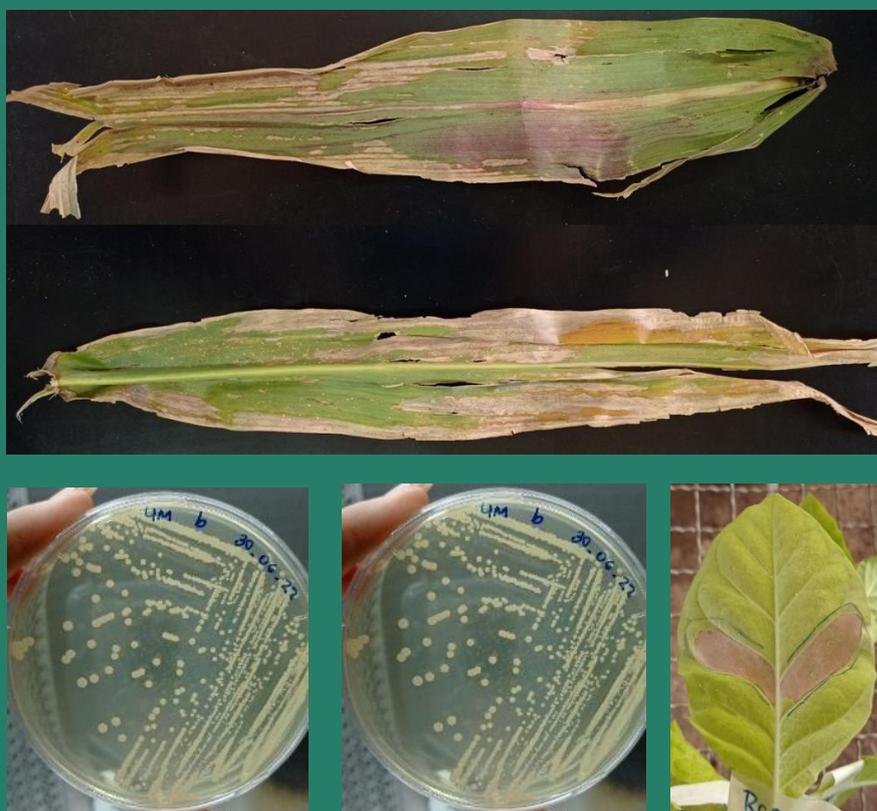


Bacteriosis en maíz y malezas en diferentes ambientes del departamento Río Cuarto, Córdoba

Martino, J.; Ruiz, M.; Alemandri V.; Rodriguez S.; Rossi E.; Balzarini M.; Bonamico N.



Mayo 2024

INTA | Ediciones

Series
Breves



Bacteriosis en maíz y malezas en diferentes ambientes del departamento Río Cuarto, Córdoba.

Martino Julia ¹, Ruiz Marcos ², Alemandri Vanina^{1,3}, Rodriguez Sandra Monica ¹, Rossi Ezequiel ², Balzarini Mónica ³, Bonamico Natalia ²

Mail: martino.julia@inta.gob.ar

- 1- Instituto de Patología Vegetal, Centro de Investigaciones Agropecuarias (IPAVE-CIAP)
- 2- Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (FAV- UNRC)
- 3- UNIDAD DE FITOPATOLOGIA Y MODELIZACION AGRICOLA- CONICET (UFYMA- CONICET)

Mayo 2024



RESUMEN

En este trabajo se investigaron las bacteriosis en el cultivo de maíz y en malezas presentes en diferentes ambientes del departamento Río Cuarto, Córdoba. Se recolectaron muestras de hojas con síntomas de bacteriosis y se realizaron análisis mediante PCR para identificar presencia de bacterias fitopatógenas. Se encontró la presencia de *Pantoea ananatis*, *Xanthomonas* spp. y *Pseudomonas* spp. en muestras analizadas. Además, se llevaron a cabo pruebas de hipersensibilidad para determinar la fitopatogenicidad de las bacterias detectadas. Los resultados mostraron que algunas colonias eran patogénicas, causando necrosis en las hojas inoculadas. No siempre hubo concordancia entre los síntomas visibles y los resultados moleculares obtenidos. En conclusión, esta metodología permitió identificar géneros bacterianos fitopatógenos en muestras de maíz y malezas demostrando la importancia del monitoreo molecular para obtener resultados precisos y brindar asesoramiento adecuado.

