

**ARABIDOPSIS MUESTRA RESISTENCIA NO-HOSPEDERO  
CONSTITUTIVA CONTRA *Xanthomonas phaseoli* pv. manihotis****Arabidopsis shows non-host constitutive resistance against  
*Xanthomonas phaseoli* pv. manihotis**Yenny Paola HURTADO<sup>1</sup>, Danilo Isaid ROMERO<sup>1</sup>, Camilo Ernesto LOPEZ CARRASCAL<sup>1</sup><sup>1</sup> Grupo Manihot Biotec, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Cra 30 No 45-03, Bogotá Colombia.\* **For correspondence:** [celopezc@unal.edu.co](mailto:celopezc@unal.edu.co)**Received:** 22<sup>nd</sup> October 2019. **Returned for revision:** 10<sup>th</sup> August 2020. **Accepted:** 28<sup>th</sup> October 2020.**Associate Editor:** Enrique Martínez Bustamante**Citation/ citar este artículo como:** Hurtado YP, Romero DI, López C. Arabidopsis muestra resistencia no-hospedero constitutiva contra *Xanthomonas phaseoli* pv. manihotis. Acta Biol Colomb. 2021;26(3):345-351. Doi: <https://doi.org/10.15446/abc.v26n3.83077>**RESUMEN**

La bacteriosis vascular de la yuca, causada por la bacteria gram negativa *Xanthomonas phaseoli* pv. manihotis (*Xpm*), anteriormente conocida como *Xanthomonas axonopodis* pv. manihotis, es la principal enfermedad bacteriana que compromete su producción. Con la meta de generar una resistencia durable y de amplio espectro a la bacteriosis es posible explotar los mecanismos naturales presentes en plantas no-hospedero. Arabidopsis es una planta modelo extensamente estudiada, la cual es no-hospedero de *Xpm*. La meta de este estudio fue determinar si la resistencia no-hospedero de Arabidopsis es consecuencia de la presencia de barreras físicas o si esta depende de determinantes genéticos. En este trabajo se evaluó la capacidad de plantas de Arabidopsis de responder a la inoculación con *Xpm*. Ninguno de los ocho ecotipos de Arabidopsis evaluados mostraron una respuesta hipersensible a la inoculación con ocho diferentes cepas de *Xpm*. Aunque no se identificó la presencia de especies reactivas de oxígeno si se encontró un bloqueo en el crecimiento de *Xpm* en las plantas de Arabidopsis. En conjunto, los resultados aquí presentados sugieren que Arabidopsis no está activando una respuesta contra *Xpm* y que la resistencia observada puede ser consecuencia de las barreras físicas presentes en Arabidopsis que *Xpm* no es capaz de superar.

**Palabras Clave:** yuca, bacteriosis, resistencia, inmunidad vegetal, barreras físicas, reconocimiento.**ABSTRACT**

Cassava bacterial blight (CBB), caused by the gram-negative bacteria *Xanthomonas phaseoli* pv. manihotis (*Xpm*), previously known as *Xanthomonas axonopodis* pv. manihotis, is the main bacterial disease compromising cassava production. With the aim to generate durable and broad-spectrum resistance to CBB is possible to exploit the natural mechanism present in non-host plants. Arabidopsis is an extensively studied model plant, which is a non-host of *Xpm*. The aim of this study was to determinate if the Arabidopsis non-host resistance is a consequence of physical barriers or if it depends on genetic determinants. In this work we evaluated the ability of Arabidopsis plants to respond after *Xpm* inoculation. None of the eight Arabidopsis ecotypes showed a hypersensitive response after inoculation with eight different *Xpm* strains. Although reactive oxygen species (ROS) production was not present, impairment in *Xpm* proliferation was found. These results suggest that Arabidopsis is not activating an immunity response against *Xpm* and the resistance might be a consequence of physical barriers present in Arabidopsis that *Xpm* is not able to overcome.

