



## Estrategias de lucha contra *Xanthomonas* spp. para una agricultura sostenible

El género *Xanthomonas* comprende especies responsables de enfermedades como la mancha bacteriana de los frutales de hueso y el almendro, y la sarna del tomate y del pimiento, consideradas entre las más graves de estos cultivos. En este artículo se describen las enfermedades y se presentan los primeros resultados obtenidos dentro del proyecto nacional de investigación XANTHERWO.

### XANTHOMONAS SPP.: LAS ENFERMEDADES QUE PRODUCEN Y LOS HUÉSPEDES A LOS QUE AFECTAN

El género *Xanthomonas* incluye bacterias fitopatógenas importantes que infectan cultivos clave, como cítricos, frutales de hueso, arroz, o especies hortícolas. Son responsables de grandes pérdidas de producción y ponen en riesgo la sostenibilidad de la agricultura a escala mundial.

A nivel fitopatológico y microbiológico, el género *Xanthomonas* presenta un gran interés por su elevada especialización hacia el huésped, lo que provoca que dentro de una misma especie de *Xanthomonas* existan cepas que infectan de manera selectiva. La clasificación de

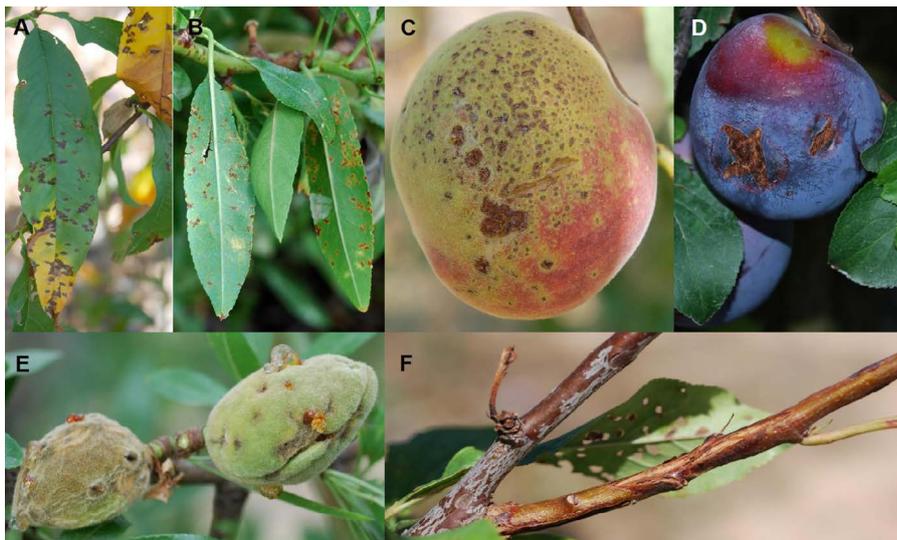
cepas dentro de una especie según la especificidad del huésped al que atacan ha dado lugar a la creación de los patovares.

*X. arboricola* comprende múltiples patovares (pv.), destacando entre ellos *pruni*, *juglandis* y *corylina*, responsables de enfermedades en *Prunus* spp., nogal y avellano, respectivamente. *X. arboricola* pv. *pruni* (Xap) causa la mancha bacteriana de *Prunus*, que afecta a almendro, ciruelo, melocotonero, albaricoquero, cerezo y especies ornamentales (EFSA, 2014a). Esta enfermedad está distribuida a nivel mundial, habiéndose identificado

en España en diversas comunidades autónomas (CC. AA.) (EPPO, 2024; Palacio-Bielsa y col., 2014). Se caracteriza por manchas y lesiones necróticas en hojas y frutos y, en ocasiones, chancros en las ramas y el tronco (Figura 1). En los casos más severos, y solo en algunos huéspedes, puede ocasionar defoliación y caída prematura de frutos. Se considera la bacteriosis más grave de *Prunus*, habiéndose descrito en España una disminución de la producción en almendro hasta del 46% (Palacio-Bielsa y col., 2014).

