

Avances en la detección de bacterias fitopatógenas en el cultivo de trigo.

Pozzi, Elizabeth³; Martino, Julia²; Alustiza, Fabrisio¹; Donaire, Guillermo¹; Bainotti, Carlos¹; Salines, Nicolás¹; Gómez, Dionisio¹; Conci, Luis²; Alberione, Enrique¹; Alemandri, Vanina².
¹INTA Marcos Juárez – ²CIAP Córdoba – ³CONICET-INTA.

E-mail: pozzi.elizabeth@inta.gob.ar

Palabras claves: cereal, enfermedades, infección, rendimiento

Introducción

La producción mundial de cereales en 2022 se situó en 2.774 millones de toneladas para la campaña comercial (FAO, 2023), un 2,4 por ciento más que el periodo anterior, impulsado en gran medida por la producción de trigo (*Triticum aestivum* L). En Argentina, la producción lograda en la campaña 2022/23 fue de 11,5 millones de toneladas. La sequía conjuntamente con episodios de heladas tardías en las zonas trigueras de nuestro país, resintieron las proyecciones productivas de forma severa (Bolsa de Comercio de Rosario, 2023). Las enfermedades son una importante causa de pérdidas de rendimiento y calidad en los cultivos de trigo en todo el mundo (Bregaglio et al., 2021). En Argentina, los patógenos de origen fúngico y viral fueron los más estudiados, donde se ha establecido su importancia, distribución, forma de transmisión y se han diseñado estrategias para su manejo (Truol 2009; Bockus, 2010; Alemandri et al., 2017; Alemandri et al., 2019). En tanto que, las enfermedades causadas por bacterias requieren aún de mayor cantidad de datos y estudios de su efecto sobre el cultivo. Especies bacterianas conocidas mundialmente como *Xanthomonas translucens* y *X. translucens* pv. *undulosa* pueden infectar cereales y forrajeras (Sapkota et al., 2020), llegando a reducir hasta un 40% el rendimiento en trigo (Kaur et al., 2020). Además, este cultivo es afectado por diferentes especies de *Pseudomonas* tales como: *P. syringae* pv. *syringae* y *P. syringae* pv. *atrofaciens* siendo responsables de las principales enfermedades bacterianas del trigo de difusión mundial (Kazempour et al., 2010). *P. syringae* pv. *syringae* es la principal responsable de la reducción del rendimiento (Valencia-Botín et al., 2012). Mientras que *P. syringae* pv. *atrofaciens* es polífago y capaz de infectar a una gran variedad de plantas, entre ellas malezas (Butsenko et al., 2021). Recientemente, en la zona triguera de nuestro país, se ha confirmado la presencia de bacterias del género *Xanthomonas* spp. (Pozzi et al., 2021a) comprobándose actualmente, que el agente causal de dicha infección en este cultivo fue *Xanthomonas prunicola* (Martino et al., 2022). Por otro lado, se reportó la presencia de *Pantoea ananatis* causando daños, en ensayos bajo condiciones controladas de infección (Pozzi et al., 2021b). Esta bacteria ya se ha mencionado como patogénica en este cereal en otras regiones productoras del mundo (Krawczyk et al., 2020).

Existe en nuestro país un resurgimiento de enfermedades atribuibles, por su sintomatología, a infecciones bacterianas tanto en el cultivo de trigo como en maíz (*Zea mays*)

(Romero, 2008) como así también sintomatologías desconocidas, lo que hace suponer la presencia de nuevos patógenos bacterianos.

Materiales y métodos

Desde 2017 se han observado y asignado síntomas de infecciones naturales de bacterias, tanto en el campo experimental de la EEA INTA Marcos Juárez, en ensayos que integran la Red Oficial de evaluación de cultivares de trigo pan, como en otras variedades que se encontraban en establecimientos del sureste cordobés, extrayéndose muestras de los mismos. Las sintomatologías observadas fueron: manchas acuosas, amarillamiento, punteado clorótico, necrosis en los bordes foliares, “pecas” (necrosis) marrones, entre otros.

Se seleccionaron un total de 146 plantas sintomáticas (hoja, gluma, tallo, semilla o planta entera), que se documentaron mediante fotos y se procedió a su evaluación en el laboratorio. Para ello se hizo una desinfección superficial siguiendo la metodología planteada por Duveiller et al. (1997) con algunas modificaciones. El material sintomático se cortó en trozos con tijera estéril y se desinfectó superficialmente con alcohol al 70% durante 1 minuto, luego con hipoclorito de sodio (NaOCl) diluido (0,5% v/v de producto comercial) por 1 minuto y finalmente se enjuagaron con agua destilada estéril tres veces durante 1 minuto. Finalmente los trozos desinfectados se secaron sobre papel estéril y se colocaron en placas de Petri con medio LB estéril e incubaron a 28°C por 48 hs. hasta el crecimiento de colonias. Fueron seleccionadas aquellas placas que presentaban exudado bacteriano.

