

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA

Boletín informativo

Número 58 Junio 2007

Premios SEF en el Congreso Latinoamericano de Fitopatología

Del 20 al 24 de mayo de 2007 se celebró en Quintana-Roo, México, el XIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Fitopatología (ALF), el XXXIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología (SMF) y la XLVII Reunión Anual de la División Caribe de la American Phytopathological Society (APS-CD), reunión a la que asistieron fitopatólogos de diversos países latinoamericanos, Estados Unidos y España. En este congreso se presentaron 322 trabajos de los cuales 72 fueron en forma oral y los restantes en paneles. Como es tradicional en este evento, organizado por la ALF, la Sociedad Española de Fitopatología otorga el premio SEF al mejor trabajo, consistente en 1000 dólares y un diploma que fue entregado por Javier Romero en representación del Presidente de la SEF al trabajo titulado “**Avances en el conocimiento molecular**

de *Botrytis cinerea* en vides de mesa (*Vitis vinifera* L.) en Chile”, del que son autores: Marcela Esterio, Jaime Auger, Cecilia Ramos y M. José Araneda del Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago de Chile. El jurado calificador igualmente acordó otorgar un segundo premio SEF consistente de un diploma al trabajo titulado “Variabilidad molecular de los aislados españoles del virus del amarilleamiento necrotico del haba (FBNYV)” del que son autores Elena Navarro y Javier Romero, del Departamento de Protección Vegetal del INIA, Madrid. En este congreso tomó posesión como Presidente de la ALF el Dr. Gastón Apablaza de Chile, quien organizará el próximo congreso previsto para Enero de 2009 en Santiago de Chile.

Actividades de los socios

El 21 de febrero de 2007, **Elena Margarita Suárez Bonnet** defendió en la Universidad de Córdoba su Tesis Doctoral titulada: *Caracterización racial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y determinación de su viabilidad en suelos sometidos a diferentes regímenes térmicos*”, que obtuvo la calificación de Sobresaliente *cum laude* por unanimidad del tribunal. La Tesis fue desarrollada en el Instituto de Agricultura Sostenible de Córdoba (CSIC) y en el área de Protección de Cultivos de IFAPA, Centro “Alameda del Obispo”, bajo la dirección de José María Melero Vara y Ana María Prados Ligerero. La Tesis se realizó bajo la financiación de Excmo. Cabildo Insular de La Palma y el IPNA (CSIC).

El pasado 20 de Abril de 2007, el doctorando **Pedro Díaz Vivancos** defendió en la Universidad Politécnica de Cartagena su Tesis Doctoral titulada “*Expresión diferencial de proteínas y estudio del metabolismo antioxidativo de *Prunus* sp. y de plantas de guisante (*Pisum sativum* L.) en respuesta al Plum pox virus (PPV) a nivel subcelular*” obteniendo la calificación de Sobresaliente Cum Laude. El trabajo se desarrolló en el CEBAS-CSIC (Murcia) y fue dirigido por los doctores José A. Hernández Cortés y Pedro Martínez Gómez.

Mónica Pineda Dorado defendió el 27 de abril de 2007, en la Estación Experimental del Zaidín, CSIC (Granada), la tesis doctoral titulada "*Técnicas de imagen y proteómicas aplicadas al seguimiento de la interacción virus-planta huésped*", obteniendo la calificación de Sobresaliente Cum Laude y la mención de Doctorado Europeo por

unanimidad. La tesis fue realizada en el Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas de este mismo centro, y fue dirigida por la Dra. Matilde Barón Ayala.

Legislación

DECISION 2007/410/CE de la Comisión por la que se adoptan **medidas para evitar la introducción y propagación en la Comunidad del viroide de la deformación fusiforme del tubérculo de la patata**. Diario Oficial de la Unión Europea L 155 (15.6.2007):71-73

DIRECTIVA 2007/33/CE relativa al **control de los nematodos del quiste de la patata** y por la que se deroga la Directiva 69/465/CEE. Diario Oficial de la Unión Europea L 156 (16.6.2007):12-22

DIRECTIVA 2007/40/CE de 28 de junio de 2007 que modifica la Directiva 2001/32/CE por la que se reconocen **zonas protegidas en la Comunidad expuestas a riesgos fitosanitarios específicos**. Diario Oficial de la Unión Europea L 169:49-50

