PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
FACULTAD DE AGRONOMIA E INGENIERIA FORESTAL
DIRECCION DE INVESTIGACION Y POSTGRADO
MAGISTER EN FISIOLOGÍA Y PRODUCCIÓN VEGETAL

ESTUDIO DE FACTORES MEDIOAMBIENTALES PARA EL DESARROLLO DE PUDRICIÓN NEGRA CAUSADA POR *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Tesis presentada como requisito para optar al grado de

Magister en Fisiología y Producción Vegetal

por:

Víctor Chue Caneleo

Comité de Tesis
Profesor Guía: Marlene Rosales
Profesor Informante:
Samuel Contreras

2020
Santiago-Chile

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a la Pontificia Universidad Católica de Chile y al proyecto ID18I10187 que permitió realizar este trabajo.

En segundo lugar, a la profesora Marlene Rosales por permitirme formar parte de este proyecto, al profesor Samuel Contreras por su soporte incondicional, y a los profesores Francisco Albornoz y Jorge Leigh. Especialmente agradezco a las investigadoras Marcela Muñoz y Elizabeth Peña por su gran apoyo en el ámbito académico y personal.

Le agradezco a mi madre Soledad por su eterno apoyo, a Paula por su ayuda y a Luna.

Índice

Tabla de contenidos

Abstract 6

CAPÍTULO 1: Características generales y epidemiología de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 7

Introducción 8

Enfermedades causadas por *Xanthomonas* 9

Características morfológicas de *Xanthomonas* 10

Xanthomonas campestris* pv. *campestris 10

Epidemiología 11

Rango de hospederos 11

Distribución mundial 12

Ciclo de vida 12

Inóculo inicial 12

Colonización 13

Infección de la semilla 13

Síntomas 14

Efecto de las condiciones ambientales en el desarrollo de la enfermedad 16

Diseminación 20

Sobrevivencia 20

Manejos y tratamientos 24

Manejos culturales 24

Rotación de cultivos 24

Control de malezas 25

Manejos relacionados a la semilla 25

Uso de semilla limpia y tratamiento de agua caliente 25

Tratamiento con antibióticos 26

Uso de cobre 26

Uso de microorganismos benéficos 26

Bacteriófagos 26

Bacillus, Pseudomonas y cepas no patogénicas 27

Resistencia del hospedero 27

Conclusiones 29

Referencias 30

CAPÍTULO 2: Estudio de factores medioambientales para el desarrollo de la pudrición negra en brásicas causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 40
Introducción 41
Materiales y métodos 43
Determinación de presencia de Xcc y detección de Xcc 43
Datos meteorológicos 44
Determinación de umbrales de sobrevivencia de Xcc 45
Determinación de rangos de probabilidad de desarrollo de la enfermedad 45
Análisis de datos mensuales 46
Análisis de datos anuales 47
Resultados 48
Identificación de Xcc 48
Parámetros climáticos 48
Región Metropolitana 48
Región de O'Higgins 49
Región del Maule 51
Región de Ñuble 52
Análisis de aparición de la enfermedad 52
Región Metropolitana 52
Región de O'Higgins 53
Región del Maule 55
Región de Ñuble 57
Análisis anual 58
Discusión 59
Conclusiones 66
Resumen 67
Referencias 68

Estudio de factores medioambientales para el desarrollo de la pudrición negra en brásicas causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Víctor Chue Caneleo

Laboratorio de Fitopatología Molecular. Departamento de Ciencias Vegetales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

Abstract

Víctor Chue. Study of environmental factors for the development of black rot in brassicas caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Tesis, *Magister* en Fisiología y Producción Vegetal, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 73 pp. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* is one of the most important pathogens in brassica production. This pathogen spreads throughout seeds and colonizes plants throughout hydathodes provoking injury to the margins of the leaf in "V" shapes. Survival and development of *Xcc* can be affected by environmental factors such as temperature and relative humidity. The aim of this work was to analize the predisposing factors based on temperature and relative humidity, which may favor the appearance of *Xcc* in the central region of Chile. A total of 30 weather stations distributed among Metropolitana and the Ñuble region were analysed. Mean minimum temperature, mean temperature, mean maximum temperature and mean relative humidity of the last 5 years were analysed and were compared to environmental conditions described to *Xcc*. The results varied between region and type of prediction. Summer months were more likely to *Xcc* development. However, when mean minimum temperature and mean temperature were evaluated, the results were low probabilities of the appearance of *Xcc*. Climatic conditions of Chile may not be favourable to development of *Xcc*, although this pathogen has been reported in regions with similar climatic conditions of Chile, furthermore, it should be considered that pathogens can adapt to local conditions and climate change effects on microorganisms distribution.

Key words: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, temperature, relative humidity, forecast.

CAPÍTULO 1: Características generales y epidemiología de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Introducción

En el mundo se han reconocido cerca de 1600 especies de bacterias, la mayoría saprofíticas que generan beneficios a la salud humana. De ellas, 100 se han descrito como causantes de enfermedades en plantas, capaces de generar marchitez, decaimiento, clorosis, cancros o necrosis. Estas bacterias se pueden agrupar en géneros tales como *Agrobacterium, Clavibacter, Erwinia Pseudomonas, Ralstonia, Streptomyces,* y *Xanthomonas*, las que que se diferencian entre sí por la morfología y en ciertos casos, por los síntomas ocasionados (Agrios, 2005). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris (Xcc)* causa la enfermedad conocida como pudrición negra o mancha angular en brásicas. Esta es la enfermedad bacteriana más dañina que afecta a la familia *Brassicaceae,* ya que genera pérdidas económicas y afecta a la mayoría de las especies pertenecientes a esta familia (Bhat *et al.,* 2010; Muhiar y Khalaif, 2000), reportándose que en cultivos de repollo ha registrado pérdidas que alcanzan el 100% de la cosecha (Massomo *et al*., 2003) y en el caso de coliflor, se indican pérdidas en calidad y rendimiento de entre un 10-50% (Singh *et al*., 2011). Al igual que las brásicas, la pudrición negra es cosmopolita y se presenta en diferentes zonas climáticas (CABI, 2020).

Xcc puede sobrevivir en suelo, restos vegetales y malezas, diseminarse por semillas, riego, lluvia y herramientas de trabajo (Agrios, 2005; Kuan *et al*., 1986; Vicente y Holub, 2013); puede colonizar la semilla a través de las flores, en cosecha o en almacenamiento (Köhl y Van der Wolf, 2005; Van der Wolf *et al*., 2013; Van der Wolf *et al*., 2019). La pudrición negra es una enfermedad vascular y sus síntomas iniciales son manchas cloróticas en forma de “V”, estas lesiones comienzan en los bordes y culminan con necrosis de la hoja completa incluyendo el sistema vascular (Williams, 1980).

El manejo de esta enfermedad se basa principalmente en tratamientos de desinfección de semillas, uso de variedades resistentes y control químico, basado en antibióticos y cobre. Sin embargo, estas estrategias resultan ineficientes. Por ejemplo, el uso de antibióticos como estreptomicina ha generado la aparición de cepas resistentes que sugiere la necesidad de buscar otro tipo de manejos (Agrios, 2005; Saint *et al*., 2008). A causa de lo anterior, han surgido estrategias de manejo alternativas basadas en control

biológico como el uso de bacteriófagos, bacterias del género *Bacillus, Pseudomonas* y cepas no patogénicas de *Xcc* efectivas en el control de la enfermedad, además, se ha descrito resistencia en algunas especies (Aires *et* al., 2011; Mishra y Arora, 2012; Nagai *et al*., 2017; Umesha y Roohie, 2017).

