit Virus Diseases. Antalya (Turquía) del 22 al 26 de mayo de 2006, caglayan@mku.edu.tr

Bases moleculares de la patogénesis de *Erwinia* (*Pectobacterium*) *chrysanthemi*

Emilia López Solanilla, Arancha Llama Palacios, Alfredo Maggiorani, María Antúnez,
Lilian Bracamonte y Pablo Rodríguez Palenzuela

Departamento de Biotecnología, E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid
Avenida Complutense s/n 28040 Madrid

La ‘podredumbre blanda’ de los vegetales causada por bacterias pectolíticas del género *Erwinia* (*Pectobacterium*) es una de las principales enfermedades a nivel mundial (Perombelon, 1982). Este grupo incluye *E. carotovorum*, y *E. chrysanthemi*, aunque esta última ha sido objeto de mayor interés por parte de la comunidad científica (Toth y col., 2003). *E. chrysanthemi* resulta particularmente pernicioso debido a su capacidad de causar infecciones latentes que se activan en post-cosecha, por lo que las consecuencias negativas no se limitan a la mera disminución del rendimiento, sino que afectan a la comercialización del producto (de Boer, 2002). El principal síntoma de esta enfermedad se denomina ‘maceración’ y se caracteriza por una necrosis más o menos localizada, acompañada por una pérdida de la consistencia del tejido vegetal (de ahí el nombre de la enfermedad), liberación de líquido intracelular y coloración amarillenta-marrón del tejido afectado. En los casos extremos, el tejido vegetal literalmente desaparece. El proceso está normalmente acompañado de olor desagradable.

E. chrysanthemi es capaz de infectar a un elevado número de especies de plantas cultivadas. Esta bacteria ha sido aislada, entre otras especies, en maíz, patata, clavel y violeta africana (Toth y col., 2003). En general, se acepta que cualquier tejido no lignificado es susceptible de ser infectado. No obstante, se ha observado que diferentes cepas manifiestan distintos niveles de virulencia en diferentes especies de plantas, lo que sugiere un cierto grado de especialización en las poblaciones de patógenos. Cuando no se encuentra infectando plantas, *E. chrysanthemi* puede persistir como saprofito, epífita o endofita. De hecho, esta bacteria es un habitante frecuente de hojas (Haygood y col., 1982), aguas superficiales (Cothier y Gilbert, 1990) y suelos

(Burr y Scroth, 1977; Stanghellini, 1992), por lo que el inóculo de la enfermedad tiene una distribución amplia y persistente en la mayoría de los ecosistemas agrícolas.

La patogénesis de esta bacteria ha sido estudiada intensamente en los últimos 80 años. La aproximación ‘clásica’ hacía énfasis en el arsenal de enzimas hidrolíticas que son producidas y secretadas por este patógeno en grandes cantidades durante el proceso de infección. Entre ellas, se han identificado celulasas, proteasas, hemicelulasas y diversas poli-galacturonasas y pectato-liasas (Bateman y Bashman, 1976; Barras y col., 1994). Estas últimas, capaces de degradar la ‘lámina media’ de la pared de los vegetales, son consideradas como los factores de virulencia más importantes y los causantes de la maceración del tejido (Alfano y Collmer, 1996). Otros aspectos de la patogenicidad de esta bacteria que han sido largamente estudiado son: 1) la regulación de los genes de enzimas hidrolíticos (Salmond, 1994); 2) la adquisición de hierro mediante la producción de sideróforos (Franza y col., 1999); y 3) el sistema de secreción tipo III, similar al de otras bacterias patógenas de plantas y animales, como *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium* o *Pseudomonas syringae* (Alfano y Collmer, 1996).

