

Perspectivas Evolutivas en el Diagnóstico Fitosanitario de Procariontes Fitopatógenos

Leila Minea Vásquez Siller, Ph.D., Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas. Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Correspondencia: leilaminea@yahoo.com

Las actividades relacionadas con la explotación silvícola y agropecuaria constituyen uno de los procesos productivos más importantes del planeta, en el que el intercambio de recursos fitogenéticos se ha intensificado, involucrando bancos de germoplasma forestales y agrícolas, instituciones de investigación, regulación cuarentenaria, empresas semilleras y viveristas. Aunque dichas instancias refinan procedimientos para disminuir el riesgo de la entrada de fitopatógenos exóticos, importantes eventos epidemiológicos se han dado en el siglo XIX y XX, involucrando a fitopatógenos transportados por granos, semillas sexuales y asexuales así como otros productos agrícolas que experimentaron cambios biológicos relacionados con el desarrollo de un rango de diversos potenciales evolutivos que van desde la adquisición de nuevas especializaciones en hospedantes, hasta la emergencia de taxones de fitopatógenos totalmente nuevos.

El impacto de dichos eventos en los agroecosistemas ha tenido implicaciones económicas y ambientales que en algunos casos, aún hoy en día no ha sido posible cuantificar, sin embargo, eventos biológicos observados y estudios filogenéticos realizados permiten especular con ciertos fundamentos, la influencia del tráfico internacional de dichos productos con eventos evolutivos de fitopatógenos que han incidido globalmente. Por otra parte, los cambios ecológicos en los agroecosistemas que se han generado en el mundo, han ocurrido casi simultáneamente con cambios significativos en los métodos de producción agrícola, como se ha reportado en los avances de la agricultura de precisión y los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades cuya influencia en los mecanismos evolutivos de plagas y enfermedades aún no se determina puntualmente.

Paralelamente a los cambios en agroecosistemas, el estudio de enfermedades de las plantas y su diagnóstico también han reportado cambios importantes en materia de detección de fitopatógenos como los procariontes, en cuya identificación se han utilizado biotecnologías que han complementado, sustituido o innovado las metodologías convencionales y que han permitido también el estudio de nuevos taxones que con técnicas convencionales en algún momento se vieron limitados.

El diagnóstico fitosanitario de procariontes fitopatógenos ha tenido como reto la simplicidad de su morfología y su biodiversidad cuya evolución se ha sustentado principalmente en su naturaleza metabólica y genética. Los cambios en el genoma de estos microorganismos vía conjugación, transformación e inclusive transducción han generado una gran variabilidad genética en sus poblaciones a través de mutación, recombinación y migración complementados con deriva

genética y presión de selección, por lo que los procariontes, y más específicamente las bacterias fitopatógenas, sobreviven a las estrategias de manejo tales como el uso de bactericidas y de cultivares resistentes, consecuentemente la identificación precisa de estos Fitopatógenos es muy importante.

Históricamente, una gran variedad de características fenotípicas se han utilizado para identificar y clasificar procariontes fitopatógenos como las bacterias. Tales características incluyen anticuerpos que permiten realizar análisis serológicos (ELISA), características bioquímicas, perfiles de utilización de sustratos, composición de ácidos grasos y perfiles enzimáticos multilocus, sin embargo estas pruebas fenotípicas frecuentemente son difíciles de reproducir y no necesariamente pueden reflejar la relación genética entre este tipo de microorganismos. En contraste, las pruebas relacionadas con el ADN son más estables y pueden proveer una relación genética más precisa y son compatibles con protocolos de análisis estadísticos manejados en computadoras, además de que han mejorado las características de especificidad, sensibilidad, rapidez, y en algunos casos de robustez para poderse utilizar en los laboratorios de prueba.

Un enfoque de los más utilizados de las pruebas relacionadas con el ADN, es el análisis genómico dependiente de las amplificaciones hechas en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), debido a que utiliza mínimas cantidades de ADN y tienen las características previamente mencionadas. Desde el ángulo taxonómico, tienen la capacidad de determinar taxones a nivel de familia, género, especie, subespecie y cepas, utilizando métodos basados en el ADN que incluyen la secuenciación del ADN, la secuenciación del ADN ribosomal (rADN) y sus genes conservados 16S, 23S y 5S; así como las Regiones Internas Transcritas (ITS); del rADN; la PCR del ARN de transferencia (tRNA-PCR), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPDs (Randomly Amplified Polymorphic DNA), Repetitive DNA (Rep-PCR) y genes de patogenicidad, por mencionar algunos.

Las técnicas relacionadas con el ADN se han aplicado para estudiar la diversidad de los procariontes fitopatógenos, considerando que la diversidad refiere al grado de variación genética dentro de las poblaciones de organismos, por lo tanto se relaciona también con su sistemática a nivel taxonómico y filogenético. Enfocándose en bacterias fitopatógenas, diversas investigaciones han descrito un mapa o "código de barras" para las especies de géneros complejos como *Xanthomonas*, *Pseudomonas* y *Clavibacter* generados utilizando Rep-PCR y AFLP, los cuales al ser comparados en un análisis de homología de ADN-AND originado en cepas cultivadas, reveló un alto

grado de congruencia entre los tres tipos de perfiles moleculares, lo cual indica que tanto los AFLP como Rep-PCR se pueden usar para complementar o sustituir análisis de ADN-ADN y por lo tanto definir especies bacterianas bajo el esquema de nomenclatura actual.

La agrupación de subpoblaciones que constituyen la diversidad de una especie en la forma esquemática de un dendrograma permite visualizar homologías y/o similitudes de cepas a partir de las cuales se pueden diseñar primers (cebadores o iniciadores) para identificar variantes en diversos niveles taxonómicos. En este proceso, la validación y estandarización de dichos primers se vería beneficiada por la centralización de la información relativa para tenerla disponible y expedita para los laboratorios de prueba. Entonces, el diagnóstico fitosanitario de procariontes fitopatógenos basado en pruebas altamente sensibles y sobre todo específicas de las variantes que surjan de procesos evolutivos, puede contribuir considerablemente a la identificación estable de taxones, a generar posiblemente un nuevo sistema de clasificación que implique relaciones filogenéticas y a desarrollar las estrategias de control dirigidas para combatirlos eficientemente.

Referencias Bibliográficas

- Álvarez, A.M. 2004. Integrated approaches for detection of plant pathogenic bacteria and diagnosis of bacterial diseases. *Annu. Rev. Phytopatol.* 42:339-66.
- Aznar, J. M. 2002. Agroecosistemas. *En: Inventario de los ecosistemas. Recursos mundiales. Edición para América Latina.* Banco Interamericano de Desarrollo. España.
- Lin, H., and Gudmestad, N.C. 2013. Aspects of Pathogen Genomics, Diversity, Epidemiology, Vector Dynamics, and Disease Management for Newly Emerged Disease of Potato: Zebra Chip. *Phytopathology* 103:524-537.
- Schaad N. W., Frederick, RD, Shaw J., Schneider W.L., Hickson, R. 2003. Advances in molecular-based diagnostics in meeting crop biosecurity and phytosanitary issues. *Annu. Rev. Phytopatol.* 41:305-24.