**Keywords:** cassava, blight, resistance, plant immunity, physical barriers, recognition.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas están permanentemente expuestas a microorganismos. En un entorno natural, los patógenos exitosos son la excepción, ya que la mayoría de las plantas son resistentes a la mayoría de las especies de patógenos. Esta resistencia puede explicarse mediante dos líneas principales. La primera de ellas incluye la presencia de barreras constitutivas o preformadas, tales como la presencia de cutícula, exudados, ceras, látex, tricomas, pared celular, péptidos antimicrobianos y metabolitos secundarios preformados (Heath, 2000; Ham *et al.*, 2007). La segunda línea de protección comprende las respuestas inducibles, que dependen del reconocimiento del patógeno, el cual es mediado por dos grandes familias de receptores de plantas. Los PRRs (del inglés, Pattern Recognition Receptors) reconocen moléculas conservadas presentes en patógenos potenciales, que reciben el nombre de P/MAMPs (del inglés Pathogen/Microbial Associated Molecular Patterns). Este reconocimiento activa una respuesta temprana y de baja intensidad, pero de amplio espectro, conocida como PTI (del inglés PAMPs Triggered Immunity) (Cook *et al.*, 2015). Los PRRs son receptores extracelulares que poseen un dominio LRR (del inglés Leucine Rich Repeats) extracelular y un dominio quinasa intracelular (Peng *et al.*, 2018). Estas proteínas se conocen como RLKs (del inglés Receptor Like Kinases). Otros PRRs tienen un dominio LysM extracelular y se denominan RLPs (del inglés Receptor Like Proteins). Los PAMPs son moléculas fundamentales para la viabilidad del patógeno, están ampliamente distribuidos, tienen bajos índices de evolución y están altamente conservados (Saijo *et al.*, 2018). La PTI involucra la activación de cascadas de MAP quinasa, deposición de callosa, producción de isotiocianatos y glucosinolatos, camalexina, especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés Reactive Oxygen Species) y la inducción de la expresión de genes relacionados con la patogénesis (PR, del inglés Pathogenesis Related) (Peng *et al.*, 2018). Durante la evolución, los microorganismos adaptados lograron evadir el reconocimiento o suprimir los mecanismos de defensa, permitiendo su multiplicación en especies particulares de plantas hospedadoras. Los patógenos adaptados dependen de proteínas efectoras, que conducen a la susceptibilidad activada por efectores (ETS, del inglés Effector Triggered Susceptibility) (Ma *et al.*, 2018). El segundo grupo de receptores se conoce como proteínas de Resistencia (R), las cuales reconocen y activan la ETI (del inglés Effector Triggered Immunity). Las proteínas R reconocen de manera específica los efectores, que reciben en este caso el nombre de proteínas de Avirulencia (Avr) (Monteiro *et al.*, 2018). La respuesta ETI se sobrelapa con las respuestas activadas por la PTI pero es más fuerte y en la mayoría de los casos se asocia con una HR (del inglés Hypersensitive Response) (Peng *et al.*, 2018). La mejor situación para el control de enfermedades de las plantas es introducir en las variedades comerciales genes que confieran resistencia duradera y de

amplio espectro, lo cual se puede conseguir utilizando genes implicados en la resistencia no-hospedero. La transferencia de este tipo de genes de una especie a otra se ha reportado con éxito en maíz (Zhao *et al.*, 2005), avena (Lorang *et al.*, 2012) solanáceas (Lacombe *et al.*, 2010) y cítricos (*Citrus sinensis*) (Mendes *et al.*, 2010). Sin embargo, el primer paso para lograr este objetivo es determinar si la resistencia no hospedero, está mediada por barreras constitutivas o por respuestas inducidas.

La yuca, *Manihot esculenta* Crantz, es el cuarto cultivo más importante después del arroz, el trigo y el maíz como fuente de calorías. Las raíces de yuca son consumidas por más de mil millones de personas en el mundo (FAO, 2013). El almidón de yuca no sólo es importante para el consumo humano, sino que también tiene un amplio espectro de usos en diferentes industrias, haciendo que la yuca sea importante no sólo para la seguridad alimentaria sino también para la economía de los países en desarrollo (Ziska *et al.*, 2009). Diferentes plagas y enfermedades afectan la yuca (McCallum *et al.*, 2017). La bacteriosis vascular de la yuca (CBB, del inglés Cassava Bacterial Blight) es la principal enfermedad bacteriana que compromete la producción de yuca. El agente causal es la bacteria gram-negativa *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) (López y Bernal, 2012), la cual previamente era denominada *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Constantin *et al.*, 2016). Esta enfermedad inicia con el establecimiento del patógeno en las hojas de la planta durante la temporada de lluvias (Boher y Verdier, 1994). El patógeno pasa por una fase epífita en las partes aéreas de la planta para posteriormente penetrar a través de estomas y heridas e iniciar la fase de desarrollo intracelular en el mesófilo para luego colonizar el tejido vascular (López y Bernal, 2012). Aunque existen algunas variedades resistentes, los agricultores no las han adoptado debido a que, en algunos casos, sus rendimientos son bajos y no poseen óptimas cualidades culinarias (López y Bernal, 2012). *Xpm* es un patógeno muy diverso y, en consecuencia, es necesario desarrollar estrategias para incorporar diferentes fuentes de resistencia. La planta modelo *Arabidopsis* constituye un excelente recurso para identificar potenciales genes no-hospedero que podrían transferirse a la yuca. En este trabajo se caracterizó la respuesta no-hospedero de *Arabidopsis* a *Xpm* con el fin de identificar si esta depende de la presencia de barreras estructurales preformadas o si es producto de la activación de una respuesta de inmunidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Bacterias