En los últimos años, nuestro laboratorio ha contribuido activamente al estudio de la patogenicidad de *E. chrysanthemi*. Nuestra aproximación parte del hecho de que esta bacteria es un patógeno del grupo de los necrogénicos, cuya población se desarrolla en los espacios intercelulares, aprovechando los nutrientes del contenido celular liberado por la actividad de enzimas pectolíticas. Por tanto, la supervivencia en el apoplasto, y sobre todo durante las fases iniciales de la infección, debe ser una de las claves fundamentales para el establecimiento de una población que ha de multiplicarse y extenderse en

el tejido huésped. En el apoplasto la bacteria se enfrenta a condiciones inhóspitas como la falta de nutrientes, la presencia de sustancias tóxicas como fitoalexinas o péptidos antimicrobianos, el estrés oxidativo en respuesta a la invasión o las condiciones de pH ácido características de este espacio. En resumen, para producir enfermedad el patógeno tiene que disponer de una batería de mecanismos que le permitan resistir en estas condiciones y es esperable que dichos mecanismos contribuyan de forma importante a su patogenicidad.

Los péptidos antimicrobianos descritos en un gran número de especies vegetales forman parte de la denominada defensa innata frente a microorganismos. Se ha descrito la actividad antimicrobiana *in vitro* para todos ellos y en algunos casos se dispone de evidencia directa sobre su función en los mecanismos de defensa de la planta (García-Olmedo y col., 1998). Su mecanismo de acción se basa en la permeabilización de membranas citoplásmicas y se localizan en las paredes celulares, entrando en contacto con el patógeno en los primeros estadios de la infección (García-Olmedo y col., 1998). En nuestro grupo se está abordando el estudio de los mecanismos de resistencia a péptidos antimicrobianos en bacterias fitopatógenas a través del análisis de mutantes afectados en su sensibilidad a dichos péptidos. De este modo se han descrito mutantes en *Ralstonia solanacearum* afectados en la estructura de lipopolisacáridos (LPS) de membrana externa que presentan un fenotipo no virulento en tabaco (Titarenko y col., 1997).

En *E. chrysanthemi* se ha descrito un mutante alterado en su sensibilidad a ciertos péptidos antimicrobianos; este tipo de mutante también ha sido descrito en *S. typhimurium*. La mutación se produce en el operón *sap* (sensibilidad a péptidos antimicrobianos) (Parra-Lopez y col., 1993; López-Solanilla y col., 1998). El operón *sap* codifica cinco proteínas que constituyen un transportador de membrana de la familia de los transportadores ABC. El mecanismo de resistencia propuesto pasa por la unión del péptido al componente periplásmico SapA seguido de la internalización del mismo a través del transportador constituido por las otras cuatro proteínas. El péptido, en el interior celular, sería degradado y/o activaría otros mecanismos de resistencia. Los mutantes en ambas bacterias son menos virulentos que la cepa silvestre en sus respectivos huéspedes. En el caso de *E. chrysanthemi* la reducción en la virulencia es tan dramática que supera a la que muestran mutantes

afectados en la producción de enzimas pectolíticas que han sido consideradas tradicionalmente como los determinantes más importantes de la virulencia en esta bacteria. El análisis de la contribución relativa en la virulencia de *E. chrysanthemi* del sistema Sap, de la producción de enzimas pectolíticas y del sistema Hrp (sistema de secreción tipo III), muestra que la resistencia a péptidos antimicrobianos contribuye en mayor medida que los otros factores a la virulencia de este patógeno en patata y en hojas de endibia (López-Solanilla y col., 2001).

Las células vegetales responden a la invasión de bacterias fitopatógenas desencadenando un choque oxidativo que se caracteriza por la producción de especies activas de oxígeno (EAO) entre las que se encuentra el peróxido de hidrógeno. Se ha propuesto que las EAO representan un papel doble en la defensa de la planta a través de su actividad antimicrobiana y como intermediarios en la activación de otros componentes de defensa (el Hassouni y col., 1999; Santos y col., 2001). La actividad antimicrobiana *in vitro* del H₂O₂ está demostrada (Doke, 1987), pero se desconoce todavía cual es su papel concreto *in vivo*. En nuestro laboratorio se ha descrito que la mutación en el gen *oxyR*, que controla la síntesis de enzimas implicadas en la detoxificación de EAO, conduce al incremento de la sensibilidad de la cepa a H₂O₂ *in vitro* mientras que la virulencia en diversos huéspedes permanece inalterada (Miguel y col., 2000). Estos resultados apuntan a que *in vivo* no se produce un efecto antimicrobiano directo del peróxido de hidrógeno debido probablemente a que las condiciones reductoras de la planta evitan que la bacteria se vea afectada por altas concentraciones de EAO. Sin embargo, existe controversia sobre este fenómeno ya que se ha descrito que la mutación en el gen *msrA*, afectado en una proteína implicada en la reparación de proteínas oxidadas, es más sensible a EAO y menos virulento (el Hassouni y col., 1999).