Palabras claves: Patógeno vegetal, bacteriosis, patología vegetal, bacterias fitopatógenas, *Zea mays*, maíz, cultivo bacteriano, monitoreo de síntomas, PCR, prueba de hipersensibilidad, muestras sospechosas, departamento Río Cuarto, Córdoba, Argentina,



INTRODUCCIÓN

El maíz es un importante cultivo a nivel mundial con una producción aproximada de 1.148 millones de toneladas. Argentina es el cuarto productor, con un total de 53,8 millones de toneladas cosechadas en el ciclo agrícola 2020/2021 (FAOSTAT, 2022). Entre otros factores, su producción es afectada por la presencia de enfermedades, que pueden amenazar el cultivo y consecuentemente la seguridad alimentaria y la sustentabilidad agrícola (Nelson et al., 2018). Las enfermedades más comunes en maíz son causadas por virus y hongos (Agrios, 2005) aunque entre las patologías emergentes, se encuentran las producidas por bacterias. La literatura ha descrito algunas bacteriosis como Holcus leaf spot (Robertson, 2004), Goss's bacterial wilt (Jackson et al., 2007), Stewart's bacterial wilt (Pataky, 2004), Maize white spot (Alippi y López, 2010), Bacterial leaf streak (Karamura et al., 2015), entre otras. Estas enfermedades han incrementado su prevalencia en Argentina (Plazas et al., 2018), debido posiblemente a la masiva adopción de la siembra directa. La base genética de la respuesta a la infección por bacterias o bacteriosis (BD) ha sido significativamente menos investigada que aquella relacionada con enfermedades fúngicas y virales en maíz (Rossi et al., 2019) y es notable la ausencia de genotipos resistentes a este tipo de enfermedades (Gurr y Rushton, 2005).

El objetivo del presente estudio fue identificar bacterias fitopatógenas causantes de sintomatologías en maíz en distintos ambientes, así como también en malezas presentes en las borduras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y ensayo de campo

Hojas con síntomas de bacteriosis se recolectaron en los ambientes Suco (SU), Río cuarto sur (RC1), Río Cuarto norte (RC2) y Sampacho (SA) durante el ciclo agrícola 2021/2022, y se enviaron al Instituto de patología vegetal (IPAVE-INTA) para su posterior evaluación.

El 21 de febrero de 2022 ingresaron al IPAVE-INTA 13 muestras con hojas de maíz con sintomatología y sospechas de *Xanthomonas* spp. y *Pantoea* spp., rotuladas SU-1 A 4, RC1-1 A RC1-3, RC2-1 a RC2-3, SA-1 a SA-3, de diferentes ambientes.

El 4 de abril de 2022 ingresaron nueve muestras con hojas de maíz con sintomatología rotuladas: SA-4 al SA-12.

El 28 de junio de 2022 ingresaron cuatro muestras con hojas de malezas: M1 *Lamium amplexicale*; M2 *Cynodon dactylon* (cebollín); M3 *Triticale*; M4 *Sisymbrium irio* (mostacilla).

Aislamiento de plantas seleccionadas

El aislamiento y purificación de bacterias se realizó siguiendo la metodología de Duveiller (1997) modificada. El material vegetal infectado (Figura 1) y porciones de maleza de la bordura (Figura 2) se cortaron con tijera estéril y se desinfectaron superficialmente con alcohol al 70% durante 1 minuto, luego con hipoclorito de sodio (NaOCl) diluido (0,5% v/v de producto comercial) durante 1 minuto y finalmente se enjuagaron con agua destilada estéril tres veces durante 1 minuto. Luego los trozos desinfectados se maceraron en morteros estériles con 2 ml de agua destilada estéril en cámara de flujo laminar. Se realizaron diluciones seriadas del macerado y luego se colocó 50 µl en medio de cultivo LB en placas de Petri. Se incubaron a 28°C por 48 h hasta el crecimiento de colonias. Se repicaron colonias individuales en medio de cultivo fresco para obtener los aislamientos de bacterias para posteriores pruebas y se hizo una suspensión bacteriana con las colonias crecidas en 500 µl de agua estéril para realizar las posteriores pruebas.