Los diferentes aislamientos de *Xpm* fueron crecidos en medio YPGA (5 % de levadura, 5 % de peptona, 5 % de glucosa y 15% de agar) a partir de stocks a -80° C. Las bacterias se incubaron a 28 °C durante 48 h. Para cada cepa, se tomó una colonia aislada y se transfirió a medio

líquido YPG, se incubó a 28 °C y 250 rpm durante 18 h antes de la inoculación. El inóculo líquido se centrifugó a 6000 rpm durante 5 minutos y se resuspendió en MgCl<sub>2</sub> 10 mM. La suspensión bacteriana se calibró a OD<sub>600nm</sub> = 0,2, correspondiente a 1x10<sup>5</sup> CFU / mL. Se emplearon dos cepas de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*): Xcc6185, la cual es virulenta en el ecotipo de Arabidopsis Col-0, y Xcc8004, la cual es avirulenta en el ecotipo Col-0 (Meyer *et al.*, 2005). Tabla 1. Las bacterias se aislaron en medio YPGA y la preparación del inóculo se realizó como se describe para las cepas *Xpm*. Las cepas de *Xpm* seleccionadas hacen parte del banco de cepas de *Xpm* del laboratorio y representan la diversidad de *Xpm* del Caribe Colombiano (Trujillo *et al.*, 2014)

### Material vegetal e inoculación

Se emplearon ocho ecotipos diferentes de *Arabidopsis thaliana*: Columbia 0 (Col-0), Nok-1, Ct-1, Ri-0, Shakdara, Can-0, Oy-0 y Tsu-0. Las semillas se obtuvieron de la colección INRA - Versailles, Francia. Las plantas se cultivaron en una mezcla de turba y suelo con vermiculita en una proporción de 50:50. Las plantas se cultivaron en una cámara de crecimiento con un fotoperíodo de 12 h de luz / 12 h de oscuridad, a 26 °C día / 19 °C noche. Las plantas de cuatro a cinco semanas de edad fueron inoculadas con *Xpm* y *Xcc* por el método de punción (Meyer *et al.*, 2005). Las plantas se mantuvieron a alta humedad mediante el uso de una cubierta de plástico durante 48 horas después de la infección. Después de la inoculación, se recolectaron tres hojas por planta y se emplearon tres plantas como unidad experimental.

### Producción de ROS

Para evaluar la presencia de ROS en las hojas de Arabidopsis, se inocularon tres hojas de tres plantas de

cuatro semanas de edad por punción o por infiltración (Meyer *et al.*, 2005). Las plantas se inocularon con Xpm531, Xpm318 y Xpm681. Como controles, se inocularon plantas con MgCl<sub>2</sub>. Las plantas se mantuvieron a alta humedad durante el experimento. Las hojas se colectaron dos y cuatro horas después de la infección (hpi), luego se sumergieron en solución DAB (3,3 - Diaminobenzidine Liquid Substrate System, Sigma®) durante ocho horas. La reacción se detuvo con agua destilada y se almacenó en etanol al 96 %. Este experimento se realizó por triplicado.

### Crecimiento bacteriano en Arabidopsis

Las plantas Col-0 se inocularon con las cepas Xcc6185, Xcc8004, Xpm531, Xpm318, Xpm681 y control (10 mM de MgCl<sub>2</sub>). Se inocularon tres hojas por planta en tres repeticiones biológicas diferentes, con una suspensión bacteriana de OD<sub>600nm</sub> = 0,2 (1x10<sup>5</sup> CFU / mL). Las plantas se inocularon por punción (Meyer *et al.*, 2005). Todo el tejido se recolectó a los 0, 1, 3, 5 días después de la inoculación (dpi) y se maceró en 100 µl de MgCl<sub>2</sub> 10 mM estéril. Una vez macerado, el volumen se ajustó a 1 ml con MgCl<sub>2</sub>. Se realizaron diluciones seriadas con la muestra homogeneizada (100 µl en 900 µl de MgCl<sub>2</sub>) y se sembraron 10 µl por triplicado para cada dilución en placas de Petri con medio YPGA. Las muestras se incubaron a 28 °C durante 48 horas y las colonias se contaron para aquellas diluciones en las que era posible reconocer de 1 a 30 colonias.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software R 3.1 para evaluar los datos de cuantificación bacteriana. Se realizó la prueba de Spearman y la normalidad de los datos fue corroborada por la prueba de Shapiro Wilk. Para determinar la relación entre los parámetros evaluados (bacterias y días después de la inoculación), se realizó la prueba de aditividad