En algunos casos se realizaron diluciones seriadas en medio de cultivo LB en placas de Petri. Se repicaron colonias individuales en medio de cultivo fresco para lograr obtener los aislamientos puros de bacterias y luego realizar extracción de ADN total y *Polymerase chain reaction* (PCR) con cebadores generales para distintas especies de *Xanthomonas* y específicos para detectar *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas syringae* pv *syringae*, y *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*.

Resultados y discusión

Como resultado se determinó que, del total de plantas sintomáticas estudiadas (n=146), el 33.5% (n= 49) resultaron positivas por PCR para al menos una bacteria.

Por otra parte, una de las muestras analizadas fue positiva a dos bacterias fitopatógenas, produciendo co-infección entre *Pseudomonas syringae* pv *syringae* y *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*. Este hallazgo resulta altamente relevante ya que *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* afecta principalmente al cultivo de maíz (Albarracin et al., 2012) siendo importante a considerar sabiendo del rol que cumple este cultivo en las estrategias de rotación y manejo.

Es necesario mencionar que hay cultivos o malezas que pueden actuar como “puentes verdes” que contribuyen no sólo a la diseminación de patógenos sino además a su preservación. En algunos casos, estos patógenos bacterianos pueden sobrevivir en los rastrojos, diseminarse por la lluvia, el riego por aspersion, por insectos o simplemente por contacto entre plantas (Duveiller et al., 2012). Además, pueden potencialmente ser transportadas y transmitidas por semillas, como en el caso de *Pseudomonas syringae* pv *syringae*, *Xanthomonas translucens* pv *undulosa*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *tessellarius*, *Erwinia rhapontici*, *Rathayibacter tritici* (Mezzalama, 2016, Schutt, 2019, Navarrete Maya et al., 2014)

En otros estudios del mismo grupo de trabajo se extrajeron muestras de hojas sintomáticas infectadas bajo condiciones naturales, de cebada y triticale pertenecientes al EEA INTA Marcos Juárez, donde se detectó la presencia de *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas* spp.

Durante la última campaña, en variedades de cebada y de trigo pan se observaron síntomas en hojas, tallos y espigas, los cuales eran característicos de infección bacteriana. Los mismos se visualizaron como “pecas” (necrosis de color marrón oscuro), y en algunos casos se presentaban con halo amarillento. Luego de estudios en el laboratorio y de observar exudado bacteriano a partir de esta sintomatología, estas muestras continúan en evaluación para determinar con precisión cuál fue el agente patógeno capaz de infectar, debido a que se percibieron estas manifestaciones a pesar de las condiciones ambientales reinantes durante el 2022, de extrema sequía y altas temperaturas, (Imagen 1).



Imagen 1. Espigas y hojas de plantas de trigo sintomáticas. Muestras provenientes del Campo Experimental de la EEA INTA Marcos Juárez.

Resulta oportuno mencionar que *Pantoea ananatis* es capaz de infectar al maíz (Alippi, A. M., & López, A. C., 2010). De un total de 17 muestras, que por su sintomatología a campo se sospechaba estaban infectadas con *Pseudomonas* spp., se determinó que 3 de ellas resultaron positivas para *Pantoea ananatis*. Es necesario continuar con la investigación para, inicialmente, poder diferenciar estas dos especies de bacterias presentes en los tejidos foliares responsables de causar similar sintomatología sobre el hospedante (Imagen 2).



Fig.2. Hojas de plantas de trigo infectadas de manera natural con patógenos bacterianos. Las mismas, presentan síntomas de necrosis con bordes irregulares, de color pardo en la lámina foliar, las cuales fueron positivas molecularmente a *Pseudomonas syringae* (A) y *Pantoea ananatis* (B). Muestras provenientes del Campo Experimental de la EEA INTA Marcos Juárez.

Conclusiones

Se destaca que no existen en el país estudios para establecer si los síntomas observados a campo en trigo son realmente provocados por una bacteria o un complejo y si existen otros agentes bacterianos diferentes a los reportados hasta la actualidad. Muchas veces la sintomatología manifestada en otras partes del mundo no coincide con las observadas a campo. Esto daría la pauta de estar frente a patógenos diferentes o que se manifiestan de manera distinta en función de los ambientes o de las variedades utilizadas.

Por lo expresado hasta el momento es que existe la necesidad de continuar con estudios de investigación para relacionar síntomas observados en el cultivo y la bacteria o complejo bacteriano que los causan. De esta manera se podría determinar incidencia y prevalencia de enfermedades para así poder evaluar las pérdidas reales sobre los rendimientos y establecer medidas de control y estrategias de manejo para disminuir su impacto.