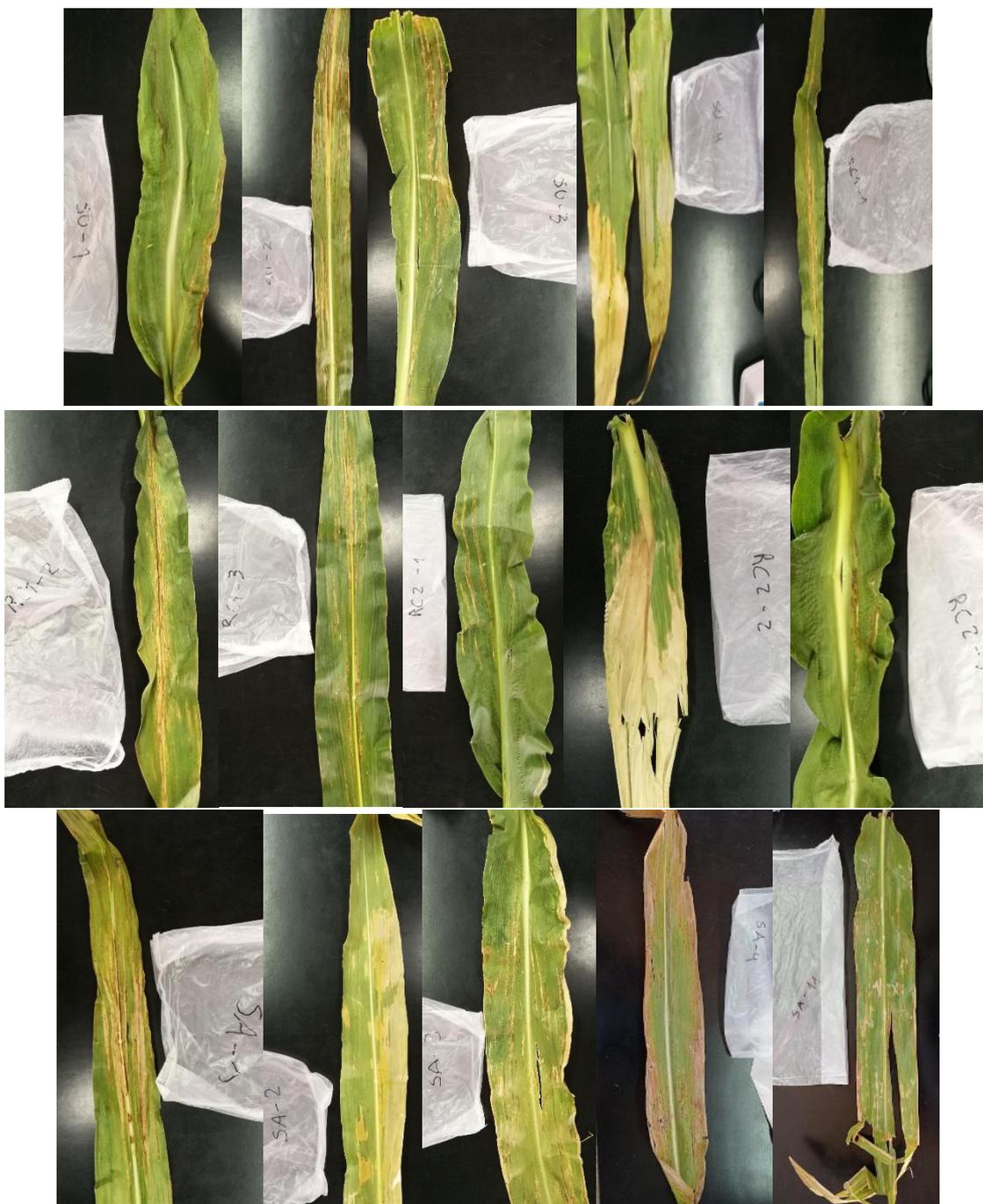


Figura 1: Material vegetal sintomático extraído de cuatro ambientes del sur de la provincia de Córdoba durante el ciclo agrícola 2021-2022.



Figura 2: Material vegetal de la bordura con sospecha de presencia de bacteriosis extraído de cuatro ambientes del sur de la provincia de Córdoba durante el ciclo agrícola 2021-2022.

Identificación de bacterias fitopatógenas a partir de PCR con iniciadores generales para diversas especies de los géneros *Xanthomonas* y específico para *Pantoea ananatis*

PCR con iniciadores generales para *Xanthomonas* spp.

Para la detección de *Xanthomonas* se siguió el protocolo de Maes 1993, el cual permite la amplificación de un fragmento de 480 pb. Condiciones de las PCR: mix conteniendo agua, buffer 1X, Mg2Cl 2mM, dNTPs 0,2 mM, primer 0,5 μ M cada uno, 1 unidad Taq Polimerasa, 1 μ l de suspensión bacteriana. Se utilizó el siguiente ciclado: 95°C 2 min, 30 ciclos de 95°C 40 seg, 40°C 1 min, 72°C 1 min y etapa final de 72°C por 3 min. Luego de una electroforesis en gel de agarosa 1,5%, se consideraron positivas las muestras que amplificaron una única banda definida y del tamaño esperado.



PCR con iniciadores específicos para *Pantoea ananatis*

Para la detección específica de *Pantoea ananatis* se realizó PCR siguiendo las condiciones de Asselin et al. 2016 (amplificación de un fragmento de 949 pb). Condiciones de PCR: se preparó una mix conteniendo agua, buffer 1X, Mg₂Cl 2mM, dNTPs 0,2 mM, primer 0,5 μM cada uno, 1 unidad Taq Polimerasa, 1 μl de suspensión bacteriana. Se utilizó el siguiente ciclado: 95°C 5 min, 37 ciclos de 94°C 30 seg, 55°C 30 seg, 72°C 45 seg, y etapa final de 72°C por 2 min. Luego de una electroforesis en gel de agarosa 1,5%, se consideraron positivas las muestras que amplificaron una única banda definida y del tamaño esperado.

PCR con iniciadores específicos para *Xanthomonas vasicola pv. vasculorum* (Xvv).

Para las muestras que resultaron positivas para *Xanthomonas* spp. se continuaron los estudios con PCR utilizando iniciadores específicos para *Xanthomonas vasicola pv. vasculorum* (Xvv). Las condiciones usadas fueron las propuestas por Lang et al. 2017, amplificando un fragmento de 207 pb. Mix: agua, buffer 1X, Mg₂Cl 2mM, dNTPs 0,2 mM, primer 0,5 uM cada uno, 1 unidad Taq Polimerasa, 1 ul de DNA. Ciclado: 94°C 3 min, 30 ciclos de 94°C 30 seg, 55°C 30 seg, 72°C 1 min y etapa final de 72°C por 10 min. Luego de una electroforesis en gel de agarosa 1,5%, se consideraron positivas las muestras que amplificaron una única banda definida y del tamaño esperado.