**Tabla 1.** Respuesta de diferentes ecotipos de Arabidopsis después de la inoculación con diferentes cepas de *Xpm*. Las plantas de Arabidopsis de diferentes ecotipos se inocularon con diferentes cepas de *Xpm*. El número indicado representa las hojas que muestran una HR sobre el total de hojas inoculadas. (-) Indica que no hay HR.

	Origen	Ecotipos de Arabidopsis							
		Col-0	Tsu-0	Nok 1	Shakdara	Ri-0	Can-0	Oy-0	Ct-1
Xpm318	Ciénaga de Oro	-	-	-	-	-	2/9	-	-
XpmC10151	Referencia	-	-	-	-	-	-	-	-
Xpm681	Palmitos	-	-	-	-	-	-	-	-
Xpm531	Chinú	-	-	2/9	-	-	2/9	3/9	-
Xpm645	San Jacinto	-	-	-	-	-	-	-	-
Xpm689	Palmitos	-	-	-	-	-	-	-	-
Xpm306	Palmitos	-	-	-	-	-	-	-	-
Xpm226	Chinú	-	-	-	-	-	-	-	-
Xcc6185	Referencia	-	-	-	6	-	-	8/9	2/9
Xcc8004	Referencia	9/9	4/9	4/9	5/9	-	2/9	-	4/9

Las cepas de *Xpm* seleccionadas son representativas de la diversidad colombiana. Las cepas Xcc6185 y Xcc8004, en el ecotipo Col-0 presentan una reacción de susceptibilidad y resistencia, respectivamente

de Tukey y una prueba F para determinar la dependencia de los datos obtenidos de LogUFC en los parámetros de las bacterias y el día posterior a la inoculación. Se realizó un análisis de comparación de medias para evaluar la diferencia entre los datos obtenidos con diferentes bacterias y a diferentes tiempos post inoculación.

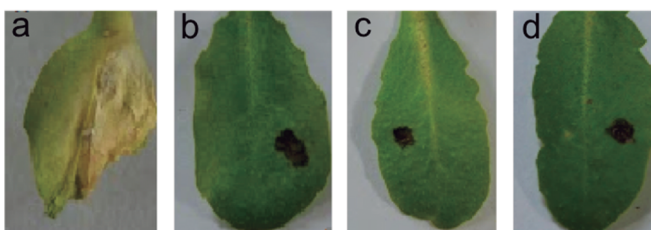
## RESULTADOS

### Arabidopsis no genera HR después de la inoculación con *Xpm*

Con el fin de determinar la capacidad de Arabidopsis para inducir una HR después de la inoculación con *Xpm*, se inocularon ocho ecotipos diferentes de Arabidopsis con ocho cepas de *Xpm* por perforación de la vena principal de la hoja. Como control del experimento, se utilizaron las cepas Xcc6185 y Xcc8004, para las cuales el ecotipo Col-0 es susceptible y resistente, respectivamente (Xu *et al.*, 2008). En todos los experimentos se observó el fenotipo esperado en el ecotipo Col-0 cuando las plantas se inocularon con Xcc6185 y Xcc8004 (Tabla 1). El ecotipo Ri-0 demostró ser resistente a Xcc6185, mientras que los ecotipos Tsu-0, Nok-1, Shakdara, Ct-1 fueron susceptibles a Xcc6185. Por otro lado, los ecotipos Tsu-0, Nok-1, Ri-0, Can-0 fueron resistentes a Xcc8004. Los ecotipos Shakdara y Oy-0 mostraron una HR contra Xcc8004. Con respecto a las inoculaciones con *Xpm*, ninguno de los ecotipos mostró una HR contra ninguna de las cepas evaluadas (Tabla 1; Fig. 1). Los ecotipos Nok-1, Can-0 y Oy-0 mostraron una respuesta de tipo HR cuando se inocularon con las cepas Xpm531 y Xpm318; sin embargo, esta respuesta no fue consistente en todos los experimentos, solo se observó en dos o tres hojas de un total de nueve evaluadas (Tabla 1).