DIRECTIVA 2007/41/CE de 28 de junio de 2007 por la que se modifican algunos anexos de la Directiva 2000/29/CE del Consejo, relativa a las **medidas de protección contra la introducción en la Comunidad de organismos nocivos para los vegetales o productos vegetales y contra su propagación en el interior de la Comunidad**. Diario Oficial de la Unión Europea L 169:51-52

DECISIÓN de la Comisión de 18 de junio de 2007 sobre **medidas provisionales de emergencia para prevenir la introducción y propagación en la Comunidad de *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnell**. Diario Oficial de la Unión Europea (22.6.2007) L 161/66-69

Libros

Manual de agricultura de precisión: conceptos teóricos y aplicaciones prácticas. Basso, B. 2007. Ministerio de Agricultura. ISBN:844910765. 30,00 €.

Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management. Vurro, M.; Gressel, J. (Eds.). 2007. Springer. ISBN: 9781402057977. 159,95 €.

Fungal Genomics. Jay Dunlap (Ed.). 2007. Academic Press. ISBN: 9780120176571. 99,95 £

Green Gene Technology. Fiechter, A., Sautter, C.(Eds.). 2007. Springer. ISBN: 9783540713210. 199,95 €.

Plant-Pathogen Interactions. Methods and Protocols. Ronald, P.C. (Ed.). 2007, Springer. ISBN: 9781588294487. 74,95 €.

Publicaciones de la Sociedad Española de Fitopatología

PATOLOGÍA VEGETAL (2 Volúmenes). G. Llácer, M.M. López, A. Trapero, A. Bello (Editores). Mundi Prensa Libros S.A. - Phytoma España. 58.90 €.

<http://www.mundiprensa.com/cgi-bin/nuevas/abrir.asp?ID=L:84-7114-900-1>
http://www.phytoma.com/producto_e0011b.asp

ENFERMEDADES DE LAS CUCURBITÁCEAS EN ESPAÑA
Monografía N° 1. Sociedad Española de Fitopatología. J.R Díaz Ruíz, J. García-Jiménez (Editores). Phytoma-España. 37.60 €.
http://www.phytoma.com/producto_e0010.asp

ENFERMEDADES DE LOS CÍTRICOS
Monografía N° 2. Sociedad Española de Fitopatología. N. Duran-Vila, P. Moreno (Editores). Mundi Prensa Libros S.A. . 28.85 €.

<http://www.mundiprensa.com/cgi-bin/nuevas/abrir.asp?ID=L:84-7114-862-5>

ENFERMEDADES DE LOS FRUTALES DE PEPITA Y HUESO

Monografía N° 3. Sociedad Española de Fitopatología. E. Montesinos, P. Melgarejo, M.A. Cambra, J. Pinochet (Editores). Mundi Prensa Libros S.A. 28.85 €.

<http://www.mundiprensa.com/cgi-bin/nuevas/abrir.asp?ID=L:84-7114-916-8>

Congresos

III International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. Sorrento, Italia, 21-27 Julio 2007. <http://mpmi2007.org>

13th Symposium on insect-plant relationships. Uppsala, Suecia, 29 Julio - 2 Agosto 2007.
<http://www-conference.slu.se/sip13/index.htm>

International workshop on Fire Blight. Portland, EE.UU. 12-17 Agosto 2007.
<http://oregonstate.edu/conferences/fireblight2007>

IOBC/WFRS working Group Meeting "Integrated Protection of Stored products". Poznan, Polonia. 20-23 Agosto 2007.
<http://www.iobc-wprs.org/events/index.html>

ASM Conference on Pseudomonas 2007. Seattle, EE.UU. 26-30 Agosto 2007.
<http://www.asm.org/Meetings/index.asp?bid-44125>

IOBC/WPRS Working Group Meeting "Integrated Protection of Field vegetables". Oporto (Portugal). 23-28 Septiembre 2007.
rosemary.collier@warwick.ac.uk

IOBC Working Group Meeting "Integrated Plant Protection in Fruit Crops", Sub Group "Soft Fruits", East Malling, Kent, UK. 24-27 Septiembre 2007.