## FIGURA 1. SÍNTOMAS DE MANCHA BACTERIANA

- A. Manchas en hojas de melocotonero.
- B. Manchas en hojas de almendro.
- C. Lesiones en melocotón.
- D. Lesiones en ciruela.
- E. Lesiones y exudados de goma en almendras.
- F. Chancros en ciruelo (M.A. Cambra, Centro de sanidad y Certificación Vegetal. Gobierno de Aragón).



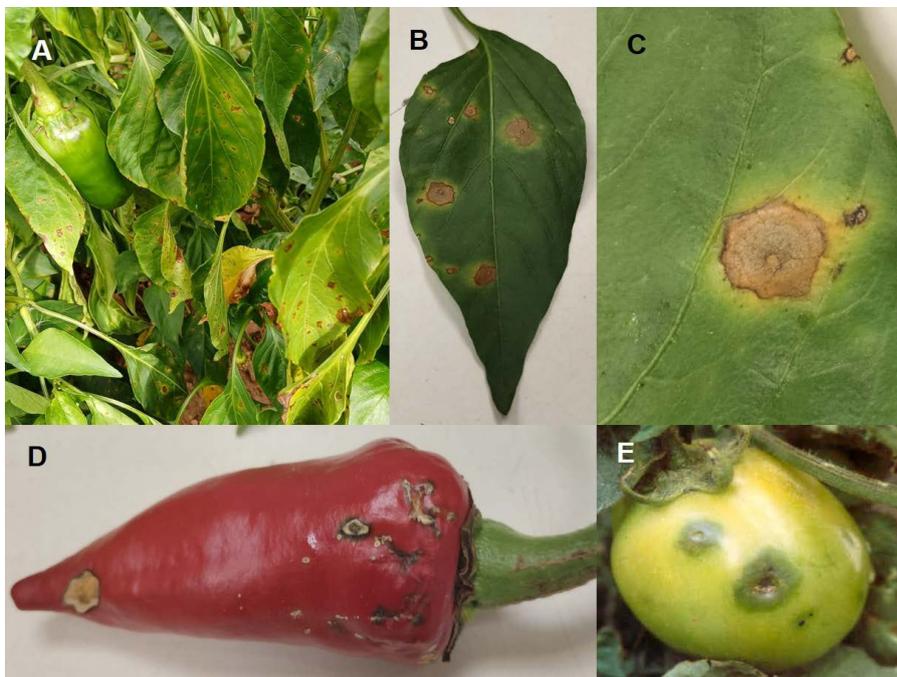
Los objetivos son la generación de conocimiento para entender mejor los mecanismos de infección de las bacterias y de defensa de las plantas, y proponer estrategias de biocontrol basadas en el uso de moléculas naturales y microorganismos.

Por otra parte, la sarna bacteriana del tomate y del pimiento, distribuida mundialmente (EPPO, 2024), está causada por al menos tres especies: *X. vesicatoria* (Xv), *X. euvesicatoria* (Xe) y *X. hortorum* (Xh). En España se ha encontrado en CC. AA. productoras de pimiento y tomate (Palacio-Bielsa y col., 2023). En las hojas, estas bacterias producen manchas acuosas, angulares, de color verde oscuro, que posteriormente se necrosan y adquieren un aspecto apergaminado y en ocasiones con un halo amarillento. En frutos de tomate se observan pequeñas ampollas irregulares que evolucionan a manchas acorchadas con el centro negro y hundido; mientras que en el pimiento las lesiones forman una costra que

se eleva y necrosa (Figura 2). Estos patógenos pueden causar pérdidas significativas por la reducción del rendimiento y las lesiones en los frutos que dificultan su comercialización. En la Unión Europea (UE) se han descrito pérdidas de hasta un 30% (EFSA, 2014b). Las semillas y plántulas contaminadas producidas en semilleros son las principales fuentes de inóculo y responsables de la diseminación a larga distancia de las bacterias. El manejo de la enfermedad requiere el control sistemático de las semillas y del material de siembra, lo que supone un desafío dada la eficacia limitada de las estrategias actuales.