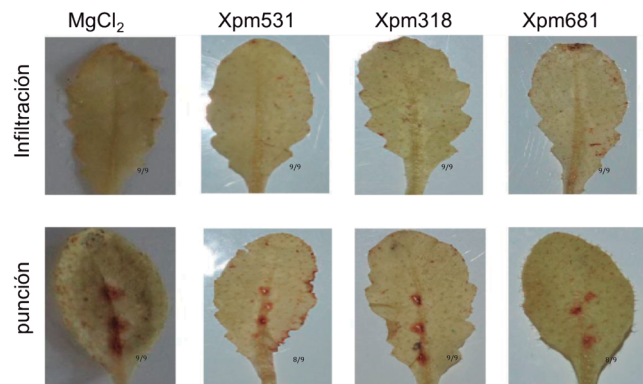
### Arabidopsis no produce ROS después de la inoculación con *Xpm*

Las plantas de Arabidopsis se inocularon por infiltración con las cepas Xpm531, Xpm318 y Xpm681. A las 2 hpi, se sumergieron en solución DAB y se evaluó la presencia de precipitado marrón en las hojas (Fig. 2). No se detectó producción de ROS después de la inoculación con *Xpm*. Este resultado planteó la posibilidad de que la no detección de



**Figura 1.** Evaluación de HR en plantas de Arabidopsis ecotipo Col-0 después de la inoculación con diferentes cepas de *Xpm*. Las plantas de Arabidopsis ecotipo Col-0 se inocularon por punción y los síntomas se evaluaron a 5 dpi. Inoculación con Xcc6185 (a), Xpm318 (b), Xpm531 (c) y Xpm681 (d).

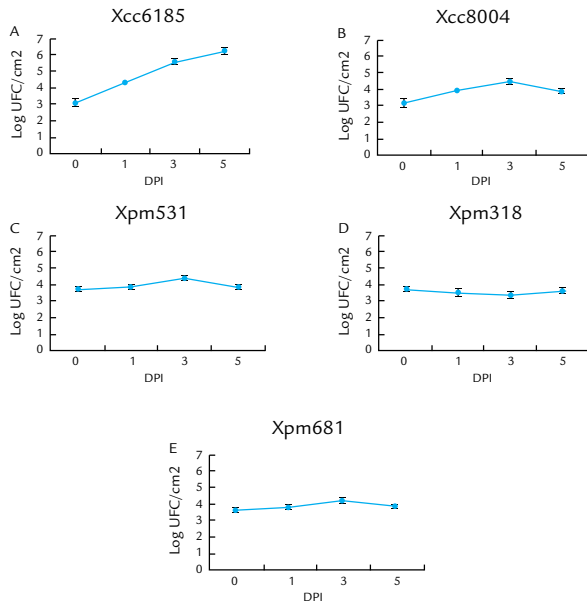
ROS fuese producto del método de inoculación empleado. Para corroborarlo, las plantas se inocularon por punción, lo que genera una herida que conduce a la producción de ROS por sí misma. Cuando el experimento se realizó de esta manera, se observó una coloración marrón alrededor de los tres puntos de inoculación. Sin embargo, en presencia de *Xpm*, no se observó producción de ROS más allá del punto de inoculación (Fig. 2). Estos resultados sugieren que las plantas de Arabidopsis no generan ROS después de la inoculación con *Xpm*.



**Figura 2.** Evaluación de la producción de ROS en plantas de Arabidopsis ecotipo Col-0 después de la inoculación con diferentes cepas de *Xpm*. Se inocularon plantas de Arabidopsis (Col-0) mediante infiltración o punción con diferentes cepas de *Xpm* y se evaluó la producción de ROS mediante tinción con DAB. Se emplearon tres hojas por planta y tres plantas por cada experimento. Los números representan el número de hojas que presentaron el fenotipo observado en la figura.

### *Xpm* no se multiplica en el tejido de Arabidopsis

Para determinar el crecimiento bacteriano de *Xpm* en Arabidopsis, las plantas se inocularon con las cepas Xpm531, Xpm318 y Xpm681, utilizando el método de punción. Del mismo modo, se realizó una inoculación con las bacterias Xcc6185 y Xcc8004. El tejido foliar se colectó a 0, 1, 3 y 5 dpi. Como se muestra en la Figura 3a, la cepa control Xcc6185 mostró un crecimiento constante con un pico a 5 dpi. En contraste, la cepa Xcc8004 mantuvo valores relativamente constantes presentando sólo un ligero aumento a 3 dpi y luego disminuyó a 5 dpi confirmando su avirulencia (Fig. 3b). La cepa Xpm531 mostró un pequeño aumento a 3 dpi, disminuyendo a 5 dpi (Fig. 3c). La cepa Xpm318 tuvo un bajo crecimiento a 3 dpi, seguido de una ligera disminución a 5 dpi (Fig. 3d). Finalmente, la cepa Xpm681 exhibió un comportamiento similar al de la cepa Xpm531, con un pequeño aumento a 3 dpi y una disminución a 5 dpi (Fig. 3e). En general, puede establecerse que, aunque para cada cepa de *Xpm* de manera individual se pueden observar pequeñas diferencias en el crecimiento a lo largo del tiempo estas no son estadísticamente significativas (Xpm631,  $p= 0,438$ , Xpm531,  $p= 0,348$  y Xpm318,  $p= 0,214$ ). Por otro lado, se confirmó que la cepa Xcc6185 se