<http://www.iobc-wprs.org/events/index.html>

2nd International Conference on Bacterial Blight of Rice. Nanking, China. 1-3 Octubre 2007.

<http://icbb2007.njau.edu.cn/>

2nd International Symposium on Tomato Diseases. Kusadasi, Turquía. 8-12 Octubre 2007.

<http://www.2istd.com/>

4th International Rice Blast Conference. Hunan, China. 9-14 Octubre 2007.

<http://www.4thirbc.org/>

2nd Conference on Precision Crop Protection. Bonn, Alemania. 10-12 Octubre 2007.

<http://www.precision-crop-protection.uni-bonn.de>

IOBC/WPRS Working Group meeting "Integrated Protection of Olives Crops". Braganza, Portugal. 10-12 Octubre 2007.

<http://www.esa.ipb.pt>

16th International Plant Protection Congress.
Glasgow, Gran Bretaña, 15- 18 Octubre 2007.
<http://www.bpcp.org>

10th International Plant Virus Epidemiology Symposium. "Controlling epidemics of emerging and established plant virus diseases - the way forward." Hyderabad, India, 15- 19 Octubre 2007.
<http://www.ipve2007.net>

XIVth International Botrytis Symposium.
Ciudad del Cabo, Sudáfrica, 21- 26 Octubre 2007.
<http://academic.sun.ac.za/botrytis2007>

IOBC/WPRS Working Group "Integrated Protection in Oak Forests", Tiemcen, Algeria. 22-25 Octubre 2007.
rtbouhraoua@yahoo.fr
rt_bouhraoua@univ-tlemcen.dz

V Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Cartagena, España. 22-26 octubre 2007.
<http://www.upct.es/entomol/novedades.html>

17th Conference, International Organization of Citrus Virologists. Adana, Turquía, 22-26 Octubre 2007.
<http://iocv2007.cu.edu.tr>

International Workshop on Chestnut management in Mediterranean Countries: problems and Prospects. Bursa, Turquía, 23-25 Octubre 2007.
<http://www.chestnut2007turkey.org/>

IOBC/WPRS Working Group "Integrated Control in Viticulture", Marsala, Sicilia, Italia. 25-27 Octubre 2007.
<http://www.iobc-wg-viticulture.org>

Maintaining Worldwide Connections for Quality Assurance in Arthropod and Nematode Rearing, Montreal, Canada. 28 Octubre - 1 Noviembre 2007.
http://www.anbp.org/joint_meeting.htm

IOBC/WPRS Working Group "Integrated Control in Citrus Fruit Crops". Catania, Italia. 5-7 Noviembre 2007
<http://www.iobc-wprs-citruswg.net>

First International Phytoplasma Working group Meeting. Bolonia, Italia, 12-15 Noviembre 2007.
Bertaccini_a@biblio.cib.unibo.it.

Third International Phytopathological Conference. Lahore, Punjab, Pakistan. 19-21 Noviembre 2007.
<http://www.pu.edu.pk/mpp>

Theoretical population ecology & practical biocontrol - bridging the gap. Studley Castle, Warwickshire, UK. 5-6 Diciembre 2007.
<http://www.aab.org.uk/contentok.php?id=46&basket=wwshowconfdets>

VI International Strawberry Symposium. Huelva, España. 3-7 Marzo 2008.
<http://www.iss2008spain.com/ingles/index.cfm>

IOBC/WPRS Working Group "Integrated Control in Protected Crops, Temperate Climate", Sint Michielsgestel, Holanda. 21-25 Abril 2008.
<http://www.iobcgreenhouse2008.com/UK>

3rd European Whitefly Symposium. Almería 6-10 Mayo 2008.
http://www.whitefly.org/EWSIII_2007/EWS-III_interest.asp

9th International Congress of Plant Pathology. Turín, Italia, del 24 al 29 de Agosto de 2008. <http://www.icpp2008.org>

IOBC/WPRS Working Group "Biological control of fungal and bacterial plant pathogens". Wädenswil, Suiza. 9-12 Septiembre 2008.
<http://www.iobc-wprs.org/events/>

Identificación de factores de virulencia plasmídicos en el agente causal de la tuberculosis del olivo, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

Isabel Pérez-Martínez¹, Jesús Murillo², George W. Sundin³, Cayo Ramos¹

¹Área de Genética, Universidad de Málaga, 29071 Málaga; ²Departamento de Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra, 31006 Pamplona; ³Department of Plant Pathology, Michigan State University, East Lansing, MI 48824, EEUU.