Esta revisión bibliográfica tiene como objetivo describir el rango de hospederos y distribución mundial de la pudrición negra, así como también la epidemiología, el control y manejo del patógeno.

Enfermedades causadas por *Xanthomonas*

El género *Xanthomonas* comprende 27 especies que causan enfermedades graves en casi 400 plantas (124 monocotiledóneas y 268 dicotiledóneas),(Leyns *et al*., 1984). El rango de especies que pueden colonizar es amplio, se han descrito *Xanthomonas* causantes de enfermedades en banana (Tushemereirwe *et al*., 2004), tomate y pimiento (Jones *et al*., 2000), arroz (Sharma *et al*., 2017) y diversas especies pertenecientes a la familia *Brassicaceae* (Jensen *et al*., 2010).

La mayoría de estos patógenos producen manchas foliares, clorosis, necrosis y muerte de las plantas (Figura 1). Al ingresar al sistema vascular pueden diseminarse sistemáticamente y colonizar todo el tejido vegetal generando marchitamiento, muerte de brotes, cancros o una combinación de éstos. Sin embargo, el desarrollo y tipo de síntomas expresado depende de las condiciones medioambientales y del cultivar.

Figura 1. Plantas de repollo infectadas por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Rudolph, 1993).

Características morfológicas de *Xanthomonas*

Las células tienen forma de bastón o varilla recta de 0,4-0,6 por 0,8-2,0 micrómetros. Son bacterias gram negativa y son capaces de moverse, ya que poseen un solo flagelo polar y no forma esporas. Son aeróbicas obligadas, dado que el oxígeno lo utilizan como aceptor de electrones terminales. Las colonias son usualmente amarillas, lisas y mucoides o viscosas (Saddler y Bradbury, 2015).

Xanthomonas campestris* pv. *campestris

X. campestris fue reportada por primera vez en Iowa, Estados Unidos en nabo como *Bacillus campestris* (Pammel, 1895), luego en 1898 en repollo y en 1922 en coliflor (Jorstad, 1922). Está presente en distintos países como Bulgaria, Australia, Israel, Thailandia, Yugoslavia, entre otros (CABI, 2020). Las características bioquímicas de Xcc son: catalasa positiva, hidrogeno sulfuro positivo, oxidasa negativa y no produce nitrato o indol. En medios de cultivo genera un color amarillo debido a la producción de polisacáridos extracelulares (xantano), además, hidroliza almidón por lo que puede ser detectada a través del medio selectivo Schaad's y su crecimiento se ve inhibido o retardado por rangos de pH ácidos (Gupta *et al*., 2013).

Epidemiología

Rango de hospederos

Xcc ha sido reportada como patogénica a la mayoría de los miembros de las brásicas tales como nabo, repollo, col, brócoli, coliflor, rábano, colinabo, berro y arabidopsis, incluyendo además malezas como bolsita del pastor (Tabla 1). En especies de interés comercial pertenecientes a la familia *Solanaceae, Malvaceae, Cucurbitaceae, Umbileferae, Leguminoceae y Graminaceae* no ha sido reportada una interacción positiva y en ensayos de infección artificial demostraron una reacción negativa al desarrollo de la enfermedad (Bhat *et* al., 2010; Muhiar y Khalaif, 2000; Simpson y Johnson, 1990).

Tabla 1. Hospederos con patogenicidad positiva pertenecientes a la familia *Brassicaceae* para *Xanthomonas campestris* pv. *campestris.*

Autor	Nombre común	Nombre científico
Simpson y Johnson (1990)	Arabidopsis	*Arabidopsis thaliana*
Muhiar y Khalaif (2000)	Brócoli	*Brassica oleracea* var. *italica*
	Repollo	*Brassica oleracea* var. *capitata*
	Coliflor	*Brassica oleracea* var. *botrytis*
Bhat *et al.* (2010)	Col	*Brassica oleracea* var. *caulorapa*
	Kale	*Brassica oleracea* var. *acephala*
	Nabo	*Brassica rapa*
	Mostaza	*Brassica campestris*
	Rábano	*Raphanus sativus*
	Bolsita del pastor	*Capsella bursa-pastori*

Distribución mundial

El patógeno está ampliamente distribuido por el mundo, alcanzando zonas tropicales y mediterráneas (Figura 2).

Figura 2. Distribución mundial de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (CABI, 2020).

Ciclo de vida

El ciclo infectivo de las Xanthomonas puede dividirse en dos etapas, una epifítica y otra endofítica. La fase epifítica se inicia cuando las bacterias entran en contacto con los tejidos aéreos, hojas o frutos, y continua hasta que las bacterias ingresan al hospedero vía aberturas naturales o heridas. Una vez dentro del hospedero, las bacterias comienzan con su fase endofítica, llegando a colonizar al hospedero. Una vez que la bacteria alcanza altas poblaciones, las bacterias pueden re-emerger a la superficie de las hojas, para ser transmitidas por el viento o la lluvia a un nuevo hospedero, para comenzar un nuevo ciclo infectivo (Moreira *et al*., 2015; An *et al*., 2020).

Inóculo inicial

La fuente más común de inóculo primario de Xcc corresponde a semillas infectadas (Cook *et al*., 1952), en menor medida pueden ser fuente de inóculo plantines infectados,

restos de cultivos anteriores y hospederos alternativos, como malezas del mismo género, además de suelo, maquinaria infectada y materiales (Köhl y Van Der Wolf, 2005).

Colonización

Xcc ingresa a su hospedero a través de microgotas que toman contacto con los hidátodos cuando las gotas de gutación contaminadas son reabsorbidas por la planta. También puede hacerlo mediante los estomas o heridas y colonizar de manera intercelular hasta llegar a los vasos xilemáticos donde se establecen para multiplicarse y diseminarse por toda la planta, incluso hasta las semillas en formación, lo que sugiere que el movimiento vascular es esencial para el desarrollo de la enfermedad. En el caso de plántulas provenientes de semillas infectadas, *Xcc* invade el mesófilo y el tejido vascular del epicotilo (Agrios, 2005; Kuan *et al*., 1986; Vicente y Holub, 2013). Desde la inoculación de *Xcc* hasta la aparición de síntomas hay un periodo de 4-5 días para las especies reportadas como hospederos (Tabla 1) (Bath *et al*., 2010).

Infección de la semilla

a) Invasión de la semilla a través del movimiento sistémico por el sistema vascular

En producción de semillas, los síntomas de la pudrición negra se desarrollan en las etapas finales de la floración (Cook *et al*., 1952), periodo en el cual el sistema vascular de brotes, pedicelos y vainas están completamente colonizados por *Xcc.* Al llegar a las silicuas el patógeno ingresa hasta los funículos y posteriormente a la superficie de la semilla. Cuando *Xcc* coloniza el funículo y la superficie de la semilla es probable que resista a los tratamientos químicos y de agua caliente (Köhl y Van der Wolf, 2005).

b) Invasión de la semilla vía flores

Otra forma de ingreso de los patógenos es a través de las flores. Se ha reportado que *Erwinia amylovora* puede ingresar por estigma, polen, anteras y sépalos de pera (Van der Zwet *et al*., 1988). En sandía, se ha reportado que el patógeno *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* puede ingresar por medio de las flores (Walcott *et al*., 2005).