**Figura 3.** Cuantificación del crecimiento bacteriano de diferentes cepas de *Xanthomonas* en plantas de *Arabidopsis* ecotipo Col-0. Las plantas de *Arabidopsis* (Col-0) se inocularon con los controles (Xcc6185 y Xcc8004) y con las cepas Xpm531, Xpm318 y Xpm681 utilizando el método de inoculación por punción y el crecimiento bacteriano se evaluó a los 1, 3 y 5 dpi. Se emplearon tres plantas de *Arabidopsis* por cada cepa. Las barras de error representan la desviación estándar obtenida en la cuantificación del crecimiento a cada tiempo post-inoculación.

multiplica bien en el ecotipo Col-0, significativamente más que *Xpm* (diferencias estadísticamente significativas con un  $p$  valor = 0,011 a los 5 dpi). En conjunto, estos resultados permiten concluir que *Xpm* no puede multiplicarse en *Arabidopsis* y corroboran que esta planta es una especie no hospedera de *Xpm*.

## DISCUSION

La resistencia no-hospedero se define como aquella que presentan todas las variedades o ecotipos de una especie de planta a todas las variantes de un posible patógeno (Stam *et al.*, 2014). Este tipo de resistencia puede explotarse como una importante fuente de resistencia. Sin embargo, es necesario primero comprender sus bases antes de ser empleada dentro de los programas de fitomejoramiento. El presente estudio tuvo como objetivo comprender las bases de la interacción no-hospedero entre *Arabidopsis* y *Xpm*. Hasta nuestro conocimiento este es el primer estudio enfocado a determinar el tipo de respuesta o interacción que se presenta durante la interacción entre *Arabidopsis* y *Xpm*. Las diferentes cepas de *Xpm* no pudieron crecer en plantas de *Arabidopsis*. Además, no se pudo observar la presencia de HR, ni la producción de ROS en plantas de *Arabidopsis* inoculadas con *Xpm*, lo que sugiere que las

barreras preformadas constituyen un mecanismo clave en la resistencia no-hospedero de *Arabidopsis* a *Xpm*.

La resistencia no-hospedero puede darse ya sea por la presencia de barreras constitutivas o preformadas en la planta o por la activación de la PTI (Heath, 2000; Ellis *et al.*, 2006). Aunque normalmente la PTI no es lo suficientemente fuerte como para inducir una HR, en algunos casos se ha asociado una HR o una respuesta similar a HR con la PTI o con la resistencia no-hospedero (Cook *et al.*, 2015). En este trabajo, ninguno de los ecotipos de *Arabidopsis* mostró una respuesta HR a ninguna de las cepas de *Xpm* evaluadas; así como tampoco se observó crecimiento de *Xpm* en las plantas de *Arabidopsis*. La ausencia de HR sugiere que las plantas de *Arabidopsis* no están detectando *Xpm*. Sin embargo, no siempre que hay reconocimiento se da una HR (Mysore *et al.*, 2004). Recientemente, se identificó un nuevo PRR que detecta un PAMP no caracterizado de *Xanthomonas*, el cual se ha denominado eMax (Jehle *et al.*, 2013). Shakdara es un ecotipo de *Arabidopsis* que posee una mutación natural en eMax lo que hace que este ecotipo sea susceptible a *Xanthomonas*. Nuestros resultados muestran que Shakdara es resistente a diferentes cepas de *Xpm*. En un futuro será importante identificar el PAMP reconocido por eMax y establecer su presencia/ausencia en *Xpm*. Aunque en este trabajo no se observó una HR, no se excluyó la posibilidad de que otras respuestas de inmunidad pudieran activarse en *Arabidopsis* como consecuencia de la detección de *Xpm*. Una de estas respuestas implica la producción de ROS, los cuales se generan rápidamente una vez se ha detectado el patógeno (Bolwell *et al.*, 1999). Sin embargo, en el presente estudio no se observó la producción de ROS en las hojas de *Arabidopsis* inoculadas con diferentes cepas de *Xpm* (Fig. 2). El empleo de otras metodologías más sofisticadas para la detección de ROS tales como ensayos empleando luminol pueden ser más sensitivos y cuantitativos (Albert y Fürst, 2017), lo cual valdría la pena explorar en futuros estudios para confirmar la no producción de ROS. Aún así, la ausencia de ROS observada en este trabajo respalda la premisa de que *Xpm* no supera las barreras preformadas en *Arabidopsis* y, en consecuencia, no se logra la inducción de las respuestas de inmunidad, como la producción de HR y ROS.