La historia de la humanidad está salpicada de aceite de oliva. Según la mitología griega, durante el reinado de Cécrope (hacia el siglo XVI a.C.), Atenea y Poseidón compitieron por convertirse en deidad protectora de Atenas ofreciendo un regalo cada uno a los atenienses para que éstos eligiesen el que prefiriesen. Poseidón golpeó el suelo con su tridente e hizo brotar una fuente, pero su agua era salada y por tanto no muy útil, mientras que Atenea ofreció el primer olivo. En otras versiones de esta historia Poseidón ofrece el primer caballo, no obstante, en ambos casos los atenienses escogieron el olivo y con él a Atenea como patrona, pues el árbol daba madera, aceite y alimento. Aunque la primera referencia que ofrece pistas científicas sobre los orígenes del olivo se remonta a 35.000 años a.C., en el Paleolítico, poco sospechaban los atenienses la relevancia que el olivo alcanzaría con el tiempo, no únicamente en los países mediterráneos, donde el cultivo del olivo juega desde hace siglos un papel económico, nutricional, cultural, social y medioambiental, sino también en regiones tan alejadas del origen del cultivo como California, Argentina, Australia y Nueva Zelanda.

En la actualidad, España es el primer productor y exportador mundial de aceite de oliva y de aceitunas de mesa, con la mayor superficie de olivar y el mayor número de olivos. A nivel nacional, el olivar es el segundo cultivo en extensión, después de los cereales, y está presente en 34 de las 50 provincias españolas. Andalucía representa el 60% de la superficie total olivarera y casi el 82% de la producción total (M.A.P.A., Agencia para el aceite de oliva, 2007). Según datos provisionales del COI (2007), España contribuyó con casi el 43% de la producción total de la UE y el 32% de la producción mundial durante la campaña 2005/06. A pesar de todo esto, existen

pocas referencias generales sobre pérdidas de cosechas en España debidas a enfermedades que afectan al olivar.

La primera de las enfermedades del olivo de la que se tiene referencia histórica es la tuberculosis o "verrugas del olivo", descrita por el filósofo griego Teofrasto, en el siglo IV a.C. Hoy están descritos más de medio centenar de agentes bióticos patógenos que afectan al olivo causando enfermedades conocidas, infecciones latentes y otras enfermedades de etiología no bien determinada. La tuberculosis del olivo (*olive knot disease*), es la tercera enfermedad productora de pérdidas en olivo en España tras el repilo (*Cycloconium oleaginum*) y las aceitunas jabonosas (*Gloesporium olivarum*). Su agente causal, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv), es el único patógeno bacteriano del olivar incluido en la Directiva de la UE 92/34 relativa a las enfermedades que afectan a la calidad del aceite de manera significativa. La sintomatología más característica de esta enfermedad es la formación de tumores (hiperplasia del tejido vegetal conocida con el nombre de verrugas o excrecencias) en troncos, ramas, tallos y brotes. En general, los árboles enfermos muestran menor vigor y reducción del crecimiento; cuando el ataque es muy intenso, los árboles terminan siendo improductivos (Smith *et al.*, 1992). Datos experimentales recientes de infecciones controladas indican que las cepas de Psv son altamente virulentas (Penyalver *et al.*, 2006) y que la producción de olivos enfermos de tuberculosis puede disminuir con respecto a controles sin infectar (Quesada *et al.*, 2007). Además, la tuberculosis está presente con una incidencia variable en plantas de vivero, lo que limita hoy día su comercialización y exportación dado lo visible de su sintomatología. De hecho,

algunos países que importan planta de olivo española, como Chile, consideran a Psv un organismo de cuarentena (Muñoz Fuenzadila, 2005).

Actualmente, se dispone de pocos datos acerca de la epidemiología de esta bacteriosis y, sobre todo, de la biología molecular del proceso de infección. La identificación de genes de Psv responsables de su supervivencia epifítica, patogenicidad y virulencia resulta indispensable tanto para el diseño de estrategias novedosas y específicas de lucha contra esta enfermedad, como para la elaboración de programas de mejora genética del olivar.