Xcc ingresa naturalmente por los hidátodos desde donde comienza la infección y colonización del sistema vascular y, posteriormente, la planta completa o, en su defecto, la infección puede provenir desde una semilla infectada. En repollo, la inoculación con

Xcc en la flor generó un 65% de semillas infectadas (Van der Wolf *et al*., 2013). Además, el patógeno puede ingresar al interior de la semilla y depositarse en el endosperma y embrión, pudiendo resistir tratamientos de calor aplicados a la semilla (Van der Wolf *et al*., 2019).

c) Contaminación de semillas en la cosecha

Durante la trilla, las semillas pueden entrar en contacto con silicuas, hojas y tallos enfermos generándose una contaminación externa, lo que puede ocurrir también en la limpieza y almacenamiento. Probablemente *Xcc* se deposita en la superficie de la semilla (Köhl y Van der Wolf, 2005).

*Sí*ntomas

El típico síntoma de *Xcc* es la formación de una lesión clorótica amarilla en forma de "V" con el vértice hacia la vena central de las hojas en conjunto con un oscurecimiento de las venas, el cual es provocado por la presencia de la bacteria a través del sistema vascular, ya que al mismo tiempo que se multiplica en el xilema, ocurre la desintegración de éste y una dispersión sistemática a través de las células parenquimáticas circundantes que finalmente son descompuestas y ocurre cavitación (Agrios, 2005) (Figura 3 y 4). El área afectada cambia de clorótica a necrótica, el tejido afectado se necrosa y las hojas caen prematuramente, además, hay retraso en el crecimiento y muerte de plantas (Schaad y Thaveechai, 1983; Vicente y Holub, 2013) (Figura 5). El oscurecimiento de las venas avanza hasta el tallo, hojas superiores e inferiores y raíces, incluso se observan gotas amarillas y cavidades de bacterias en los tallos. Si la enfermedad se produce en estados más avanzados, las pellas de brócoli y coliflor son colonizadas por la bacteria y se genera una decoloración, al igual que en las raíces de los nabos y rábanos, provocándose una pudrición debido a la destrucción del tejido (Agrios, 2005) (Figura 6).

Figura 3. Síntomas iniciales característicos de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Singh *et al*., 2018).

Figura 4. Síntomas iniciales característicos de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (CABI, 2020).

Figura 5. Muerte de tejido foliar causado por una infección severa de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (CABI, 2020).

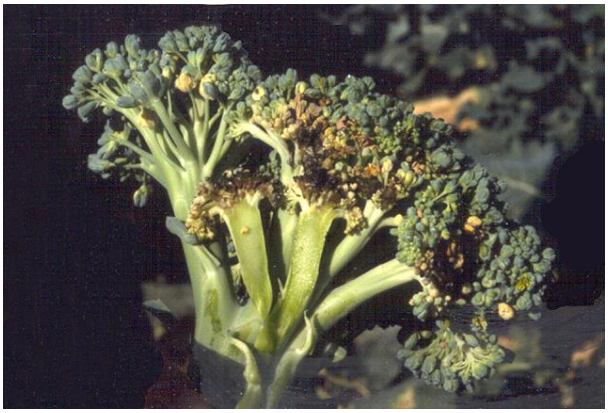

Figura 6. Pella de brócoli presentando decoloración a causa de la colonización de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Berkeley University of California, 2019).

Efecto de las condiciones ambientales en el desarrollo de la enfermedad

a) Temperatura

En las regiones temperadas, las bajas temperaturas en conjunto con la lluvia, viento y heladas no permiten cumplir con los requerimientos mínimos para el desarrollo de la enfermedad. Con el aumento de las temperaturas, los patógenos comienzan a activarse y cuando las condiciones son completamente favorables, pueden infectar plantas y generar enfermedad (Agrios, 2005). En el caso de *Xcc,* altas temperaturas son las que favorecen su infección y multiplicación (Wulf *et al*., 2002). Aun cuando las altas temperaturas favorecen el desarrollo de la enfermedad, temperaturas sobre 40°C

inhiben el crecimiento de *Xcc* al igual que menores a 5°C, siendo su óptimo entre 25-30°C (Ruissen *et al*., 1993). Jarial y Shyam (2005) reportaron resultados similares, encontrando que el óptimo crecimiento de la bacteria se obtiene a los 30°C, sobre ese punto decrece al igual que bajo los 15°C.

b) Humedad

La humedad influye en la iniciación y desarrollo de la infección de la enfermedad. En la medida que exista humedad a causa de la lluvia o riego en la superficie de la planta o en las raíces, habrá mayor posibilidad de una infección causada por *Xcc.* La función de la humedad es indispensable para la activación de la germinación y penetración de esporas de hongos y para la activación de bacterias y nemátodos. Este factor ambiental también influye en la diseminación de las bacterias, ya que en la medida en que las gotas de agua entren en contacto con la superficie de la planta y se distribuyan, ésta será capaz de movilizarse en conjunto con el agua, además, al aumentar la humedad se genera un aumento de la suculencia de las plantas lo que facilita la colonización de *Xcc* (Agrios, 2005).

La ocurrencia de las enfermedades en ciertas regiones puede estar relacionada directamente con el contenido y distribución de lluvias dentro de un año. *Xcc* se ve favorecida por la alta humedad y la presencia de agua, ya que favorece su diseminación ya sea a través de lluvia, riego o salpicaduras. Incluso, la humedad favorece una rápida multiplicación dentro de la planta, dado que en la medida que el hospedero tenga mayor humedad disponible, puede proveer a *Xcc* de la humedad necesaria para activarse y multiplicarse, generando un mayor daño en el tejido y, en consecuencia, habrá mayor presencia de bacterias en el tejido del hospedero aumentando la probabilidad de dispersión hacia tejidos y plantas sanas (Agrios, 2005).

El efecto de la humedad depende en el medio que se encuentre *Xcc.* Si bien la mayor humedad relativa y humedad en la filósfera permiten un mayor desarrollo y multiplicación del patógeno, en el suelo la relación es diferente. En suelos completamente saturados (0 kPa) la sobrevivencia de *Xcc* se reduce en al menos un 22% en comparación con suelos más secos (<-30 kPa). Lo anterior se debe a que la saturación completa de los suelos genera un ambiente anaeróbico el cual es perjudicial para los organismos

aeróbicos como *Xcc* (Arias *et al*., 2000). Flores *et al*. (1994) demostró que bajos niveles de oxígeno reducen el metabolismo de *Xcc* a través de la disminución en la producción de xantano, por lo tanto, las condiciones anaeróbicas en el suelo no permiten la sobrevivencia, desarrollo y multiplicación de este patógeno.

c) Precipitación

La presencia de precipitaciones favorece a *Xcc.* Por una parte, las precipitaciones generan humedad lo que potencia la aparición de la enfermedad sobre todo si se acompaña de temperaturas cálidas (Agrios, 2005; Williams, 1980). Por otro lado, la lluvia es fundamental para la dispersión del patógeno, ya que a través de las gotas y salpicaduras es capaz de movilizarse hacia tejidos o plantas sanas, aumentando la incidencia (Sharma *et al*., 2018).

d) pH

El pH del suelo es un factor importante en la ocurrencia y severidad de las enfermedades de plantas, ya que determina el éxito o fracaso de la sobrevivencia en suelos y posterior infección al hospedero (Agrios, 2005). Trabajos en laboratorio han determinado que pH de 6 a 7 en conjunto con temperaturas de 28-30°C son los óptimos para el crecimiento de *Xcc*, pero de igual forma se puede desarrollar entre pH 3 y 8 (Jarial y Shyam, 2005).