La ausencia de producción de HR y ROS en *Arabidopsis*, sustenta la hipótesis de que el mecanismo de resistencia no-hospedero de *Arabidopsis* a *Xpm* involucra barreras estructurales más que la inducción de una respuesta inmune. La resistencia no-hospedero de *Arabidopsis* a *Xpm* puede explicarse considerando diferentes aspectos. Primero, es posible que *Xpm* no encuentre en el tejido de *Arabidopsis* un nicho adecuado capaz de satisfacer sus requerimientos nutricionales y, por lo tanto, no pueda multiplicarse (Fig. 3). También es posible que *Xpm* no pueda superar algunas de las barreras físicas o estructurales presentes en *Arabidopsis*. Por otro lado, mientras que *Xpm* es un patógeno de una

planta tropical, *Arabidopsis* es una especie nativa de zonas templadas, esto hace que bajo condiciones naturales sea poco probable que *Xpm* entre en contacto con *Arabidopsis*. Sin embargo, las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*, aunque no son patógenos de *Arabidopsis* y naturalmente sea poco probable que entren en contacto, si generan una activación de la PTI como consecuencia del reconocimiento de flagelina (Seo *et al.*, 2012; García *et al.*, 2014). Por esta razón podría ser posible que *Arabidopsis* también fuese capaz de activar una PTI frente a *Xpm*, lo cual no se evidenció en este trabajo.

## CONCLUSIONES

La principal conclusión que se desprende de este trabajo es que la resistencia no-hospedero que presenta *Arabidopsis* frente a *Xpm* no implica la generación de HR, ni la producción de ROS y en consecuencia el mecanismo más probable que explica esta resistencia sea por la presencia de barreras estructurales o fisiológicas preformadas presentes en las células de la planta lo que previenen la proliferación y virulencia de *Xpm*.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a todos los miembros del grupo Manihot Biotec por las fructíferas discusiones. Este trabajo fue parcialmente financiado por la Dirección de Investigaciones (Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá) y Colciencias.

## REFERENCIAS

- Albert M, Fürst U. Quantitative Detection of Oxidative Burst upon Activation of Plant Receptor Kinases. En: Aalen R, editor. Plant Receptor Kinases. Methods in Molecular Biology, vol 1621;2017. New York: Humana Press. 2017;1621:69-76. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7063-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7063-6_7)
- Boher B, Verdier V. Cassava bacterial blight in Africa. The state of knowledge and implications for designing control strategies. Afr Crop Sci J. 1994;2(1):5.
- Bolwell GP. Role of active oxygen species and NO in plant defence responses. Curr Opin Plant Biol. 1999;2(4):287-294. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)80051-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)80051-X)
- Constantin EC, Cleenwerck I, Maes M, Baeyen S, Van Malderghem, De Vos P, Cottyn B. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. Plant Pathol. 2016;65:792-806.
- Cook DE, Mesarich CH, Thomma BPHJ. Understanding plant immunity as a surveillance system to detect invasion. Annu Rev Phytopathol. 2015;53:541-63. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120114>
- Ellis J. Insights into Nonhost Disease Resistance: Can They Assist Disease Control in Agriculture? Plant Cell. 2006; 18(3):523-528. Doi: <https://doi.org/10.1105/tpc.105.040584>
- FAO. Save and Grow: Cassava A guide to sustainable production intensification; 2013.
- García AV, Charrier A, Schikora A, Bigeard J, Pateyron S, de Tauzia-Moreau M, *et al.* *Salmonella enterica* flagellin is recognized via FLS2 and activates PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis thaliana*. Mol Plant. 2014;7(4):657-674. Doi: <https://doi.org/10.1093/mp/sst145>
- Ham J, Kim M, Lee S, Mackey D. Layered basal defenses underlie non-host resistance of *Arabidopsis* to *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. Plant J. 2007;51:604-616.
- Heath MC. Nonhost resistance and nonspecific plant defenses Curr Opin Plant Biol. 2000;3(4):315-319. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00087-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00087-X)
- Jehle AK, Lipschis M, Albert M, Fallahzadeh-Mamaghani V, Fürst U, Mueller K, Felix G. The receptor-like protein ReMAX of *Arabidopsis* detects the microbe-associated molecular pattern eMax from *Xanthomonas*. Plant Cell 2013;25:2330-2340. Doi: <https://doi.org/10.1105/tpc.113.110833>
- Lacombe S, Rougon-Cardoso A, Sherwood E, Peeters N, Dahlbeck D, van Esse HP, *et al.* Interfamily transfer of a plant pattern-recognition receptor confers broad-spectrum bacterial resistance. Nat Biotech. 2010;28:365-369. Doi: <https://doi.org/10.1038/nbt.1613>
- López CE, Bernal AJ Cassava Bacterial Blight : Using Genomics for the Elucidation and Management of an Old Problem. Trop Plant Biol. 2012;5:117-126. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12042-011-9092-3>
- Lorang J, Kidarsa T, Bradford CS, Gilbert B, Curtis M, Tzeng S-C, *et al.* Tricking the Guard: Exploiting Plant Defense for Disease Susceptibility. Science. 2012;338:659-662. Doi: <https://doi.org/10.1126/science.1226743>
- Ma W, Wang Y, McDowell J. Focus on Effector-Triggered Susceptibility. Mol Plant Microbe Interact. 2018;31(1):5. Doi: <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-17-0275-LE>
- McCallum EJ, Anjanappa RB, Gruissem W. Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). Curr Opin Plant Biol 2017;38:50-58. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.008>
- Mendes B, Cardoso S, Boscardiol-Camargo R, Cruz R, Mourão A, Bergamin A. Reduction in susceptibility to *Xanthomonas*