Hasta la fecha, nuestro conocimiento sobre los factores de virulencia de Psv es muy limitado. Por un lado, la producción y secreción de las fitohormonas ácido indol-3-acético (AIA) y citoquininas (CK) es necesaria para la formación de tumores y los correspondientes genes de biosíntesis han sido localizados en plásmidos en diversas cepas (Glass y Kosuge, 1986; McDonald *et al.*, 1986). Por otro lado, también se ha descrito que la formación de tumores es dependiente de un sistema de secreción de tipo III (TTSS) (Sisto *et al.*, 2004), implicado en la inducción de la respuesta hipersensible y patogenicidad (genes *hrp/hrc*). Aunque estos genes no han sido identificados en su totalidad ni caracterizados en Psv, previamente se había descrito la existencia en este patógeno de genes plasmídicos codificadores de dos efectores tipo III, *hopAB1* y *avrB2* (Jackson *et al.*, 2002), que como se ha demostrado en otras bacterias patógenas de plantas, se liberan al interior de la célula vegetal afectando a funciones vitales.

Al igual que en Psv, la mayoría de las *Pseudomonas* fitopatógenas contienen al menos un plásmido nativo de alto peso molecular en el que se localizan genes relevantes para la patogénesis, virulencia ó adaptación ecológica (Vivian *et al.*, 2001; Sundin y Murillo, 1999; Jackson *et al.*, 2002). La mayoría de estos plásmidos, pertenecen a la familia de plásmidos pPT23A (PFP), caracterizada por contener secuencias homólogas a la del gen de la replicasa *repA* de este plásmido, perteneciente a la cepa PT23 de *P. syringae* pv. *tomato* (Murillo y Keen, 1994)

Los aislados de Psv contienen entre 2 y 6 plásmidos nativos de alto peso molecular (Surico *et al.*, 1985; Pérez-Martínez *et al.*, 2007). Recientemente, hemos determinado que la mayoría de ellos hibridan con una sonda *repA* y, por tanto, pertenecen a la familia PFP (Vivian *et al.*, 2001). Con el objetivo de identificar nuevos factores de virulencia en Psv, hemos llevado a cabo un análisis genómico de todos los plásmidos, tanto PFPs

como plásmidos no pertenecientes a esta familia (*nPFPs*), presentes en una colección de cepas de *P. savastanoi* aisladas de olivo. Para ello, se diseñó un macroarray que contenía 134 fragmentos de ADN pertenecientes a genes codificados en PFPs aislados de diversas *Pseudomonas* fitopatógenas (Zhao *et al.*, 2005). En total, se analizaron 32 plásmidos, 23 PFPs y 9 *nPFPs*, procedentes de 10 cepas de Psv. Tras aislar cada uno de ellos, se marcaron radiactivamente y se utilizaron como sondas en experimentos de hibridación con el macroarray.

El análisis de las hibridaciones reveló en estos plásmidos la presencia de secuencias relacionadas con su replicación, estabilidad y partición, con la biosíntesis de sistemas de secreción tipo IV, efectores del TTSS, genes implicados en la supervivencia epifítica y adaptación ecológica y elementos pertenecientes a secuencias de inserción (ISs). Además, se identificaron secuencias relacionadas con proteínas de función desconocida muy conservadas en *P. syringae* (Tabla 1).

En el primer grupo de genes identificados, se encuentran los relacionados con la replicación, mantenimiento y movilización de plásmidos. Estos genes son indispensables para que el resto de los genes codificados en estos plásmidos y relacionados con la virulencia y adaptación ecológica de las cepas de *P. savastanoi* se mantengan de forma estable y continua a lo largo de muchas generaciones. Como cabría esperar y se observa en la Tabla 1, este grupo de genes es de los más representados entre las cepas de Psv analizadas, hecho coherente con la estabilidad que se ha atribuido a estos plásmidos en Psv (Pérez-Martínez, 2007).