Si bien el pH puede afectar al crecimiento de las bacterias, el efecto de este parámetro es más relevante al relacionarse con la disponibilidad de nutrientes en el suelo o medio de crecimiento en el que se encuentra el hospedero (Agrios, 2005). La mayoría de los cultivos prefieren un rango de pH de 6 a 7, mientras que especies como la frambuesa se desarrollan mejor en pH ácidos. La acidificación del suelo es causada por el contenido de protones los cuales pueden provenir de lluvias o riegos excesivos que desplazan a los cationes a capas más subterráneas del suelo, tipo de suelo o capacidad de intercambio catiónico de cada suelo (CIC) (Miller, 2016). Cualquiera sea la razón de la acidificación del suelo, ocurrirán los siguientes procesos (Fernández y Hoeft, 2009):

- La disponibilidad de metales solubles tales como aluminio y manganeso serán mayores y podrían alcanzar niveles tóxicos.

- La población de microorganismos encargados de la transformación de N, S y P para la disponibilidad de la planta se reduce.
- El calcio se vuelve deficiente debido a su menor solubilidad

En la Figura 7 se describen cambios en la disponibilidad de nutrientes según el pH.

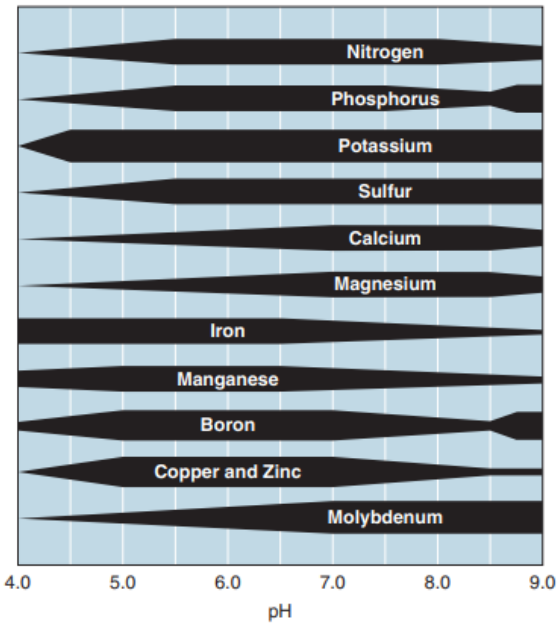

Figura 7. Efectos del pH sobre la disponibilidad de nutrientes (Fernández y Hoeft, 2009).

e) Nutrientes y su relación con los patógenos

La composición de macro y micronutrientes en las plantas hospederas tiene un efecto significativo en la resistencia y susceptibilidad al ataque de patógenos (Rathi *et al*., 2015). En general, potasio (K), azufre (S), calcio (Ca), magnesio (Mg), cobre (Cu), manganeso (Mn) y silicio (Si) son los nutrientes más importantes para las plantas en relación con la defensa en contra de patógenos, sin embargo, todos los nutrientes son necesarios para un estado saludable del hospedero lo que reduce las posibilidades de desarrollo de la enfermedad (Meena *et al*., 2016).

Nitrógeno (N)

La presencia de nitrógeno en la planta es necesaria para el normal funcionamiento de ella, pero niveles excesivos pueden aumentar la susceptibilidad a las enfermedades, ya que se pueden generar plantas con excesivo follaje, alargamiento del periodo vegetativo, deleción o retraso de la maduración y producción temprana provocando. Estos efectos

hacen que la planta sea más susceptible a los ataques de patógenos (Agrios, 2005; Meena *et al*., 2016). Trabajos anteriores han demostrado que la fertilización con nitrógeno reduce los niveles de crecimiento sistémico de *Xcc,* así como también los síntomas (McElhaney *et al*., 1998).

Diseminación

La principal manera de diseminación de la bacteria Xcc es a través de la semilla, ya sea en la superficie o en su interior. Si alguna semilla se establece, la enfermedad se puede transmitir en la producción de almácigos y ser trasplantados a campo, además, en la producción de almácigos de brásicas el sistema de riego por aspersión puede aumentar significativamente el riesgo de diseminar *Xcc* y obtener un cultivo infectado (Roberts *et al*., 2007; Sharma *et al*., 2018). Un factor importante en la diseminación de *Xcc* es el flujo de agua, ya que las gotas procedentes de la lluvia o riego pueden dispersar al patógeno dentro de la misma planta o a plantas vecinas. Si el suelo contiene restos vegetales infectados o el patógeno esta adherido a las partículas de suelo, este puede diseminarse a través de las personas, maquinaria o animales. El uso de herramientas contaminadas también actúa como una fuente de diseminación (Sharma *et al*., 2018).

La diseminación también puede ocurrir a través de insectos. La presencia de moscas (*Calliphora vomitoria)*, utilizada para la polinización, favorece la dispersión de *Xcc,* ya que puede sobrevivir hasta 5 días en asociación con el insecto y transmitirse durante la polinización de coliflor incluso hasta la semilla en formación (Van der Wolf *et al*., 2006; Van der Wolf *et al*., 2010). Shelton y Hunter (1985) reportaron que *Phyllotreta cruciferae* puede transmitir *Xcc* al alimentarse de una planta contaminada y luego de una planta sana.

Sobrevivencia

Xcc puede sobrevivir en el suelo, malezas, restos vegetales, semillas y en insectos. Este patógeno puede sobrevivir entre 20 y 40 días en el suelo sin la presencia de su hospedero (Dane y Shaw, 1996), pero en suelos saturados en humedad la sobrevivencia es de 19-28 días, mientras que en suelos totalmente secos la población de *Xcc* se mantuvo constante en dicho periodo (Arias *et al*., 2000). En condiciones tropicales, de alta humedad y temperatura, *Xcc* sobrevive de 4-7 días en suelo (Junior *et al*., 2020).

La sobrevivencia de *Xcc* asociada a residuos de repollo se ha reportado de 384 días (Schultz y Gabrielson, 1986) y de 225 días en restos vegetales de coliflor (Junior *et al*., 2020). Arias *et al.* (2000) reportó que no hay diferencia significativa en la sobrevivencia de *Xcc* en la filósfera de repollo, mostaza y lechuga (48 días), pero que en arroz fue significativamente menor (9 días). Además, este patógeno puede sobrevivir en la rizósfera o filósfera de distintas malezas, con tiempos desde 0 a 50 días en la rizósfera y de 0 a 455 días en la filósfera, lo que sugiere que la sobrevivencia en la rizosfera o filósfera es dependiente de la especie a la que esté asociada (Silva *et al*., 2017).