## FIGURA 2. SÍNTOMAS DE SARNA BACTERIANA

- A. Manchas necróticas en hojas de pimiento.
- B y C. Detalles de las lesiones.
- D. Costras necrosadas en fruto de pimiento.
- E. Lesiones acorchadas con centro oscuro y hundido en fruto de tomate (M. Betrán, Centro de sanidad y Certificación Vegetal. Gobierno de Aragón; R. Santiago, Laboratorio de Sanidad Vegetal. Junta de Extremadura).



## ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LAS ENFERMEDADES

Cabe reseñar que tanto Xap como las especies de *Xanthomonas* causantes de la sarna bacteriana están considerados organismos regulados no cuarentenarios en la UE, cuyo análisis en material vegetal de reproducción es necesario según la legislación vigente (DOUE, 2019), e incluso son cuarentenarios para algunos países fuera de la UE.

Las medidas de control de las infecciones causadas por estas *Xanthomonas* se basan, en primer lugar, en la prevención. Cuando esta falla, es necesario adoptar medidas de control directas. Dichas medidas consisten en la erradicación de plantas afectadas, el uso de variedades resistentes, la utilización de ciertas prácticas culturales y la aplicación de tratamientos químicos, fundamen-

---

El control de las infecciones causadas por estas *Xanthomonas* se basa en la prevención. Cuando esta falla, es necesario adoptar medidas directas.

talmente compuestos cúpricos. Sin embargo, estas medidas no siempre funcionan. En primer lugar, es difícil obtener variedades resistentes. Además, pueden surgir resistencias a los tratamientos cúpricos, lo que compromete su eficacia. A esto se suma la constante restricción en el uso de fitosanitarios en la UE debido a los riesgos que representan para la salud humana y medioambiental.

La gravedad de estas enfermedades y la dificultad de su control han impulsado la creación de un consorcio de investigadores de centros de investigación y universidades de distintos puntos de España y con experiencia en diferentes campos, que se ha traducido en el proyecto de investigación nacional **XANTHERWO**, iniciado en 2022. Los objetivos principales de este proyecto son la generación de conocimiento para entender mejor tanto los mecanismos de infección de estas bacterias como aquellos asociados con la defensa de las plantas, y proponer distintas estrategias de biocontrol basadas en el uso de moléculas naturales y microorganismos (Palacio-Bielsa y col., 2023).

Los estudios sobre la identificación y caracterización de *Xanthomonas* y de la interacción planta-patógeno se están abordando mediante estrategias de genómica y transcriptómica. Se están investigando y desarrollando metodologías para controlar las infecciones y evitar la diseminación de los patógenos. Con un enfoque preventivo, se están desarrollando nuevos métodos para detectar las bacterias. Además, se están evaluando distintos métodos de control directo, como el uso de moléculas naturales procedentes o presentes en las plantas que funcionan como inductores de las defensas vegetales, o bien que presentan capacidad antimicrobiana. Asimismo, se están poniendo a punto tratamientos basados en el uso de bacteriófagos, virus que atacan de manera específica a estas *Xanthomonas* patógenas. También se están analizando distintos aislados bacterianos y fúngicos que podrían actuar como antagonistas de estas *Xanthomonas*.

A continuación, se presentan algunos de los prometedores resultados que se están obteniendo.

1

### *Xanthomonas* spp. presentes en España causantes de la mancha bacteriana de los frutales de hueso y el almendro y de la sarna bacteriana del pimiento y del tomate