Bibliografía

- Albarracin O.A., Brücher E., Plazas M., Sayago P., Guerra F., De Rossi R., Guerra G. 2012. First Report Of Stewart's Wilt Of Maize In Argentina Caused By *Pantoea stewartii*. *Plant Disease*, 96(12), 1819-1819.
- Alemndri V., Mattio M.F., Rodriguez S.M., Truol G. 2017. Geographical distribution and first molecular detection of an Emaravirus, High Plains wheat mosaic virus, in Argentina. *Eur J Plant Pathol.* 149(3): 743-753.
- Alemndri V., Bainotti C.T., Lau D., Navia D., Rodriguez S.M., Lopez Lambertini P., Truol G. 2019. Reaction of South American wheat genotypes to wheat streak mosaic virus. *Journal of Plant Pathology* 101(1): 107-113.
- Alippi, A. M., & López, A. C. 2010. First report of leaf spot disease of maize caused by *Pantoea ananatis* in Argentina. *Plant Disease*, 94(4), 487-487.
- Bockus W.W., 2010. *Compendium of Wheat Diseases and Pests*. 3rd Ed. APS Press. 165 pp.

- Bolsa de comercio de Rosario. 2023. Disponible en:
<https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal-64>. Verificado: 03/03/2023
- Bregaglio S., Willocquet L., Kersebaum K.C., Ferrise R., Stella T., Ferreira T.B., Pavan W., Asseng S., Savary S. 2021. Comparing process-based wheat growth models in their simulation of yield losses caused by plant diseases. *Field Crops Research*. ISSN 0378-4290.
- Butsenko L., Pasichnyk L., Kolomiets Y., Kalinichenko A., Suszanowicz D., Sporek M., Patyka V. 2021. Characteristic of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* Isolated from Weeds of Wheat Field. *Applied Sciences*, (11): 286.
- Duveiller, E., L. Fucikovsky and K. Rudolph, eds. 1997. *The Bacterial Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management*. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Duveiller E., Singh R.P., Singh P.K., Dababat A.A., Mezzalama M. 2012. *Wheat diseases and pests: a guide for field identification*.
- FAO. 2023. Las perspectivas sobre la oferta mundial de cereales mejoraron desde diciembre, pero sigue previéndose una contracción en 2022/23. Publicado en internet, disponible en: <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/>. Verificado: 01/03/2023.
- Kaur N., Ishimaru C., Vinatzer B., Mehl H. 2020. Bacterial Leaf Streak of Wheat. *The Plant Health Instructor*.
- 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* Vol. 9 (20), pp. 2860-2865.
- Krawczyk K., Wielkopolan B., Obrepalska-Stepłowska A. 2020. *Pantoea ananatis*, A New Bacterial Pathogen Affecting Wheat Plants (*Triticum* L.) in Poland. *Pathogens*. 9. 1079.
- Martino, J. A., Fernandez, F. D., Pozzi, E. A., Alberione, E. J., Bainotti, C. T., Marquez, N., Tolocka, P.A., Salines, N., Gomez, D.T., Donaire, G.M., Conci, L.R., Alemandri, V. M. 2023. First report of *Xanthomonas prunicola* causing bacterial leaf streaks on wheat in Argentina. *Plant Disease*, PDIS-04.
- Mezzalama, M. 2016. Enfermedades bacterianas asociadas a semilla de maíz y trigo. Disponible en: <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/18110/58349.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Verificado: 14/04/2023.
- Navarrete Maya R., Aranda Ocampo S., Rodríguez Mejía M., Moya Hernández S.L., González Ochoa M.G. 2014. Bacterias Fitopatógenas en Semillas: Su Detección y Regulación. *Revista mexicana de fitopatología*, 32(2), 75-88.
- Pozzi E., Alberione E., Martino J., Bainotti C., Márquez N., Fernández F., Conci L., Alemandri V. 2021a. Infecciones en trigo de verano causadas por bacteria patógena del género *Xanthomonas*. 5° Congreso Argentino de Fitopatología.
- Pozzi E., Alemandri V., Martino J., Salines N., Bainotti C., Conci L., Alberione E. 2021b. Presencia de *Pantoea ananatis* asociada a plantas de trigo pan en ensayos de infección artificial bajo condiciones controladas. IX Congreso Nacional de Trigo.
- Romero A. 2008. Enfermedades bacterianas en trigo en Argentina. Libro Resúmenes del Congreso Argentino de Fitopatología. Córdoba. Mayo 2008. 1° Congreso Argentino de Fitopatología. 28-30/05. Córdoba. Pág: 53.
- Sapkota S., Mergoum M., Liu Z. 2020. The translucens group of *Xanthomonas translucens*: Complicated and important pathogens causing bacterial leaf streak on cereals. *Molecular plant pathology*, 21(3), 291–302.
- Schutt L.S. 2019. Mosaico Bacteriano por *Clavibacter michiganense* subsp. *tessellarius*. ISSN 0325 - 8874. SERIE EXTENSIÓN INTA PARANA 35
- Truol G.A.M. 2009. Enfermedades virales asociados al cultivo de trigo en Argentina: reconocimiento, importancia, formas de transmisión y manejo. 1a ed. IFFIVE-INTA. Biglia Impresores. Córdoba. Argentina. 77 pp.
- Valencia-Botín A., & Cisneros-López M. 2012. A Review of the Studies and Interactions of *Pseudomonas syringae* Pathovars on Wheat. *International Journal of Agronomy*. Hindawi Publishing Corporation. Volume 2012, Article ID 692350, 5 pages.