En insectos la sobrevivencia de *Xcc* se ha demostrado que puede ser de hasta 5 días en *Calliphora vomitoria*, periodo en el cual puede trasmitir la bacteria (Van der Wolf *et al*., 2006; Van der Wolf *et al*., 2010). En la tabla 2 se observan las maneras y tiempos de sobrevivencia de *Xcc.*

Tabla 2. Formas y tiempo de sobrevivencia de Xanthomonas campestris pv campestri bajo distintas condiciones

Autor	**Sobrevivencia (días)**	**Condiciones evaluadas**
Dane y Shaw (1996)	20-40	Suelo
Arias *et al*. (2000)		Suelo
	19-28	-0 kPa
	>28	-10 kPa
	>28	-50 kPa
	>28	-100 kPa
	>28	-200 kPa
	>28	-900 kPa
Junior *et al*. (2020)	4-7	Condiciones tropicales en Botucatu, Brasil
Schultz y Gabrielson (1986)	384	Restos vegetales de repollo
Junior *et al*. (2020)	225	Restos vegetales de coliflor
Arias *et al*. (2000)	48 en filósfera	Repollo
	48 en filósfera	Mostaza
	48 en filósfera	Lechuga
	9 en filósfera	Arroz
Silva *et al*. (2017)	25,1 en filósfera	*Alternanthera tenella*
	20,9 en rizosfera	
	13,9 en filósfera	*Amaranthus viridis*
	46,7 en rizosfera	
	116,3 en filósfera	*Bidens pilosa*
	31,6 en rizosfera	
	34,6 en filósfera	*Brachiaria decumbens*
	28,2 en rizosfera	
	42,4 en filósfera	*Cenchrus echinatus*
	20 en rizosfera	
	92 en filósfera	*Commelina benghalensis*

20,1 en rizosfera 71,2 en filósfera	*Conyza bonariensis*
39,7 en rizosfera 57,2 en filósfera	*Cyperus rotundus*
27,8 en rizosfera 44,2 en filósfera	*Datura stramonium*
21,9 en rizosfera 16,2 en filósfera	*Digitaria insularis*
29,2 en rizosfera 108,5 en filósfera	*Emilia fosbergii*
36,3 en rizosfera 127,1 en filósfera	*Euphorbia heterophylla*
51,6 en rizosfera 150,6 en filósfera	*Galinsoga parviflora*
29 en rizosfera 106,2 en filósfera	*Gnaphalium purpureum*
34,5 en rizosfera 133,1 en filósfera	*Ipomoea triloba*
30,4 en rizosfera 77,6 en filósfera	*Leonurus sibiricus*
20,3 en rizosfera 209,3 en filósfera	*Lepidium virginicum*
36,3 en rizosfera 85,3 en filósfera	*Nicandra physalodes*
49,7 en rizosfera 77,7 en filósfera	*Physalis angulata*
50 en rizosfera 86,2 en filósfera	*Portulaca oleracea*
48,5 en rizosfera 454,9 en filósfera	*Raphanus raphanistrum*
104,2 en rizosfera 38,2 en filósfera	*Rhynchelytrum repens*
28,2 en rizosfera	

	175,9 en filósfera 42,2 en rizosfera	*Richardia brasiliensis*
	87,6 en filósfera 28,1 en rizosfera	*Senna obtusifolia*
	84,7 en filósfera 42,8 en rizosfera	*Sida rhombifolia*
	78,5 en filósfera 30,1 en rizosfera	*Sonchus oleraceus*
Van der Wolf *et al*. (2006)		
Van der Wolf *et al*. (2010)	5 en el insecto	*Calliphora vomitoria*

Manejos y tratamientos

Los manejos y tratamientos usados tradicionalmente para el control de *Xcc* se han basado en el uso de antibióticos y cobre aplicado a las plantas y desinfecciones químicas o agua caliente a la semilla (Agrios, 2005; Vicente y Holub, 2019). Sanitización y manejos agronómicos tales como rotación de cultivos, control de malezas y uso de semillas limpias son efectivos en la prevención de *Xcc* (Schaad y Álvarez, 1993). Dada la contaminación generada por el uso de cobre, en conjunto con la resistencia que ha provocado al igual que los antibióticos, es que se han propuesto nuevos métodos de control de la enfermedad a través de resistencia, bacteriófagos, y bacterias biocontroladoras como *Pseudomonas* y *Bacillus.* Un manejo integrado sobre *Xcc* es necesario para controlar la enfermedad, evitar resistencias y disminuir los productos químicos liberados al medio ambiente (Elsisi, 2017; Ha *et al*., 2015; Lema *et al*., 2012; Lugo *et al*., 2013).

Manejos culturales

Rotación de cultivos

La rotación de cultivos consiste en cambiar las especies que se han producido en un área determinada por otra que no pertenezca a la misma familia, con el objetivo de

romper ciclos biológicos de plagas, enfermedades y malezas. Además, se mejora la estructura del suelo, el contenido de nutrientes, se reduce la erosión del suelo y aumenta la biodiversidad de microorganismos (Reddy *et al*., 2017). Se ha observado que *Xcc* puede sobrevivir en el suelo 40 días y si existen restos vegetales de repollo o coliflor, aumenta a más de un año (Arias *et* al., 2020; Dane y Shaw, 1996). Especies de interés comercial tales como tomate, pimiento, sandía o melón no han sido reportadas como hospederos de *Xcc* a través de pruebas artificiales de patogenicidad, por lo que se deben considerar en una rotación de cultivos (Bhat *et al.,* 2010). Para que la rotación de cultivos sea efectiva en el control de *Xcc* se recomienda que no se produzcan especies hospederas de la bacteria en la misma área en 2-4 años, dada su gran capacidad de sobrevivencia en restos vegetales de brásicas tales como repollo o coliflor (Junior *et* al., 2020; Reddy *et al*., 2017; Schultz y Gabrielson (1986).

Control de malezas

Las malezas compiten directamente por luz, agua y nutrientes con el cultivo pudiendo reducir el rendimiento significativamente (Bastiaans *et al*., 2000), además, pueden ser reservorio de plagas y enfermedades, por lo que un control efectivo de malezas es clave en la sanidad del cultivo (Agrios, 2005; Owen *et al*., 2015). La maleza *Capsella bursa-pastori* es hospedera de *Xcc* (Bhat *et al*, 2010), además, el patógeno puede sobrevivir hasta 450 días en la rizósfera de *Raphanum raphanistrum,* (Silva *et al*., 2017), por lo tanto, se deben controlar especialmente las malezas pertenecientes a la familia *Brassicaceae*.

Manejos relacionados a la semilla

Uso de semilla limpia y tratamiento de agua caliente

La mejor manera de evitar que la enfermedad esté presente es utilizar semilla limpia y libre del patógeno. Si no fuese el caso, el uso de agua caliente en las semillas para la eliminación de *Xcc* ha sido ampliamente adoptado. Este consiste en exponer por 10-30 minutos las semillas en agua a 50°C para remover el patógeno de la semilla (Agrios, *et al*., 2005). La aplicación de agua a 50°C por 30 minutos es efectiva para el control de *Xcc* en repollo y coliflor (Shekhawat *et al*., 1982). Pero este tratamiento solo es efectivo para el control del patógeno cuando se encuentra superficialmente, en cambio, cuando ya ha colonizado al interior de la semilla no parece ser efectivo (Var der Wolf *et al*., 2013).

Tratamiento con antibióticos

El uso de tetraciclina y estreptomicina es común para el control de *Xcc* en la semilla (Agrios, 2005). Sin embargo, se han descrito cepas de *Xcc* resistente a gentamicina, polimixina, estreptomicina, sulfidiazol, tetraciclina y vancomicina, lo que sugiere que un manejo integrado del patógeno es más apropiado (Sain *et al*., 2008), incluso si el patógeno está en el interior de la semilla puede sobrevivir al tratamiento con antibióticos (Van der Wolf *et al*., 2013).