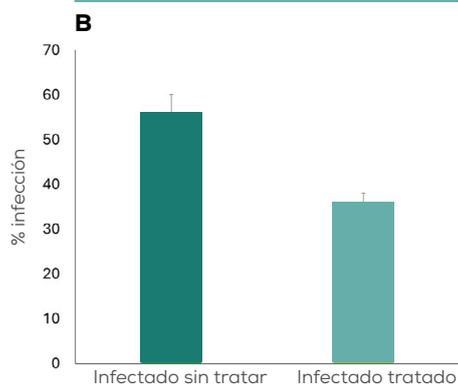
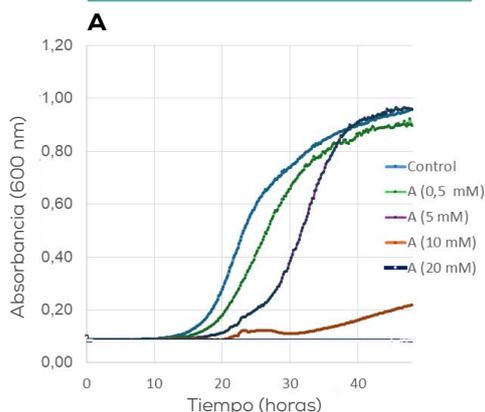
En el grupo del INIA/CSIC se ha logrado obtener mediante secuenciación masiva las secuencias completas de los genomas de las *Xanthomonas* objeto del proyecto que se encuentran en España, lo que ha abierto nuevas posibilidades para comprender su biología y desarrollar herramientas de control efectivas. En el caso de Xap, los análisis detallados de genómica comparativa han permitido identificar elementos genéticos clave asociados con su carácter patógeno, y que están relacionados con los mecanismos de virulencia utilizados para evadir las defensas del huésped e infectar tejidos. La identificación de estos mecanismos también ha servido como base para desarrollar, en colaboración con el grupo del CITA, estrategias de detección más rápidas, sensibles y específicas. Además, estos estudios moleculares se han complementado con investigaciones funcionales que validan el papel de determinados genes en los procesos de infección, lo que refuerza su relevancia biológica y aplicada.

### FIGURA 3. EFECTO DE BIOMOLÉCULAS FRENTE A XANTHOMONAS.

- A. Efecto de diferentes concentraciones de la molécula en el crecimiento de *Xanthomonas* en medio de cultivo líquido.
- B. Reducción del porcentaje de infección.
- C y D. Reducción de los síntomas de la sarna bacteriana en plantas de tomate sin tratar (C) y tratadas (D) 48 h antes de la inoculación.



En el caso de *Xanthomonas* que afectan al pimiento y al tomate, los análisis genómicos han permitido una caracterización exhaustiva de las cepas actualmente responsables de las infecciones en España, así como la identificación de variaciones genéticas relacionadas con la virulencia. Se ha determinado la presencia de *Xe* infectando únicamente pimiento y, muy minoritariamente, de *Xv* afectando al tomate. Se han realizado estudios *in vitro* de resistencia al cobre con una colección de cepas españolas de distintos orígenes geográficos y aisladas entre 1978 y 2024. Además, se han llevado a cabo investigaciones orientadas a identificar genes que confieren esta resistencia. Como resultado preliminar, se han detectado cepas de sarna bacteriana resistentes, y se han desvelado los mecanismos moleculares que median esta resistencia. En el caso de *Xap*, hasta el momento no se han detectado cepas resistentes al cobre. Además, está previsto el mismo estudio en cepas de *Xanthomonas* no patógenas que coexisten con *Xap* y que podrían suponer un riesgo de transmisión de resistencia a cepas de *Xap*. Todos estos hallazgos, realizados dentro de una colaboración liderada por el grupo del CITA con el grupo de Sanidad Vegetal de la Junta de Castilla y León y el INIA/CSIC, proporcionan una información crítica para el diseño de nuevas estrategias de manejo integrado, esenciales en un contexto de agricultura sostenible.