En un segundo grupo, se encuentran los genes implicados con la biosíntesis del sistema de secreción tipo IV (T4SS). Se han descrito dos grupos de genes T4SS diferentes, IVA (genes *vir*, homólogos a los codificados en el plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*, n° acceso NC_003065) y IVB (genes *tra*, homólogos a los presentes en el plásmido ColIb-P9 de *Shigella*, n° acceso AB_021078). En ambos casos, estos genes se han relacionado fundamentalmente con procesos de conjugación, si bien, durante los últimos años se les ha atribuido también un papel en virulencia similar al del TTSS (Cascales y Christie, 2003). Hemos encontrado una gran variabilidad en el contenido génico de genes T4SS en los plásmidos de Psv. En general, los plásmidos analizados se pueden agrupar en cuatro categorías según la presencia de un solo tipo de genes T4SS (IVA ó IVB), ambos tipos (IVA y IVB) o ausencia de este

Tabla 1

Cepa ^b	Origen	Tamaño Plásmidos ^c	Grupo Funcional				
			Replicación/ Estabilidad (27)	Conjugación (38)	Virulencia/ Adaptación (47)	Elementos Móviles (8)	Proteínas Hipotéticas (13)
UMA29	España	C, E*	13	10	9	7	3
UMA32	España	C, F, G	24	36	5	8	7
UMA36	España	A, C, G	22	13	28	10	9
UMA31	Italia	A, D, F, G, H*	39	53	19	14	18
UMA62	Italia	B, C, D*, F*, F*, H*	47	127	9	15	28
UMA35	Argelia	A, B*, F	32	52	25	11	13
UMA37	EEUU	B, F, F*	15	42	3	6	4
UMA47	Portugal	B, D	17	17	5	6	5
UMA48	Francia	C, F	12	21	6	6	2
UMA416	Serbia	B, C, F	30	18	24	12	15
1448A	Etiopía	A, E	31	21	43	28	3
DC3000	Reino Unido	C, D	9	50	23	10	0 ^d
ES4326	EE.UU.	F, F, H, H*, H*	20	18	10	9	22

^a Los números entre paréntesis indican el total de genes utilizados como sonda en cada categoría génica. En algunos casos, varios plásmidos de una misma cepa hibridaron con el mismo fragmento de ADN, por lo que el número de señales de hibridación puede ser mayor que el número de sondas.

^bUMA, aislados de *P. savastanoi* pv. *savastanoi*; 1448A; *P. savastanoi* pv. *phaseolicola*; DC3000, *P. syringae* pv. *tomato*; ES4326, *P. syringae* pv. *maculicola*. Los datos correspondientes a los aislados no pertenecientes al patovar *savastanoi* de *P. savastanoi* se han extraído de la secuencia de sus plásmidos, disponibles en las bases de datos (números de acceso: NC_007274 y NC_007275; NC_004633 y NC_004632; NC_005918, NC_005919, NC_005920, NC_005921 y NC_005922, respectivamente).

^cTamaño de los plásmidos: A, > 90 kb; B, 80-89 kb; C, 70-79 kb; D, 60-69 kb; E, 50-59 kb; F, 40-49 kb; G, 30-39 kb; H, (< 30 kb). *Plásmidos *nPPF*.

^d Secuencias codificadoras de proteínas hipotéticas no incluidas en las anotaciones de los plásmidos p1448A-B, pDC3000A y pDC3000B.

tipo de genes. Estos resultados coinciden con lo observado previamente para plásmidos de *P. syringae*, que sugieren que la variabilidad de genes tipo IV existente en estos plásmidos se debe probablemente a la transferencia horizontal de los mismos desde otros organismos a cepas de *P. syringae* (Zhao *et al.*, 2005).

Por otro lado, hemos identificado en los plásmidos de Psv una gran variedad de genes homólogos a genes relacionados con la virulencia y adaptación ecológica de *P. syringae* y bacterias patógenas relacionadas. Así, hemos confirmado en Psv la localización en plásmidos de genes codificadores de efectores TTSS, como *avrB2* y

hopAB1, al igual que secuencias homólogas a otros efectores, *hopQ1*, *hopAU1* y *hopAV1*, también presentes en los plásmidos de una *Pseudomonas* fitopatógena relacionada filogenéticamente con Psv, *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 1448A. Igualmente, estos plásmidos contienen secuencias homólogas a genes importantes para la adaptación ecológica de *P. syringae* a su entorno, como el gen *ruIA*, implicado en protección a luz UV junto con el gen *ruIB* y relevante para la supervivencia epifítica (Sundin y Murillo, 1999).