Uso de cobre

El cobre ha sido ampliamente usado como bactericida. En *Xcc* aplicaciones de cobre en intervalos de 10 días reducen la diseminación del patógeno (Agrios, 2005). El alto uso de fungicidas en base a cobre ha generado que aparezcan cepas resistentes. Lugo *et al*. (2013) reportó que el 59% de las cepas de *Xcc* analizadas presentaba una alta resistencia al cobre. Además, este elemento puede inducir fitotoxicidad en la presencia de altas temperaturas generando puntos negros en las hojas (Nagai *et al*., 2017), incluso, reduce y estresa a la masa microbiana presente en el suelo, es mortal para algunos gusanos y disminuye las asociaciones con micorrizas (Dumestre *et* al., 1999; Liao *et* al., 2003; Maboeta *et al*., 2003).

Uso de microorganismos benéficos

Bacteriófagos

Los bacteriófagos son virus específicos que infectan bacterias para utilizar su maquinaria celular y metabólica con el objetivo de replicarse (Ackermann, 2007). Estos microorganismos son altamente específicos (Adachi *et al*., 2012), además, al bajar la carga de su hospedero tienden a disminuir, manteniendo una proporción y permitiendo conservar la estabilidad y diversidad microbiana (Paez-Espino *et al*., 2016; Salmond & Fineran, 2015; Watts, 2017). Dada la aparición de cepas resistentes o tolerantes al uso de cobre o antibióticos, en *Xcc* se han reportado bacteriófagos exitosos en el control del patógeno. El fago XcpSFC211 redujo en 30-40% la incidencia de *Xcc* en brócoli (Nagai *et al*., 2017). Este tipo de control podría reducir la aparición de resistencias, evitar la acumulación de cobre en los suelos y efectos perjudiciales a los microorganismos y ser altamente específico. El éxito de este tratamiento va a estar determinado por la forma de

aplicación, tipo de inoculación y factores ambientales como pH, temperatura y radiación (Askora *et al*., 2014; Kimmelshue *et al*., 2019; Saad *et al*., 2019; Wang *et al*., 2016).

Bacillus, Pseudomonas y cepas no patogénicas

El género *Bacillus* es uno de los más usados en el control de enfermedades, ya que producen péptidos antimicrobianos antagonistas al patógeno y también compiten e inducen resistencia (Backman *et al*., 1997; Thomashow y Weller; 1996). Los aislados *Bacillus megaterium* pv. *cerealis, Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium* tienen una acción antimicrobiana y surfactante sobre *Xcc* disminuyendo la incidencia de pudrición negra (Monteiro *et al*., 2005), resultados similares se han reportado para *Bacillus spp.* (Mishra y Arora, 2012) y *B. subtilis* inhibiendo la acción de *Xcc* (Singh *et al*., 2010). Algunas bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas* han sido reportadas como inductoras del crecimiento en plantas e inducir resistencia del hospedero hacia hongos y bacterias (Vanitha y Umesha, 2011). La aplicación de *Pseudomonas fluorescens* en las semillas de repollo redujo la incidencia de la enfermedad en un 26% debido al aumento en la actividad de la enzima peroxidasa del hospedero (Umesha y Roohie, 2017). En brócoli, Singh *et al*. (2010) reportaron una disminución de 37,6% en la incidencia de *Xcc* al usar *P. fluorescens* y *B. subtilis* al mismo tiempo, resultado menor al obtenido con estreptomicina (disminución de 45% en la incidencia). En el mismo sentido, cepas no patogénicas de *Xcc* han resultado ser efectivas en el control de la enfermedad, ya que compiten con las cepas patogénicas disminuyendo su incidencia (Nagai *et al*., 2017)

Resistencia del hospedero

Una planta es inmune a un patógeno cuando no se desarrolla enfermedad aún cuando se encuentre bajo condiciones favorables. Por otro lado, es tolerante cuando está infectada por el patógeno, pero de igual forma puede desarrollarse y producir sin verse afectado significativamente su rendimiento (Agrios, 2005). En brásicas se han reportado resistencia para mildiú en brócoli (Jiang *et al*., 2012), para *Alternaria cucumerina* en coliflor (Dhingra *et al*., 2013) y para el *Virus del mosaico del pepino* (CMV) en repollo (Sevik y Deligoz, 2017).

Para *Xcc* se han reportado resistencias en distintas especies de importancia comercial. En repollo se ha descrito resistencia a través del aumento de la actividad de chitinasa, β-1,3-glucanasa y polifenol peroxidasa y una disminución en superóxido dismutasa, peroxidasa y ascorbato peroxidasa, provocándose una disminución de la infección y estrés oxidativo (Amaral *et al*., 2019). En dobles haploides de nabo se encontró que son resistentes a 4 razas de *Xcc* (Artemyeva *et al*., 2018). En brócoli, berro y rúcula un aumento en la actividad de los glucosinolatos sería la causa en la disminución de la severidad. Mientras que resistencias encontradas en variedades de repollo no se deben al aumento en la actividad de glucosinolatos, sino que a la nula interacción hospedero-patógeno (Aires *et al*., 2011). Si bien se han reportado variadas formas de resistencia frente a *Xcc*, el éxito de este proceso no ha sido el esperado y, además, el traspaso de la resistencia de una generación a otra para hacer frente a *Xcc* ha sido descrita como compleja debido a la cantidad de genes involucrados, por lo tanto, no ha sido ampliamente aplicada a la producción comercial (Jensen *et al*., 2005; Singh *et al*., 2018).

Conclusiones

Xcc está ampliamente distribuida por el mundo y puede atacar a la mayoría de las especies de la familia *Brassicaceae* provocando la enfermedad conocida como pudrición negra o mancha angular. Xcc puede sobrevivir en variadas fuentes que actúan como inóculo primario y diseminarse principalmente por agua y semillas. Se caracteriza por ser una bacteria que se moviliza a través del sistema vascular, ingresando naturalmente por los hidátodos, pero también puede hacerlo por flores u otras estructuras. Los síntomas asociados a pudrición negra son fáciles de reconocer, pero el desarrollo de la enfermedad se afecta por factores climáticos como temperatura, precipitaciones, humedad y estado nutricional del hospedero. Dadas las resistencias que producen el uso de antibióticos y cobre, sumado a los efectivos negativos en el medio ambiente, el manejo de esta enfermedad debe ser integrado, incluyendo manejos culturales y biológicos en un futuro.

Referencias

Revistas:

Ackermann, H.-W. (2007). 5500 Phages examined in the electron microscope. Arch. Virol. 152, 227–243.

Adachi, N., Tsukamoto, S., Inoue, Y., & Azegami, K. (2012). Control of bacterial seedling rot and seedling blight of rice by bacteriophage. *Plant disease*, *96*(7), 1033-1036.

Aires, A., Dias, C. S., Carvalho, R., Oliveira, M. H., Monteiro, A. A., Simões, M. V., ... & Saavedra, M. J. (2011). Correlations between disease severity, glucosinolate profiles and total phenolics and Xanthomonas campestris pv. campestris inoculation of different Brassicaceae. *Scientia Horticulturae*, *129*(3), 503-510.

Amaral, L. S., Debona, D., Costa, L. C., R. Silva, A. L., Oliveira, J. R., & Rodrigues, F. A. (2019). Biochemical insights into basal and induced resistance in cabbage to black rot. *Journal of Phytopathology*, *167*(7-8), 390-403.

An, S. Q., Potnis, N., Dow, M., Vorhölter, F. J., He, Y. Q., Becker, A., ... & Tang, J. L. (2020). Mechanistic insights into host adaptation, virulence and epidemiology of the phytopathogen Xanthomonas. *FEMS Microbiology Reviews*, *44*(1), 1-32.