## 2

### Uso de moléculas de efecto antimicrobiano o inductoras de las defensas naturales en plantas

La inducción de defensas en plantas implica su preparación para que, en caso de ataques de patógenos, la respuesta defensiva sea más rápida y eficaz. El grupo de Bioquímica y Biotecnología de la Universitat Jaume I (BB-UJI) está ensayando frente a *Xanthomonas* distintas moléculas de origen natural que han mostrado un claro efecto antimicrobiano *in vitro* y un efecto en la inducción de defensas de las plantas frente a otras bacterias. A manera de ejemplo, en la **Figura 3 A** se muestra la curva de crecimiento de *Xv* en un medio de cultivo solo (control) y con diferentes concentraciones de una de las moléculas probadas. En el cultivo libre de estas moléculas se observa claramente un crecimiento exponencial hasta la fase estacionaria, mientras que en las concentraciones más altas se observa un crecimiento menor, e incluso inactivación del crecimiento, lo que indica un efecto antimicrobiano. Estos resultados apuntan a la posibilidad de usar estas moléculas como método curativo, una vez detectados los síntomas. Además, se está poniendo a punto una aplicación preventiva en planta en concentraciones menores a las antimicrobianas con el objetivo de inducir sus defensas antes de la infección.

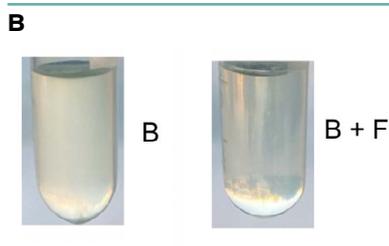
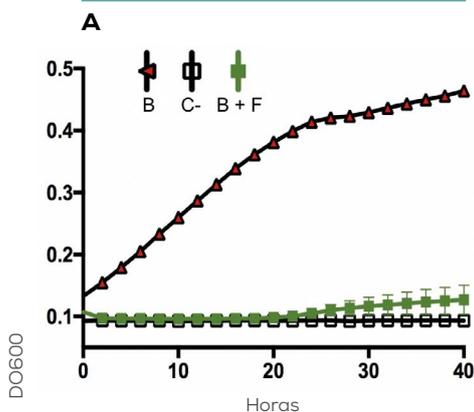
Estudios preliminares han mostrado que el uso preventivo de estas moléculas pueden llegar a reducir significativamente tanto la infección como los síntomas de la sarna bacteriana en tomate (**Figura 3 B, C y D**). Con ello se consigue reducir la dosis y, por tanto, aminorar los costes. Además, en trabajos previos hemos demostrado que estos inductores pueden actuar frente un amplio rango de patógenos, por lo que podrían preparar a la planta frente a distintas enfermedades.



**FIGURA 4. BIOCONTROL DE XANTHOMONAS MEDIANTE FAGOTERAPIA.**

A. Crecimiento bacteriano en ausencia (B) y presencia de un fago lítico representativo (B + F) en medio de cultivo líquido, incluyendo como control negativo (C-) medio sin inocular. La reducción del crecimiento bacteriano se observa como una disminución de la  $DO_{600nm}$ .

B. Efecto bacteriolítico del fago sobre la bacteria (B + F) (abajo) con respecto al crecimiento de esta sin el fago (B) (arriba).



### 3

## Uso de agentes de biocontrol: fagoterapia

Los bacteriófagos (o fagos) son virus que solo infectan bacterias. Algunos de ellos son líticos y pueden causar la muerte por lisis de determinadas especies bacterianas sin dañar a otros organismos (Álvarez y col., 2023). Esta actividad bactericida natural se utiliza como una estrategia terapéutica, denominada fagoterapia, para el control selectivo y eficaz de infecciones bacterianas en humanos, animales y plantas (Biosca y Álvarez, 2024). La fagoterapia es especialmente prometedora en agricultura para combatir las bacterias fitopatógenas y ha demostrado ser efectiva incluso con bacterias resistentes a productos agroquímicos. Además, puede combinarse con otros agentes fitosanitarios para aumentar su eficacia y avanzar hacia una agricultura más sostenible (Álvarez y col., 2023).