PCR con iniciadores específicos para *Pseudomonas syringae pv. syringae* (Pss).

Para las muestras que resultaron positivas para *Pseudomonas spp.* se continuaron los estudios con PCR utilizando iniciadores específicos para *Pseudomonas syringae pv. syringae* (Pss) siguiendo el protocolo de Kazempour et. al. 2010, el cual permite la amplificación de un fragmento de 752 pb. Condiciones de las PCR: mix conteniendo agua, buffer 1X, Mg₂Cl 2mM, dNTPs 0,2 mM, primer 0,5 μM cada uno, 1 unidad Taq Polimerasa, 1 μl de suspensión bacteriana. Ciclado: 93°C 1 min, 37 ciclos de 93°C 1 min, 60°C 1 min, 72°C 1 min y etapa final de 72°C por 5 min. Luego de una electroforesis en gel de agarosa 1,5%, se consideraron positivas las muestras que amplificaron una única banda definida y del tamaño esperado.

A partir de los primeros resultados, se seleccionaron algunas plantas para hacer estudios más exhaustivos. Las candidatas fueron: SU-2, SU-4, RC1-1, RC2-1, RC2-2, SA-4, SA-11, M1, M2, M3 y M4.



Pruebas de hipersensibilidad.

Para determinar la fitopatogenicidad de una bacteria se utiliza la reacción de hipersensibilidad, en la cual una expresión de necrosis indica que la bacteria es fitopatógena, a diferencia de las bacterias saprofitas, las cuales son incapaces de inducir esta reacción. Las inoculaciones se realizaron con una jeringa sin aguja conteniendo la solución de bacterias de 24 h de crecimiento en LB a 28°C ($\sim 1 \times 10^8$ ufc/ml), metodología propuesta en Duveiller (1997) y Lang et al. (2017). Se llevaron a cabo en plantas de *Nicotiana tabacum* de 20-25 cm y con 4-6 hojas, inoculando cultivos bacterianos de 24 h. de crecimiento en medio LB a 28°C ($\sim 1 \times 10^8$ ufc/ml). Como controles negativos se utilizó agua. Las reacciones de hipersensibilidad se observaron 24 y 48 h después de la inoculación.

RESULTADOS

Luego de la desinfección superficial e incubación de las hojas durante 48hs, se pudo observar el crecimiento de una gran variedad de colonias de diferentes colores y formas en cada placa. Todas las placas evidenciaron crecimiento de bacterias endófitas a partir de los trozos de hojas colocadas (Figura 3).