- axonopodis* pv *citri* in transgenic *Citrus sinensis* expressing the rice *Xa21* gene. *Plant Pathol.* 2010;59:68-75.
- Meyer D, Lauber E, Roby D, Arlat M, Kroj T. Optimization of pathogenicity assays to study the Arabidopsis thaliana-*Xanthomonas campestris* pv *campestris* pathosystem. *Mol Plant Pathol.* 2005; 6:327-333.
- Monteiro F, Nishimura MT. Structural Functional and Genomic Diversity of Plant NLR Proteins: An Evolved Resource for Rational Engineering of Plant Immunity. *Annu Rev Phytopathol.* 2018;56:243-267. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045817>
- Mysore K, Ryu C-M. Nonhost resistance: how much do we know? *Trends Plant Sci.* 2004;9(2):97-104. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2003.12.005>
- Peng Y, van Wersch R, Zhang Y. Convergent and Divergent Signaling in PAMP-Triggered and Effector-Triggered Immunity. *Mol Plant Microbe Interact.* 2018;31(4):403-409. Doi: <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-17-0145-CR>
- Saijo Y, Loo EP, Yasuda S. Pattern recognition receptors and signaling in plant-microbe interactions. *Plant J.* 2018;93(4):592-613.
- Seo S, Matthews KR. Influence of the plant defense response to *Escherichia coli* O157:H7 cell surface structures on survival of that enteric pathogen on plant surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(16):5882-5889. Doi: <https://doi.org/10.1128/aem.01095-12>
- Stam R, Mantelin S, McLellan H, Thilliez G. The role of effectors in nonhost resistance to filamentous plant pathogens. *Front Plant Sci.* 2014;5:582. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00582>
- Trujillo CA, Ochoa JC, Mideros MF, Restrepo S, López C, Bernal A. A Complex Population Structure of the Cassava Pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Recent Years in the Caribbean Region of Colombia. *Microb Ecol.* 2014;68:155-167. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0411-8>
- Xu RQ, Blanvillain S, Feng J-X, Jiang BL, Li X-Z, Wei H-Y, et al. AvrAC(Xcc8004) a type III effector with a leucine-rich repeat domain from *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* confers avirulence in vascular tissues of Arabidopsis thaliana ecotype Col-0. *J Bacteriol.* 2008;190:343-355. Doi: <https://doi.org/10.1128/JB.00978-07>
- Zhao B, Lin X, Poland J, Trick H, Leach J, Hulbert S. A maize resistance gene functions against bacterial streak disease in rice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(43):15383-15388 Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0503023102>
- Ziska LH, Runion GB, Tomecek M, Prior SA, Torbet HA, Sicher R. An evaluation of cassava sweet potato and field corn as potential carbohydrate sources for bio-ethanol production in Alabama and Maryland. *Biomass Bioenerg.* 2009; 33(11):1503-150. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.07.014>