El apoplasto es un medio moderadamente ácido cuyos valores de pH oscilan entre 5.0 y 6.5 (Grignon y Sentenac, 1991). Además de a la concentración de protones (efecto pH) las bacterias se enfrentan a los efectos de ácidos orgánicos presentes en los tejidos vegetales. En los últimos años ha habido un gran progreso en el conocimiento de los mecanismos de adaptación a pH ácido en las enterobacteriaceas. Valores de pH bajos en el medio extracelular provocan una disminución del pH intracelular debido a la difusión pasiva de

protones a través de la membrana citoplásmica. La disminución de los valores de pH en el interior celular conlleva, entre otros, la activación de la expresión de genes que codifican descarboxilasas de aminoácidos que contribuyen a la elevación del pH a través de la catálisis de reacciones que consumen protones (Bearson y col., 1997). Los nuevos productos formados se intercambian por un nuevo sustrato mediante mecanismos de tipo antiporter. Estas condiciones inducen también la acumulación de al menos dos factores de transcripción: RpoS y PhoP. Estos reguladores controlan distintos grupos de genes implicados en la protección y reparación de macromoléculas. En *S. typhimurium* se ha descrito también un mecanismo de adaptación a la acción antimicrobiana de ácidos grasos de cadena corta (Kwon y Rieke, 1998).

En *Salmonella* se ha descrito un mecanismo de tolerancia a ácido basado en que el crecimiento a valores de pH moderadamente ácido induce la síntesis de proteínas específicas que protegerán a las células frente a valores de pH extremadamente ácidos (Foster y Hall, 1990). Este fenómeno ha sido estudiado en *E. chrysanthemi* y se ha comprobado que esta bacteria no dispone de la capacidad de adaptación descrita en *Salmonella* (Llama-Palacios y col., datos no publicados).

El estudio de la respuesta a pH ácido en *E. chrysanthemi* que actualmente se está desarrollando en nuestro grupo ha permitido la caracterización de un sistema de regulación de dos componentes denominado PhoP-PhoQ (Llama-Palacios y col., 2005) homólogo al descrito en otras enterobacteriaceas como *S. typhimurium* (Groisman y col., 1989; Miller y col., 1989). Este sistema ha sido descrito en *Salmonella* como un factor clave que controla la virulencia a través de la regulación de alrededor de 40 genes entre los que se incluyen proteasas, fosfatasa y transportadores de cationes (Ernst y col., 2001). PhoQ es un sensor histidin-quinasa que tras detectar diferentes condiciones se autofosforila y transfiere, tras un cambio conformacional, el grupo fosfato a PhoP que es un regulador transcripcional (Marina y col., 2001). Este regulador controla positivamente la expresión de un conjunto de genes denominados *pag* (*phoP*-activated genes) y negativamente los denominados *prg* (*phoP*-repressed genes). La función de estos genes es esencial para la virulencia de la bacteria ya que están implicados en procesos como la supervivencia en macrófagos, la supervivencia a pH ácido y la resistencia a péptidos antimicrobianos (Bearson y

col., 1998; Fields y col., 1989; Miller y Mekalanos, 1990). En *E. chrysanthemi* el mutante afectado en este sistema es incapaz de crecer a $\text{pH} \leq 5.5$ y su nivel de supervivencia disminuye drásticamente respecto del de la cepa silvestre. Este mutante es sensible a péptidos antimicrobianos, está afectado en la producción de enzimas pectolíticas, y su virulencia es significativamente inferior a la de la cepa silvestre en distintos huéspedes (Llama-Palacios y col., 2003). En *E. carotovora* también se ha descrito este sistema y se ha relacionado con la regulación de enzimas pectolíticas (Flego y col., 2000).