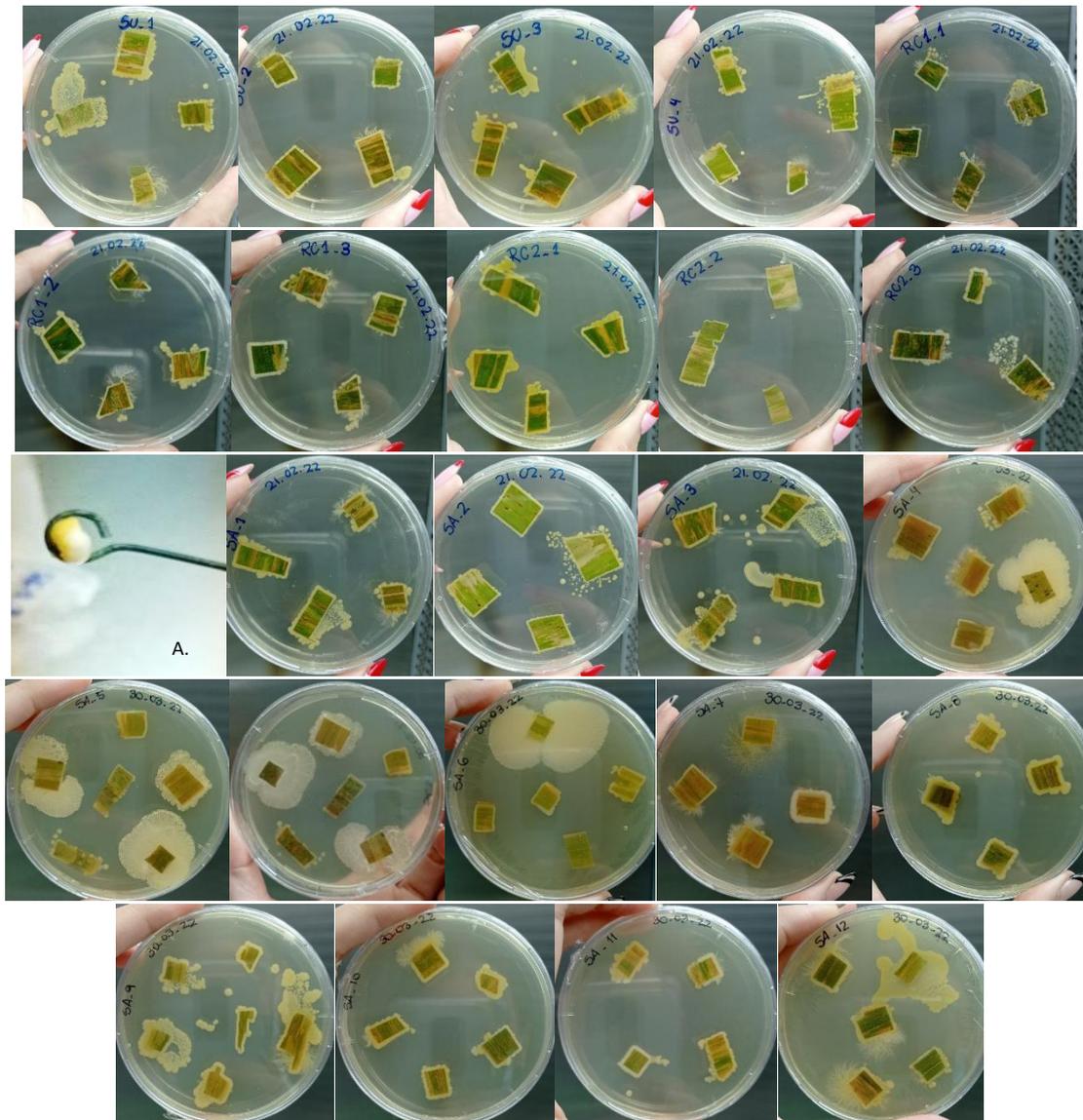


Figura 3: Placas de Petri con trozos de hojas de maíz con síntomas extraídos de cuatro ambientes del sur de la provincia de Córdoba durante el ciclo agrícola 2021-2022, incubadas 28°C por 48 h. Se puede observar el crecimiento bacteriano. A: muestra RC1-1, se puede observar la presencia de colonias bacterianas blancas y amarillas.

Identificación de bacterias fitopatógenas a partir de PCR con iniciadores generales para diversas especies de los géneros *Xanthomonas* y específico para *Pantoea ananatis*

A partir de los aislamientos obtenidos en las placas de Petri, se identificaron mediante PCR la presencia de *Pantoea ananatis*, *Xanthomonas spp.* y *Pseudomonas spp.* (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados obtenidos a partir de PCR para identificación de *Pantoea ananatis* y varios géneros de *Xanthomonas* y *Pseudomonas*. Filas resaltadas con amarillo señalan colonias seleccionadas para continuar los estudios.

ID	SINTOMATOLOGÍA/ SOSPECHA	PCR <i>Pantoea</i> <i>ananatis</i>	PCR general para <i>Xanthomonas</i>	PCR general para <i>Pseudomonas</i>
SU-1	<i>Xanthomonas</i>	Positivo	Negativo	Positivo
SU-2	<i>Xanthomonas</i>	Positivo	Positivo	Positivo
SU-3	<i>Xanthomonas</i>	Positivo	Negativo	Positivo
SU-4	<i>Pantoea</i>	Negativo	Negativo	Positivo
RC1-1	<i>Xanthomonas</i>	Positivo	Positivo	Negativo
RC1-2	<i>Xanthomonas</i>	Negativo	Negativo	Positivo
RC1-3	<i>Xanthomonas</i>	Negativo	Negativo	Negativo
RC2-1	<i>Xanthomonas</i>	Negativo	Positivo	Negativo
RC2-2	<i>Pantoea</i>	Positivo	Negativo	Negativo
RC2-3	<i>Xanthomonas</i>	Positivo	Negativo	Negativo
SA-1	<i>Xanthomonas</i>	Positivo	Negativo	Negativo
SA-2	<i>Pantoea</i>	Positivo	Negativo	Negativo
SA-3	<i>Xanthomonas</i>	Negativo	Negativo	Negativo
SA-4	Sana	Positivo	Positivo	Negativo
SA-5	Sana	Positivo	Positivo	Negativo
SA-6	Sana	Positivo	Positivo	Negativo
SA-7	Síntomas	Negativo	Negativo	Negativo
SA-8	Síntomas	Positivo	Negativo	Negativo
SA-9	Síntomas	Negativo	Negativo	Negativo
SA-10	Síntomas	Positivo	Negativo	Negativo
SA-11	Síntomas	Negativo	Negativo	Negativo
SA-12	Síntomas	Positivo	Negativo	Negativo

A partir de los primeros resultados, se seleccionaron algunas plantas para hacer estudios más exhaustivos. Las candidatas fueron: SU-2, SU-4, RC1-1, RC2-1, RC2-2, SA-4, SA-11, M1, M2, M3 y M4 (Figura 4).