Arias, R. S., Nelson, S. C., & Alvarez, A. M. (2000). Effect of soil–matric potential and phylloplanes of rotation-crops on the survival of a bioluminescent Xanthomonas campestris pv. campestris. *European journal of plant pathology*, *106*(2), 109-116.

Artemyeva, A. M., Ignatov, A. N., Volkova, A. I., Kocherina, M. N., Konopleva, N. V., & Chesnokov, Y. V. (2018). Physiological and genetic components of black rot resistance in double haploid lines of Brassica rapa L. *Agricultural Biology (Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya)*, *53*(1), 157-169.

Backman, P. A.; Wilson, M. and Murphy, J. F. (1997), Bacteria for biological control of plant diseases. In Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control, Eds. N. A. Rechcigl and J. E. Rechcigl. Boca Rota: CRC Press. pp. 95-109.

Bastiaans L., Kropff M.J., Goudriaanb J., van Laar H.H. (2000) Design of weed management systems with a reduced reliance on herbicides poses new challenges and prerequisites for modeling crop-weed interactions, Field Crop. Res. 67, 161–179.

Berkeley University of California (2019). Black rot. California, United States. World Encyclopedia of Plant Bacterial Diseases. https://www.plantdiseases.org/black-rot-broccoli.

Bhat, N. A., Syeed, N., Bhat, K. A., & Mir, S. A. (2010). Pathogenicity and Host Range of Xanthomonas campestris pv. campestris â€"Incitant of Black Rot of Crucifers. *Journal of Phytology*.

CABI (2020). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc.

Cook, A. A., Larson, R. H., & Walker, J. C. (1952). Relation of the black rot pathogen to Cabbage seed. *Phytopathology*, *42*(6).

Dane, F. and Shaw, J.J. (1996) Survival and persistence of bioluminescent Xanthomonas campestris pv. campestris on host and non-host plants in the field environment. J. Appl. Bacteriol. 80, 73–80.

Dhingra, M., Arora, N., & Aujla, I. S. (2013). Biochemical characteristics imparting resistance against Alternaria blight in cauliflower genotypes. *Agricultural Science Digest-A Research Journal*, *33*(2), 92-97.

Dumestre, A., Sauve, S., McBride, M., Baveye, P., & Berthelin, J. (1999). Copper speciation and microbial activity in long-term contaminated soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *36*(2), 124-131.

Elsisi, A. (2017). Role of Antibiosis in Control of Cabbage Black Rot Caused by Xanthomonas campestris pv. campestris. *Egyptian Journal of Phytopathology*, *45*(2), 165-181.

Fernández, F. G., & Hoeft, R. G. (2009). Managing soil pH and crop nutrients. *Illinois agronomy handbook*, *24*, 91-112.

Flores, F., Torres, L. G., & Galindo, E. (1994). Effect of the dissolved oxygen tension during cultivation of X. campestris on the production and quality of xanthan gum. *Journal of biotechnology*, *34*(2), 165-173.

Gupta, M., Vikram, A., & Bharat, N. (2013). Black rot-A devastating disease of crucifers: a review. *Agricultural Reviews*, *34*(4), 269-278.

Jarial, K., & Shyam, K. R. (2005). Growth of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* as influenced by different temperature regimes, pH levels and liquid media. *Asian Journal of Microbiology biotechnology and environmental sciences,* 7(1), 35.

Jensen, B. D., Massomo, S. M., Swai, I. S., Hockenhull, J., & Andersen, S. B. (2005). Field evaluation for resistance to the black rot pathogen Xanthomonas campestris pv. campestris in cabbage (Brassica oleracea). *European journal of plant pathology*, *113*(3), 297-308.

Jensen, B. D., Vicente, J. G., Manandhar, H. K., & Roberts, S. J. (2010). Occurrence and diversity of Xanthomonas campestris pv. campestris in vegetable Brassica fields in Nepal. *Plant Disease*, *94*(3), 298-305.

Jiang, M., Miao, L. X., & He, C. (2012). Overexpression of an oil radish superoxide dismutase gene in broccoli confers resistance to downy mildew. *Plant Molecular Biology Reporter*, *30*(4), 966-972.

Jones, J. B., Bouzar, H., Stall, R. E., Almira, E. C., Roberts, P. D., Bowen, B. W., ... & Chun, J. (2000). Systematic analysis of xanthomonads (Xanthomonas spp.) associated with pepper and tomato lesions. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *50*(3), 1211-1219.

Júnior, T. S., Silva, J. C., Gonçalves, R. M., Soman, J. M., Passos, J. R. S., & Maringoni, A. C. (2020). Survival of Xanthomonas campestris pv. campestris associated with soil and cauliflower crop debris under Brazilian conditions. *European Journal of Plant Pathology*, *156*(2), 399-411.

Kimmelshue, C., Goggi, A. S., & Cademartiri, R. (2019). The use of biological seed coatings based on bacteriophages and polymers against Clavibacter michiganensis subsp. nebraskensis in maize seeds. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-11.

Köhl, J., & van der Wolf, J. M. (2005). *Alternaria brassicicola and Xanthomonas campestris pv. campestris in organic seed production of Brassicae: Epidemiology and seed infection* (No. 363). Plant Research International.

Kuan, T. L., Minsavage, G. V., & Schaad, N. W. (1986). Aerial dispersal of Xanthomonas campestris pv. campestris from naturally infected Brassica campestris. *Plant Disease*, *70*(5), 409-413.

Lema, M., Velasco, P., Soengas, P., Francisco, M., & Cartea, M. E. (2012). Screening for resistance to black rot in Brassica oleracea crops. *Plant breeding*, *131*(5), 607-613.

Leyns, F., De Cleene, M., Swings, J. G., & De Ley, J. (1984). The host range of the genusXanthomonas. *The Botanical Review*, *50*(3), 308-356.

Liao, J. P., Lin, X. G., Cao, Z. H., Shi, Y. Q., & Wong, M. H. (2003). Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere*, *50*(6), 847-853.

Lugo, A. J., Elibox, W., Jones, J. B., & Ramsubhag, A. (2013). Copper resistance in Xanthomonas campestris pv. campestris affecting crucifers in Trinidad. *European journal of plant pathology*, *136*(1), 61-70.

Maboeta, M. S., Reinecke, S. A., & Reinecke, A. J. (2003). Linking lysosomal biomarker and population responses in a field population of *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta) exposed to the fungicide copper oxychloride. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *56*(3), 411-418.

McElhaney, R., Alvarez, A. M., & Kado, C. I. (1998). Nitrogen limits *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* invasion of the host xylem. *Physiological and molecular plant pathology*, *52*(1), 15-24.

Meena, M. C., Meena, P. D., Shukla, A. K., Barman, M., Meena, M. K., Singh, P., & Kumar, A. (2016). Role of plant nutrients in enhancing productivity and managing diseases of oilseed Brassica. *Journal of Oilseed Brassica*, *1*(1), 1-20.

Miller, J. O. (2016). *Soil PH and nutrient availability*.

Mishra, S., & Arora, N. K. (2012). Evaluation of rhizospheric Pseudomonas and Bacillus as biocontrol tool for Xanthomonas campestris pv campestris. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(2), 693-702.

Monteiro, L., Mariano, R. D. L. R., & Souto-Maior, A. M. (2005). Antagonism of Bacillus spp. against Xanthomonas campestris pv. campestris. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *48*(1), 23-29.