Al cuarto grupo de genes pertenecen diversos elementos transponibles (secuencias de inserción) como *IS801* e *ISPy21*, entre otros. La

presencia de estas secuencias en plásmidos de *Psv* podría explicar la existencia de duplicaciones de ciertos genes presentes en varios plásmidos de una misma cepa (Tabla 1). Se ha descrito que las secuencias de inserción conducen la evolución propiciando recombinaciones e intercambio de ADN entre plásmidos e incluso entre plásmidos y cromosoma (Sundin, 2007). Mediante estos mecanismos, se producen duplicaciones, se activan y desactivan genes y se producen fijaciones de ciertos genes en el cromosoma para su estabilización e incluso se baraja la hipótesis de que los elementos móviles pueden ser responsables del origen de nuevas islas de patogenicidad (PAI) (Sundin, 2007). Más aún, se ha observado la presencia de este tipo de secuencias flanqueando una gran variedad de factores de virulencia en cepas de *P. syringae* y *P. savastanoi* (Kim *et al.*, 1998).

Sin duda, de entre los resultados más novedosos derivados de este estudio se encuentra el análisis genético de plásmidos *nPFPs*, prácticamente desconocidos en la mayoría de las bacterias fitopatógenas pertenecientes al género *Pseudomonas*. Nuestros resultados indican que este tipo de plásmidos también podrían contribuir a la virulencia y supervivencia de *Psv* en los tejidos vegetales. Hemos observado que, en la mayoría de los casos analizados, los plásmidos *nPFP* no difieren de los *PFPs* en cuanto a su contenido genético básico ya que en ellos se ha detectado la existencia de genes representativos de todos los grupos descritos anteriormente. Aunque este tipo de plásmidos se había descrito anteriormente tanto en *Psv* (Giraldo y Fernández-Tresguerres, 2004) como en *P. syringae* pv. *maculicola* (Stravinides y

Guttman, 2004), nuestros datos suponen la primera identificación de secuencias relacionadas con patogénesis en plásmidos no pertenecientes a la familia *PFP*.

Hasta la fecha, se han secuenciado 9 plásmidos *PFP* y 2 *nPFPs* pertenecientes a 4 patovares diferentes de *P. syringae* (pvs. *syringae*, *maculicola* y *tomato*) y al patovar *phaseolicola* de *P. savastanoi*. Con la excepción del plásmido pPSR1, perteneciente a la cepa A2 de *P. syringae* pv. *syringae* (Sundin *et al.*, 2004), aislada de *Pyrus calleryana*, el resto de los plásmidos secuenciados proceden de cepas bacterianas aisladas de plantas herbáceas. Recientemente, se ha llevado a cabo un análisis genómico de plásmidos aislados de varios patovares de *P. syringae* y *P. savastanoi*. Con la excepción de 4 plásmidos pertenecientes a 2 cepas diferentes de *P. savastanoi* aisladas de adelfa (*Nerium oleander*), el resto de los plásmidos analizados también se extrajeron de cepas aisladas de huéspedes herbáceos (Zhao *et al.*, 2005). En este trabajo se resumen los resultados obtenidos del primer análisis llevado a cabo del contenido genético de los plásmidos de una bacteria fitopatógena de un huésped leñoso. En el futuro, llevaremos a cabo diversos experimentos funcionales con objeto de analizar el papel de algunos de los plásmidos aquí descritos en la virulencia de este patógeno.