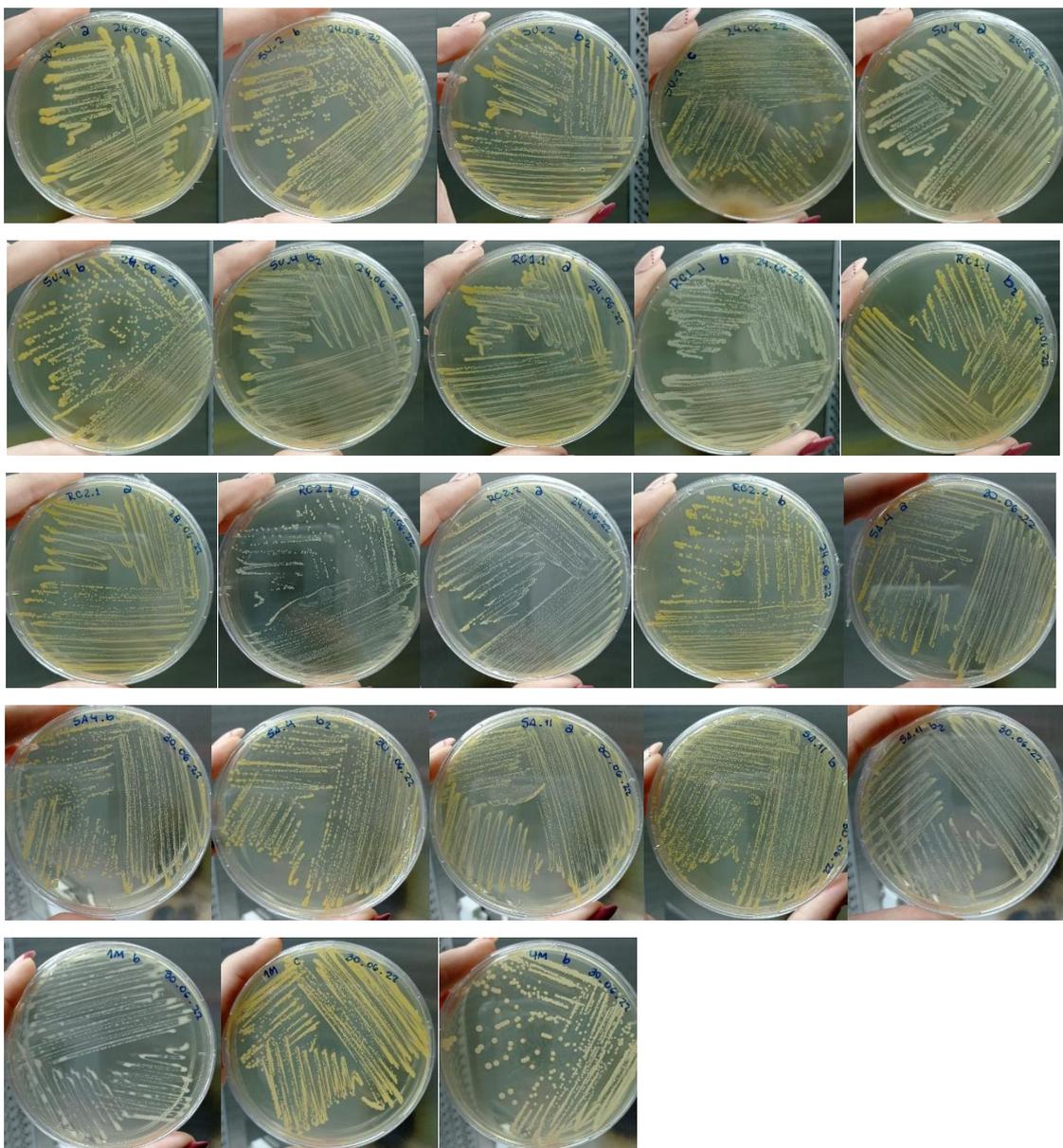


Figura 4: Placas de Petri con cultivos bacterianos puros a partir de una única colonia aislada con 24hs de crecimiento a 28°C.

Pruebas de hipersensibilidad

La prueba de hipersensibilidad detectó 15 aislamientos como fitopatógenos (Figura 5 y Tabla 2). Considerándose como tal aquellos en los cuales las hojas presentaron necrosis en la zona inoculada e incluso, en algunos casos se extendió fuera de esta.





Figura 5: Hojas de *Nicotiana tabacum* inoculadas con suspensión bacteriana pura, 48 horas post inoculación. Las hojas con necrosis muestran hipersensibilidad, por lo tanto, serían bacterias con capacidad patogénica. Se uso como control negativo H₂O estéril.

En la Tabla 2 se resumen los resultados obtenidos a partir de inoculación sobre *N. tabacum*, PCR para identificación de *Pantoea ananatis*, varios géneros de *Xanthomonas* y *Pseudomonas*; *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) y *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Xvv), tanto en suspensión bacteriana como en cultivo puro de los aislamientos prometedores.