El grupo BACPLANT de la Universitat de València (UV) ha aislado fagos líticos frente a cepas españolas de *Xanthomonas* patógenas de plantas herbáceas y leñosas, y está realizando una caracterización biológica para obtener candidatos a agentes de biocontrol de estos patógenos. Tras una selección inicial de los fagos aislados, y en colaboración con el grupo del CITA, se está evaluando su capacidad de biocontrol *in vitro* mediante la monitorización del crecimiento de los patógenos diana en presencia y ausencia de fagos. En la Figura 4 se muestra un ejemplo de un fago lítico capaz de reducir el crecimiento de una cepa patógena de *Xanthomonas* con respecto al control sin fago, así como su efecto bacteriolítico. Previamente al ensayo en plantas, se está evaluando la eficacia de los fagos para controlar la enfermedad utilizando hojas cortadas. Los primeros resultados han revelado una gran reducción de los síntomas de enfermedad, lo que demuestra el potencial de estos fagos como agentes de biocontrol.

### 4

## Uso de agentes de biocontrol: microorganismos antagonistas

Otro de los enfoques que se pretende desarrollar como estrategia de control de estas enfermedades en el proyecto XANTHERWO es encontrar bacterias que puedan tener un efecto antagonista frente a *Xanthomonas*. Los ensayos que se están realizando actualmente se basan en el estudio de aislados procedentes de microbiota de diferentes suelos y aguas, así como aislados procedentes de la microbiota epífita y endófito de las plantas huéspedes. En este estudio están implicados grupos del consorcio, como son UJI, CITA, UV e INIA/CSIC.

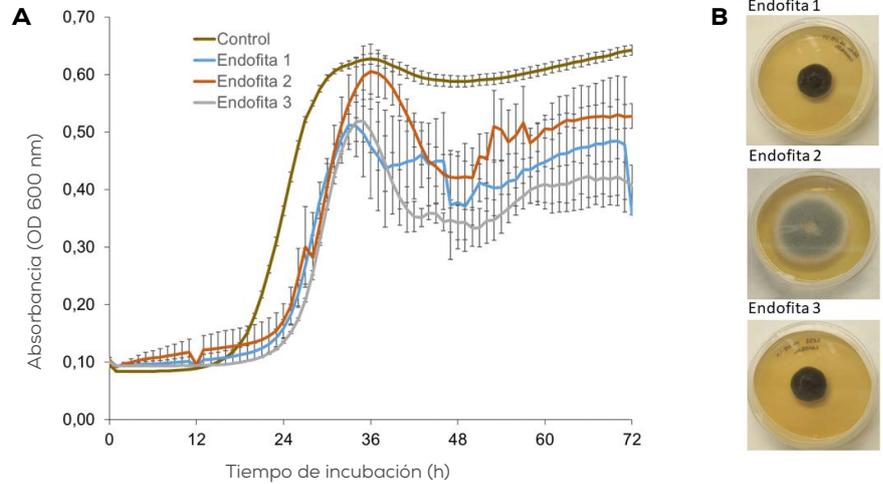
Actualmente contamos con una colección de aislados que han mostrado un efecto de inhibición del crecimiento de las bacterias patógenas *in vitro*. En este momento se están poniendo a punto ensayos de biocontrol para demostrar su efecto en planta.

Por otra parte, el aislamiento y estudio de hongos endófitos, capaces de producir compuestos que alteran el crecimiento de microorganismos patógenos, e incluso inducir las defensas de las plantas, es un campo que está

abriendo muchas posibilidades en el control de enfermedades de plantas (Liu-Xu y col., 2022). Actualmente, en el grupo BB-UJI, se está trabajando con exudados de hongos endófitos que han mostrado un claro efecto antimicrobiano frente a *Xanthomonas* (Figura 5). Se ha optimizado la obtención de los extractos y se pretende realizar un estudio de su efecto en planta.

### FIGURA 5. ANÁLISIS DEL EFECTO DE EXTRACTOS DE DIFERENTES HONGOS ENDÓFITOS FRENTE A *XANTHOMONAS*.

A. Curvas de crecimiento de *Xanthomonas* en medio de cultivo líquido (control) y en medio de cultivo líquido con los filtrados de las tres cepas de hongos endófitos procedentes de plantas de tomate.  
B. Crecimiento de estas tres cepas en medio PDA (Potato Dextrose Agar).



### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se está realizando gracias al proyecto coordinado PID2021-123600OR «Modelos de *Xanthomonas* causantes de enfermedades en importantes cultivos de plantas herbáceas y leñosas en España, estudios comparativos y nuevas estrategias de control (XANTHERWO)», financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y por FEDER, UE.

Los autores agradecen a los Servicios de Sanidad Vegetal de las CC. AA. la información facilitada sobre la situación de la sarna bacteriana en España, así como la cesión de cepas y muestras vegetales que están siendo utilizadas en este proyecto. Nuestro agradecimiento especial a C. Arribas y R. Santiago (Junta de Extremadura), T. Urrutia (Junta de Andalucía), M. Betrán (Gobierno de Aragón) y E. Marco-Noales (Generalitat Valenciana).



### CONCLUSIONES



Los resultados presentados, aun siendo todavía preliminares, apuntan a la posibilidad de la puesta a punto de tratamientos y bioinóculos, utilizados solos o combinados entre sí, para el control de las enfermedades provocadas por estas especies de *Xanthomonas*. Los grupos implicados siguen colaborando y trabajando con el objetivo de conseguir estrategias de control que permitan actuar en el contexto de los Objetivos de Desarrollo Sostenible y la estrategia europea «Una sola salud». Sus resultados pretenden ofrecer una alternativa o complemento sostenible a las prácticas agrícolas convencionales, para reducir la dependencia de los agroquímicos y promover la salud global.

#### >Autores del artículo:

Gemma Camañes<sup>1</sup>, Ana Palacio-Bielsa<sup>2</sup>, Jaime Cubero<sup>3</sup>, Elena G. Biosca<sup>4</sup>, Luisa Liu Xu<sup>1</sup>, Lorena Sánchez Jiménez<sup>1</sup>, Loredana Scalschi<sup>1</sup>, Atefeh Favardin<sup>1</sup>, Eugenio Llorens<sup>1</sup>, Isabel M<sup>a</sup> Berruete<sup>2</sup>, Sara Cuesta-Morrondo<sup>3</sup>, Leticia Martín<sup>3</sup>, Salvador Sastre<sup>3</sup>, Pilar Sauquillo<sup>3</sup>, Cristina Redondo<sup>3</sup>, Jan Mutke<sup>3</sup>, Jerson Garita-Cambroner<sup>5</sup>, José Luis Palomo<sup>6</sup>, Jorge Iribarren<sup>6</sup>, Montserrat Roselló<sup>7</sup>, Ana Patricia Fernández-Getino<sup>8</sup>, Sergi Maicas<sup>4</sup>, Belén Álvarez<sup>4,9</sup>, Rosa Vázquez<sup>4</sup>, Isabel Salas<sup>4</sup>, José F. Català-Senent<sup>4</sup> y Begonya Vicedo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Grup de Bioquímica i Biotecnologia, Departament de Biologia, Bioquímica i Ciències Naturals. Escola Superior de Tecnologia i Ciències Experimentals, Universitat Jaume I (UJI), Castelló de la Plana. <sup>2</sup> Departamento de Sistemas Agrícolas, Forestales y Medio Ambiente. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Zaragoza. <sup>3</sup> Laboratorio de Bacteriología, Departamento de Protección Vegetal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria/Consejo Superior de Investigaciones Científicas (INIA/CSIC), Madrid. <sup>4</sup> Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Biología. Universitat de València (UV), Burjassot, València. <sup>5</sup> Laboratorio de Biología Molecular y Secuenciación. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), Valladolid. <sup>6</sup> Centro Regional de Diagnóstico. Consejería de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Junta de Castilla y León, Aldearrubia, Salamanca. <sup>7</sup> Laboratorio de Diagnóstico Fitopatológico del Servicio de Análisis Agroalimentario. Generalitat Valenciana, Silla, València. <sup>8</sup> Estación de Ensayos de Semillas y Plantas de Vivero. INIA/CSIC, Madrid. <sup>9</sup> Departamento de Investigación Aplicada y Extensión Agraria. Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), Alcalá de Henares, Madrid.

bvicedo@uji.es