Bibliografía

- Cascales, E. & Christie, P. J. (2003). The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nat Rev Microbiol.* 1(2), 137-149.
- Giraldo, R. & Fernández-Tresguerres, M. E. (2004). Twenty years of the pPS10 replicon: insights on the molecular mechanism for the activation of DNA replication in iteron-containing bacterial plasmids. *Plasmid.* 52, 69-83.
- Jackson, R. W., Mansfield, J. W., Ammouneh, H., Dutton, L. C., Wharton, B., Ortiz-Barredo, A., Arnold, D. L., Tsiamis, G., Sesma, A., Butcher, D., Boch, J., Kim, Y. J., Martin, G. B., Tegli, S., Murillo, J. & Vivian, A. (2002). Location and activity of members of a family of virPphA homologues in pathovars of *Pseudomonas syringae* and *P. savastanoi*. *Mol Plant Pathol.* 3, 205-216.
- Kim, J. F., Charkowski, A. O., Alfano, J. R., Collmer, A. & Beer, S. V. (1996). Sequences related to transposable elements and bacteriophages flank avirulence genes of *Pseudomonas syringae*. *Mol Plant Microbe In.* 11(12), 1247-1252.
- MacDonald, E. M. S., Powell, G. K., Regier, D. A., Glass, N. L., Roberto, F., Kosuge, T. & Morris, R. O. (1986). Secretion of zeatin, ribosylzeatin, and ribosyl-1"-methylzeatin by *Pseudomonas savastanoi*. *Plant Physiol.* 82, 742-747.
- Muñoz Fuenzadila, M. (2005). Informativo fitosanitario del Gobierno de Chile, N° 2, Servicio Agrícola y Ganadero.

- Murillo, J. & Keen, N. T. (1994). Two native plasmids of *Pseudomonas syringae* pathovar *tomato* strain PT23 share a large amount of repeated DNA, including replication sequences. *Mol Microbiol.* 12, 941-950.
- Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., Quesada, J. M., Salcedo, C. I., Piquer, J., Pérez-Panadés, J., Carbonell, E. A., del Río, C., Caballero, J. M., & López, M. M. (2006). Factors affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. *Phytopathology.* 96:313-319.
- Pérez-Martínez, I., Rodríguez-Moreno, L., Matas, I. M. & Ramos, C. (2007). Strain selection and improvement of gene transfer for genetic manipulation of *Pseudomonas savastanoi* isolated from olive knots. *Res Microbiol.* 158, 60-69.
- Quesada, J. M. (2007). Epidemiología y control químico de *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causante de la tuberculosis del olivo. *Tesis doctoral.* Universidad Politécnica de Valencia. 198 páginas.
- Sisto, A., Cipriani, M. G. & Morea, M. (2004). Knot formation caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* on olive plants is hrp-dependent. *Phytopathology.* 94, 484-489.
- Smith, I. M., Dunez, J., Lelliott, R. A., Phillips, D. H. & Archer, S. A. (1992). *Manual de enfermedades de las plantas.* Madrid: Mundi-Prensa.
- Stravínides D. & Guttman, D. S. (2004). Nucleotide sequence and evolution of the five-plasmid complement of the phytopathogen *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* ES4386. *J Bacteriol* 186, 5101–5115.
- Sundin, G. W & Murillo, J. (1999). Functional analysis of the *Pseudomonas syringae* *rulAB* determinant in tolerance to ultraviolet B (290-320 nm) radiation and distribution of *rulAB* among *P. syringae* pathovars. *Environ Microbiol.* 1(1), 75-87.
- Sundin G. W., Mayfield, C. T., Zhao, Y., Gunasekera, T. S., Foster, G. L. & Ulrich, M. S. (2004). Complete nucleotide sequence and analysis of pPSR1 (72,601 bp), a pPT23A-family plasmid from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* A2. *Mol Gen Genomics.* 270, 462-475.
- Sundin G. W. (2007). Genomic insights into the contribution of phytopathogenic bacterial plasmids to the evolutionary history of their hosts. *Annu Rev Phytopathol.* [En prensa].
- Surico, G., Iacobellis, N. S. & Sisto, S. (1985). Studies on the role of indole-3-acetic acid and cytokinins in the formation of knots on olive and oleander plants by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. *Physiol Plant Pathol.* 26, 309-320.
- Vivian, A., Murillo, J. & Jackson, R. W. (2001). The role of plasmids in phytopathogenic bacteria: mobile arsenals? *Microbiology.* 147, 763-780.
- Zhao, Y., Ma, Z. & Sundin, G. W. Comparative analysis of the pPT23A plasmid family of *Pseudomonas syringae*. *J Bacteriol.* 187(6), 2113-2116.

BOLETÍN DE LA SEF

Publicación trimestral

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