Tabla 2: Resumen de resultados obtenidos a partir de inoculación sobre *N. tabacum*, PCR para identificación de *Pantoea ananatis* y varios géneros de *Xanthomonas* y *Pseudomonas* tanto en suspensión como en cultivo puro. Pss: *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*; Xvv: *Xanthomonas vasicola* pv. *Vasculorum*

ID		Hipersensibilidad en <i>N. tabacum</i>	PCR <i>P. ananatis</i>	PCR Xan gral.	PCR Pseudo gral.	PCR PSS	PCR Xvv
	Solución						
SU-2	bacteriana		Positivo	Positivo	Positivo		
SU-2a	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Negativo
SU-2b	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Positivo
SU-2b2	Aislamiento	Negativo					
SU-2c	Aislamiento	Negativo					
	Solución						
SU-4	bacteriana		Negativo	Negativo	Positivo		
SU-4a	Aislamiento	Negativo					
SU-4b	Aislamiento	Negativo					
SU-4b2	Aislamiento	Negativo					
	Solución						
RC1-1	bacteriana		Positivo	Positivo	Negativo		
RC1-1a	Aislamiento	Positivo	no creció				
RC1-1b	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Positivo
RC1-1b2	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Negativo
	Solución						
RC2-1	bacteriana		Negativo	Positivo	Negativo		
RC2-1a	Aislamiento	Positivo					
RC2-1b	Aislamiento	Negativo					
	Solución						
RC2-2	bacteriana		Positivo	Negativo	Negativo		
RC2-2a	Aislamiento	Negativo					
RC2-2b	Aislamiento	Positivo					
	Solución						
SA-4	bacteriana		Positivo	Positivo		Negativo	
SA-4a	Aislamiento	Positivo	Positivo			Negativo	Negativo
SA-4b	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Negativo
SA-4b2	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Negativo
	Solución						
SA-11	bacteriana		Negativo	Negativo		Negativo	
SA-11a	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Negativo
SA-11b	Aislamiento	Positivo	Negativo			Negativo	Negativo
SA-11b2	Aislamiento	Positivo	Positivo			Negativo	Negativo
1Mb	Aislamiento	Negativo					
1Mc	Aislamiento	Positivo	Positivo			Negativo	Negativo
4Mb	Aislamiento	Positivo	Positivo			Negativo	Negativo



A modo general, en la localidad de Suco (SU) se identificaron *P. ananatis*, *Pseudomonas spp* y *Xanthomonas vasicola pv. vasculorum*. No fue concordante la sintomatología visible con los resultados moleculares obtenidos ya que, se sospechaba de *P. ananatis* y no se detectó. En otra de las muestras se sospechaba la presencia de *Xanthomonas* y se detectó además *P. ananatis* y *Pseudomonas spp*. En Sampacho (SA), las cuales no mostraban sintomatología visible (aparentemente sanas), se encontraron *P. ananatis* y *Xanthomonas spp*. En Río Cuarto (RC), las plantas presentaban sintomatología visible de *Xanthomonas* y *Pantoea*, siendo concordante con lo analizado molecularmente. En algunos casos aún no se pudo dilucidar el patógeno presente.

De manera más específica, la muestra SU-2 en solución bacteriana resultó positiva para *P. ananatis*, *Pseudomonas spp*. y *Xanthomonas spp*. Al aislar y obtener cultivos puros, se encontraron cuatro colonias de forma y color diferente, de las cuales sólo dos mostraron ser patogénicas. Un aislamiento de colonias amarillas chiclosas (SU-2a) y un aislamiento de colonias amarillas (SU-2b) resultaron positivas para *Xanthomonas vasicola pv. vasculorum* (Xvv).

La muestra SU-4 en solución bacteriana resultó positiva para *Pseudomonas spp*. Se aislaron tres colonias de morfología y color diferente. Ninguna de ellas causó hipersensibilidad sobre *N. tabacum*, por lo que no se continuaron otros estudios sobre esta muestra.

RC1-1 en solución bacteriana resultó positiva para *P. ananatis* y para *Xanthomonas spp*. Al realizar aislamiento, tuvo crecimiento de tres colonias de morfología diferente, siendo todas patogénicas sobre *N. tabacum*. RC1-1a requiere de un nuevo repique y un nuevo crecimiento. RC1-1b resultó positiva para Xvv. RC1-1b2 resultó negativa para los PCR realizados hasta el momento.

RC2-1 en solución bacteriana resultó positiva para *Xanthomonas spp*. Se logró aislar posteriormente dos colonias de morfología diferente, siendo las colonias amarillas (RC2-1) las que mostraron ser patogénicas en *N. tabacum*. Resta realizar PCR pertinentes.

La muestra RC2-2 solución bacteriana resultó positiva para *P. ananatis*. Se logró aislar posteriormente dos colonias de morfología diferente, siendo las colonias amarillas cremosa (RC2-2b) las que mostraron ser patogénicas en *N. tabacum*. Resta realizar PCR pertinentes.