Además de proteínas con efecto antimicrobiano, las plantas producen otros muchos compuestos con capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos, principalmente metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, como fitoalexinas y alcaloides (Dixon, 2001). Al mismo tiempo, se sabe que las bacterias poseen mecanismos que confieren resistencia a tales compuestos, conocidos como transportadores MDRs (multidrug resistance). Dichos sistemas son capaces de promover la extrusión de compuestos orgánicos (de naturaleza química diversa) desde el interior de la célula bacteriana; lo cual da lugar al fenotipo de resistencia múltiple. Los genes que codifican dichos transportadores están ampliamente distribuidos entre las bacterias Gram-negativas (Paulsen y col., 1996). En concreto, se han caracterizado 5 familias: i) los transportadores de tipo ABC, ii) la superfamilia principal de facilitadores (MFS); iii) la familia de resistencia/nodulación/división celular (RND), iv) la familia de resistencia a multidroga de pequeño tamaño (SMR), y v) la familia de eflujo de compuestos tóxicos y multidroga (MATE). La mayoría de estos sistemas emplea la energía del gradiente electroquímico de protones para realizar el transporte (a excepción de la familia ABC que emplea directamente la hidrólisis de ATP). Dichos sistemas están siendo objeto de un intenso estudio en la actualidad, dado que están implicados en los fenómenos de desarrollo de resistencias a antibióticos en cepas hospitalarias. Una hipótesis razonable es que los sistemas de tipo MDR juegan un papel importante en la patogénesis de *E. chrysanthemi*. En nuestro laboratorio hemos iniciado un estudio sistemático de esta cuestión basado en la identificación de genes candidatos.

La supervivencia de muchas bacterias no depende sólo de su versatilidad metabólica, sino también de su capacidad de moverse y orientarse hacia gradientes de concentración de determinadas sustancias. En *E. coli* y otras

enterobacteriaceas, las bases moleculares de la motilidad y la quimiotaxis han sido intensamente estudiadas (McNab, 1987). Parece lógico pensar que dichas capacidades ejercen un papel importante en la capacidad infectiva de *E. chrysanthemi*. En nuestro laboratorio hemos encontrado que algunos genes posiblemente implicados en quimiotaxis se expresan de manera preferente durante el proceso de infección (Aguilar y col., 2002). Por esta razón se ha iniciado la identificación bioinformática de genes homólogos a *fliM*, *cheB*, *cheZ*, *cheY* y *cheW*, así

como la obtención de los mutantes correspondientes.

El genoma completo de *E. chrysanthemi* 3937 ha sido secuenciado, y la anotación del mismo está siendo completada por un consorcio internacional (www.ahabs.wisc.edu/~pernalab/erwinia/). El genoma completo de esta bacteria se encuentra disponible en el servidor web del Institute for Genomic Research (www.tigr.org/). Esta herramienta está propiciando nuevos abordajes para el estudio de esta bacteria y su interacción con sus plantas hospedadoras.

