

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIÓFAGOS CON ACTIVIDAD LÍTICA SOBRE *Xanthomonas vesicatoria*, AGENTE CAUSAL DE MANCHA BACTERIANA EN TOMATE Y CHILE.

Lucía Rubí¹, Claudia Villicaña², Luis Amarillas^{1, 4}, Armando Carrillo³, Bibiana Chavez⁵, Josefina León¹ (l Josefina@ciad.mx).

- 1.- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Laboratorio de Biología Molecular y Genómica Funcional, 80119, Culiacán, Sinaloa.
- 2.-CONACYT- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Laboratorio de Biología Molecular y Genómica Funcional, 80119, Culiacán, Sinaloa.
- 3.- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Nematología, 80119, Culiacán, Sinaloa.
- 4.- Instituto de Investigación Lightbourn, 33981, Cd. Jiménez, Chihuahua.
- 5.- Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, 07360, Ciudad de México, México.

Palabras clave: bacteriófago, Xanthomonas vesicatoria, control biológico

Introducción. La mancha bacteriana es una de las enfermedades más importantes que provoca pérdidas de producción en cultivos de tomate y chile en el Estado de Sinaloa, causada por la bacteria *Xanthomonas vesicatoria*^{1,2,3}. Distintas estrategias se han empleado con el fin de controlar este patógeno, tales como la aplicación de compuestos de cobre y antibióticos^{4,5}. Sin embargo, la creciente preocupación por las afectaciones ambientales y a la salud pública que estos métodos representan, la investigación sobre estrategias de manejo sustentable de enfermedades en plantas, se ha dirigido a la identificación de tecnologías biológicas⁶. En este sentido, se propone la utilización de bacteriófagos, que son un grupo de virus que infectan y eliminan bacterias⁷. El uso de estos agentes virales requiere una detallada caracterización a nivel biológico, morfológico y genómico, para determinar si tienen las propiedades necesarias para utilizarse en el control biológico^{8,9}. Por ello, el objetivo de esta investigación es aislar y caracterizar bacteriófagos con capacidad lítica sobre *X. vesicatoria*.

Metodología. Muestras de tallo (T) y hoja (H) de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) presuntamente infectadas por *Xanthomonas*, suelo (S) donde se encontraban estas plantas y agua de riego (C1 y C2), se utilizaron para aislar bacteriófagos a partir del enriquecimiento con dos cepas de *X. vesicatoria* (Xa y Xb) y la técnica de doble capa de agar hasta obtener placas de lisis puras. Los bacteriófagos aislados se propagaron y concentraron para realizar la extracción del material genético por el método de fenol-cloroformo. Posteriormente, se evaluó el perfil de restricción de los fagos con distintas endonucleasas (*EcoRI*, *EcoRV*, *BamHI*, *PstI* y *NdeI*). Se determinaron las características estructurales de los viriones mediante microscopía electrónica de transmisión. Se evaluó la estabilidad del bacteriófago en solución a distintas temperaturas (25, 35, 45, 55 y 65°C) y se determinó el rango de hospedero por la técnica de goteo utilizando diferentes cepas de *Xanthomonas*.

Resultados. Uno de los bacteriófagos fue aislado de agua de riego, denominado XaC1. El bacteriófago presentó capacidad lítica sobre sólo una cepa (1/3) de *X. vesicatoria* patógena para cultivos de tomate (**Fig1A**). La microscopía electrónica de transmisión de XaC1 reveló que pertenece a la familia

Siphoviridae (**Fig1B**). Este virus presentó ADN de doble cadena, el cual solo fue digerido por *EcoRI*. El bacteriófago XaC1 es estable en solución a temperaturas de hasta 55°C.

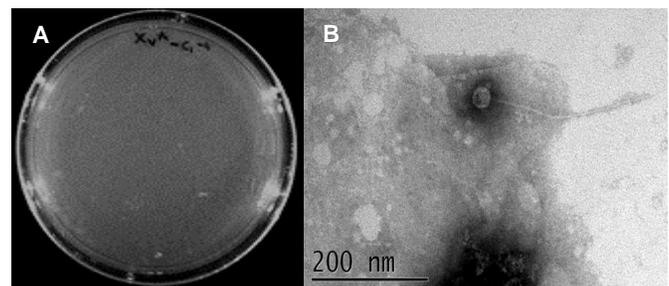


Fig. 1. A. Placas de lisis de bacteriófago XaC1 con capacidad lítica sobre *Xanthomonas vesicatoria*. B. Micrografía electrónica de transmisión del fago XaC1.

Conclusiones. Se aisló un bacteriófago con capacidad lítica sobre *X. vesicatoria* proveniente del Valle agrícola de Culiacán, el cual presenta características deseables como candidato para control biológico, por lo que se continuará con su caracterización genómica y ensayos de control biológico.

Agradecimientos.

A la empresa Bioteksa S.A de C.V, Instituto de Investigación Lightbourn y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, que financiaron esta investigación a través del Programa de Estímulos a la Innovación, Proyecto PEI-65/2018 NO.251516.

Bibliografía.

1. Balogh B *et al.* (2010). *Curr Trends Biotechnol Pharm*, 11,48-57.
2. Buttimer C *et al.* (2017). *Front Cell Infect Microbiol*, 8, 1-15.
3. Carrillo Fasio J *et al.* (2001) *Rev Mex Fitopatol*, 19, 248-250.
4. Jassim S & Limoges R (2017). *Biocontrol*, 3, 319-325.
5. Lifshitz, R *et al.* (1983). *Journal of Microbiology*, 29, 1607-1610.
6. Mansfield J *et al.* (2012). *Mol Plant Pathol*, 13, 614-629.
7. Potnis, N *et al.* (2015). *Mol Plant Pathol*, 16, 907-920.
8. Roach, R., *et al* (2018). *Eur J Plant Pathol* 150, 592-608.
9. Sillankorva S, Oliveira H & Azeredo J (2012). *Microbiol Res J Int*, 23, 1-13.