La muestra SA-4 en solución bacteriana resultó positiva para *P. ananatis* y para *Xanthomonas spp*. Al ser aislada, mostró crecimiento de tres colonias de forma y color diferente, siendo las tres patogénicas en *N. tabacum*. SA-4a positiva para *P. ananatis*, SA-4b y S-4b2 resultaron negativas para los PCR realizados hasta el momento.



SA-11 no arrojó PCR positivo en solución bacteriana. Al ser aislada se obtuvieron tres colonias de forma y color diferente, siendo las tres patogénicas. SA-11a y SA-11b resultaron negativas para los PCR realizados hasta el momento. SA-11b2 resultó positiva para *P. ananatis*.

De las cuatro malezas recogidas, hasta el momento se pudo comprobar la patogenicidad de dos colonias: 1Mc (colonia cremosa brillante y grande), aislada a partir de *Lamium amplexicaule*, y 4Mb (única colonia blanca que creció) aislada a partir de *Sisymbrium irio*, ambas resultaron positivas para *P. ananatis*.

Para las muestras: SU-2a, RC1-1b2, SA-4b, SA-4b2; las cuales mostraron hipersensibilidad en *N. tabacum*, pero no arrojaron resultados positivos para las PCR específicas realizadas hasta el momento, se aconseja continuar con los estudios para la identificación de los patógenos presentes.



CONCLUSIONES

La metodología utilizada permite identificar géneros bacterianos descritos en la bibliografía como fitopatógenos en muestras de maíz extraídas de distintos ambientes, así como también en malezas presentes en las borduras.

La sintomatología visible no siempre es concordante con la presencia de patógenos, es por eso que se necesita una identificación molecular para obtener resultados claros y precisos, de ese modo dar respuestas y asesoramientos acertados.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Patología Vegetal perteneciente al centro de Investigaciones Agropecuarias (IPAVE-CIAP).

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto (FAV-UNRC).

Al proyecto INTA: 2023-PD-L03-I084. Estreses bióticos y abióticos en plantas. Identificación y caracterización de patógenos bacterianos en el cultivo de maíz.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios G. (2005). Plant pathology. Academic Press. 920 pp.
- Alippi, A.M., López A.C. (2010). First report of leaf spot disease of maize caused by *Pantoea ananatis* in Argentina. *Plant disease*, 94, 487.
- Asselin, J. A. E., Bonasera, J. M., & Beer, S. V. (2016). PCR primers for detection of *Pantoea ananatis*, *Burkholderia* spp., and *Enterobacter* sp. from onion. *Plant disease*, 100(4), 836-846.
- Duveiller, E. (1997). "The bacterial diseases of wheat: concepts and methods of disease management," CIMMYT
- FAOSTAT. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Maize (2022) Disponible en <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (consultado el 23 de junio de 2022).
- Jackson, T.A., Harveson R.M., Vidaver A.K. (2007). Goss's bacterial wilt and leaf blight of corn. NebGuide. Coop. Ext. Serv. IANR University of Nebraska Lincoln. G1675.
- Karamura, G., Smith J., Studholme D., Kubiriba J., Karamura E. (2015). Comparative pathogenicity studies of the *Xanthomonas vasicola* species on maize, sugarcane and banana. *African Journal of Plant Science*, 9, 385-400.
- Kazempour, M. N., Kheyrgoo, M., Pedramfar, H., & Rahimian, H. (2010). Isolation and identification of bacterial glum blotch and leaf blight on wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. *African Journal of Biotechnology*, 9(20).
- Gurr, S.J., Rushton P.J. (2005). Engineering plants with increased disease resistance: what are we going to express *Trends Biotechnol.* 23:275-282
- Lang, J., DuCharme, E., Ibarra Caballero, J., Luna, E., Hartman, T., Ortiz-Castro, M., Korus, K., Rascoe, J., Jackson-Ziems, T., and Broders, K. (2017). Detection and characterization of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Cobb 1894) comb. nov. causing bacterial leaf streak of corn in the United States. *Phytopathology* 107, 1312-1321.
- Maes, M. (1993). Fast classification of plant-associated bacteria in the *Xanthomonas* genus. *FEMS Microbiology Letters*, 113(2), 161-165.



Nelson, R., Wiesner-Hanks T., Wisser R., Balint-Kurti P. (2018). Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nat. Rev. Genet.* 19:21–33. doi:10.1038/nrg.2017.82

Pataky, J.K. (2004). Stewart's wilt of corn. *The Plant Health Instructor*.

Plazas M.C., De Rossi R.L., Brücher E., Guerra F.A., Vilaró M., Guerra G.D., Wu G., Ortiz-Castro M.C., Broders K. (2018). First report of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* causing bacteria leaf streak of maize (*Zea Mays*) in Argentina. *Plant Dis.* 102 (5): 1026. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1578-PDN>.

Robertson, A.E. (2004). Holcus leaf spot being found on corn. *Integrated Crop Management News.* 1529.

Rossi E.A., Ruiz M., Rueda Calderón M.A., Bruno C.I., Bonamico N.C., Balzarini M.G. (2019). Meta-analysis of loci for resistance to maize diseases. *Crop Sci.* 59: 1–15.