Bibliografía

- Aguilar, A., Poza-Carrión, C., Guío, A., Rodríguez-Palenzuela, P. (2002). *Mol. Plant Pathology* **3**:271-275.
- Alfano, J. R., Collmer, A. (1996). *Plant Cell* **8**:1683-1698.
- Barras, F., Van Gijsegem, F., Chatterjee, A. K. (1994). *Annu. Rev. Phytopathol.* **32**:201-234.
- Bateman, D. F., Basham, H. G. (1976). En "Encyclopedia of Plant Physiology, Physiological Plant Pathology". Vol.4. Springer-Verlag, Berlin.
- Bearson, S., Bearson, B., Foster, J. W. (1997). *FEMS Microbiol. Lett.* **147**:173-180.
- Bearson, B. L., Wilson, L., Foster, J. W. (1998). *J. Bacteriol.* **180**:2409-2417.
- Burr, T. J., Schroth, M. N. (1977). *Phytopathology* **67**:1382-1387.
- Cother, E. J., Gilbert, R. L. (1990). *J. Appl. Bacteriol.* **69**:629-738.
- Dixon, R.A. (2001). *Nature*, **411**:843-847.
- Doke, N. (1987). *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **53**:391.
- el Hassouni, M., Chambost, J. P., Expert, D., Van Gijsegem, F., Barras, F. (1999). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:887-892.
- Ernst, R. K., Guina, T., Miller, S. I. (2001). *Microbes Infect.* **3**:1327-1334.
- Fields, P. I., Groisman, E. A., Heffron, F. (1989). *Science* **243**:1059-1062.
- Flego, D., Marits, R., Eriksson, A. R., Koiv, V., Karlsson, M. B., Heikinheimo, R., Palva, E. T. (2000). *Mol. Plant-Microbe Interact.* **13**:447-455.
- Foster, J. W., Hall, H. K. (1990). *J. Bacteriol.* **172**:771-778.
- Franza, T., Sauvage, C., Expert, D. (1999). *Mol. Plant-Microbe Interact.* **12**:119-128.
- García-Olmedo, F., Molina, A., Alamillo, J. M., Rodríguez-Palenzuela, P. (1998). *Biopolymers* **47**:479-491.
- Grignon, C. Sentenac, H. (1991). *Annu. Rev. Plant Physiol.* **42**:128.
- Groisman, E. A., Chiao, E., Lipps, C. J., Heffron, F. (1989). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**:7077-7081.
- Haygood, R. A., Strider, D. L., Echandi, E. (1982). *Phytopathology* **72**:853-859.
- Kwon, Y. M., Ricke, S. C. (1998). *Appl. Environ. Microbiol.* **64**:3458-3463.
- López-Solanilla, E., García-Olmedo, F., Rodríguez-Palenzuela, P. (1998). *Plant Cell* **10**:917-924.
- López-Solanilla, E., Llama-Palacios, A., Collmer, A., García-Olmedo, F., Rodríguez-Palenzuela, P. (2001). *Mol. Plant-Microbe Interact.* **14**:386-393.
- Llama-Palacios, A., López-Solanilla, E., Poza-Carrión, C., García-Olmedo, F., Rodríguez-Palenzuela, P. (2003). *Mol. Microbiol.* **49**: 347-357
- Llama-Palacios, A., López-Solanilla, E., Rodríguez-Palenzuela, P. (2005). *J. Bacteriol.* (in press).
- McNab, R.M. (1987). En "Escherichia coli and Salmonella typhimurium". ASM, Washington, D.C.

- Miguel, E., Poza-Carrión, C., López-Solanilla, E., Aguilar, I., Llama-Palacios, A., García-Olmedo, F., Rodríguez-Palenzuela, P. (2000). *Mol. Plant-Microbe Interact.* **13**:421-429.
- Miller, S. I., Kukral, A. M., Mekalanos, J. J. (1989). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**:5054-5058.
- Miller, S. I., Mekalanos, J. J. (1990). *J. Bacteriol.* **172**:2485-2490.
- Parra-López, C., Baer, M. T., Groisman E. A. (1993). *EMBO J* **12**:4053-4062.
- Paulsen, I., Skurray, R. A., Tam, R., Saier, M. H. Jr., Turner, R. J., Weiner, J. H., Goldberg, E. B., Grinius, L. L. (1996). *Mol Microbiol.* **19**:1167-1175.
- Perombelon, M. C., Kelman, A. (1980). *Annu. Rev. Phytopathol.* **18**:361-387.
- Salmond, C.P. (1994). *Annu. Rev. Phytopathol.* **32**:181-200.
- Santos, R., Franza, T., Laporte, M. L., Sauvage, C., Touati, D., Expert, D. (2001). *Mol. Plant-Microbe Interact.* **14**:758-767.
- Stanghellini, M. E. (1982). En "Phytopathogenic prokaryotes". pp. 249-261. Academic Press, New York.
- Stataskawitz, B. J., Mudgett, M. B., Dangk, J. L., Galan, J. E. (2001). *Science* **292**:2285-2289.
- Titarenko, E., López-Solanilla, E., García-Olmedo, F., Rodríguez-Palenzuela, P. (1997). *J. Bacteriol* **179**:6699-6704.
- Toth, I., Bell, K. S., Holeva, M. C., Birch, S. H. (2003). *Mol. Plant Pathol.* **4**:17-30.



BOLETÍN DE LA SEF
Publicación Trimestral

Iñigo Zabalgoizea, IRNA-CSIC (Salamanca), izabalgo@usal.es
Jose Luis Palomo, C.R. Diagnóstico (Salamanca), jlpg@usal.es