Moreira, L. M., Facincani, A. P., Ferreira, C. B., Ferreira, R. M., Ferro, M. I. T., Gozzo, F. C., ... & Soares, M. R. (2015). Chemotactic signal transduction and phosphate metabolism as adaptive strategies during citrus canker induction by Xanthomonas citri. *Functional & Integrative Genomics*, *15*(2), 197-210.

Muhiar, M., & Khlaif, H. (2000). Black rot disease of Cruciferae in Jordan: host range, and response of some crucifer cultivars to the disease. *Dirasat. Agricultural Sciences*, *27*(1), 26-33.

Nagai, H., Miyake, N., Kato, S., Maekawa, D., Inoue, Y., & Takikawa, Y. (2017). Improved control of black rot of broccoli caused by Xanthomonas campestris pv. campestris using a bacteriophage and a nonpathogenic Xanthomonas sp. strain. *Journal of general plant pathology*, *83*(6), 373-381.

Owen, M. D., Beckie, H. J., Leeson, J. Y., Norsworthy, J. K., & Steckel, L. E. (2015). Integrated pest management and weed management in the United States and Canada. *Pest management science*, *71*(3), 357-376.

Paez-Espino, D., Eloe-Fadrosh, E. A., Pavlopoulos, G. A., Thomas, A. D., Huntemann, M., Mikhailova, N., ... & Kyrpides, N. C. (2016). Uncovering Earth's virome. *Nature*, *536*(7617), 425-430.

Rathi, A. S., Singh, D., Avtar, R., & Kumar, P. (2015). Role of micronutrients in defense to white rust and Alternaria blight infecting Indian mustard. *Journal of Environmental Biology*, *36*(2), 467.

Roberts, S. J., Brough, J., & Hunter, P. J. (2007). Modelling the spread of Xanthomonas campestris pv. campestris in module-raised brassica transplants. *Plant pathology*, *56*(3), 391-401.

Rudolph, K. (1993). Infection of the plant by Xanthomonas. In *Xanthomonas* (pp. 193-264). Springer, Dordrecht.

Ruissen, M. A., Van Der Vossen, R. T. M., & Kocks, C. G. (1993). Growth of Xanthomonas campestris pv. campestris populations at constant and variable temperatures. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, *99*(3), 173-179.

Saad, A. M., Soliman, A. M., Kawasaki, T., Fujie, M., Nariya, H., Shimamoto, T., & Yamada, T. (2019). Systemic method to isolate large bacteriophages for use in biocontrol of a wide range of pathogenic bacteria. *Journal of bioscience and bioengineering*, *127*(1), 73-78.

Saddler, G. S., & Bradbury, J. F. (2015). Xanthomonas. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-53.

Sain, S. K., Gour, H. N., & Sharma, P. (2008). Pathogenic variability and antibiotic sensitivity in Xanthomonas campestris pv campestris isolates causing black rot of cauliflower. *J Mycol Pl Pathol*, *38*(3), 599-605.

Salmond, G. P., & Fineran, P. C. (2015). A century of the phage: past, present and future. *Nature Reviews Microbiology*, *13*(12), 777-786.

Schaad, N. W., & Alvarez, A. (1993). Xanthomonas campestris pv. campestris: cause of black rot of crucifers. *Xanthomonas*, 51-55.

Schaad, N. W., & Thaveechai, N. (1983). Black rot of crucifers in Thailand. *Plant disease*, *67*(11), 1231-1234.

Schultz, T., & Gabrielson, R. L. (1986). Xanthomonas campestris pv. campestris in Western Washington crucifer seed fields: occurrence and survival. *Phytopathology*, *76*(12), 1306-1309.

Sevik, M. A., & Deligoz, I. (2017). Reaction of cabbage lines reveals resistance to infection by Cucumber mosaic virus. *Bragantia*, *76*(1), 86-91.

Sharma, P., Bora, L. C., Puzari, K. C., Baruah, A. M., Baruah, R., Talukdar, K., ... & Phukan, A. (2017). Review on bacterial blight of rice caused by Xanthomonas oryzae pv. oryzae: different management approaches and role of Pseudomonas fluorescens as a potential biocontrol agent. *Int J Curr MicroibolApp Sci*, *6*, 982-1005.

Sharma, A., Rathore, J. P., Ali, A., Qadri, I., & Hussain, S. M. (2018). Major diseases and pathogen ecology of cabbage. *The Pharma Innovation Journal*, *7*(7), 574-578.

Shekhawat, P. S., Jain, M. L., & Chakravarti, B. P. (1982). Detection and seed transmission of Xanthomonas campestris pv. campestris causing black rot of cabbage and cauliflower and its control by seed treatment. *Indian Phytopathology*, *35*(3), 442-447.

Shelton, A. M., & Hunter, J. E. (1985). Evaluation of the potential of the flea beetle Phyllotreta cruciferae to transmit Xanthomonas campestris pv. campestris, causal agent of black rot of crucifers. *Canadian journal of plant pathology*, *7*(3), 308-310.

Silva, J. C., Silva Júnior, T. A. F., Soman, J. M., Tomasini, T. D., Sartori, M. M. P., & Maringoni, A. C. (2017). Survival of Xanthomonas campestris pv. campestris in the phyllosphere and rhizosphere of weeds. *Plant Pathology*, *66*(9), 1517-1526.

Simpson, R. B., & Johnson, L. J. (1990). Arabidopsis thaliana as a host for Xanthomonas campestris pv. campestris. *Mol. Plant-Microbe Interact*, *3*(1), 233-237.

Singh, D., Dhar, S., & Yadav, D. K. (2010). Effect of endophytic bacterial antagonists against black rot disease of cauliflower caused by Xanthomonas campestris pv. campestris. *Indian Phytopathology*, *63*(2), 122-126.

Singh, S., Dey, S. S., Bhatia, R., Batley, J., & Kumar, R. (2018). Molecular breeding for resistance to black rot [Xanthomonas campestris pv. campestris (Pammel) Dowson] in Brassicas: recent advances. *Euphytica*, *214*(10), 196.

Thomashow, L. S. and Weller, D. M. (1996), Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: mechanisms and antifungal metabolites. In: Stacey, G. and Keen, N. T. (Eds.). Plant-Microbe Interactions. New York : Chapman and Hall. v. 1. pp. 187-235.

Tushemereirwe, W., Kangire, A., Ssekiwoko, F., Offord, L. C., Crozier, J., Boa, E., ... & Smith, J. J. (2004). First report of Xanthomonas campestris pv. musacearum on banana in Uganda. *Plant Pathology*, *53*(6), 802-802.

Umesha, S., & Roohie, R. K. (2017). Role of Pseudomonas fluorescens and INA against black rot of cabbage. *Journal of Phytopathology*, *165*(4), 265-275.

Van der Wolf, J. M., van der Zouwen, P. S., & Garbeva, P. (2006). Transmission of Xanthomonas campestris pv. campestris by insects.

Van Der Wolf, J. M., & Van Der Zouwen, P. S. (2010). Colonization of cauliflower blossom (Brassica oleracea) by Xanthomonas campestris pv. campestris, via flies (Calliphora vomitoria) can result in seed infestation. *Journal of Phytopathology*, *158*(11-12), 726-732.

Van der Wolf, J. M., Van der Zouwen, P. S., & Van der Heijden, L. (2013). Flower infection of Brassica oleracea with Xanthomonas campestris pv. campestris results in high levels of seed infection. *European journal of plant pathology*, *136*(1), 103-111.

Van der Wolf, J., Kastelein, P., da Silva Júnior, T. A. F., Lelis, F. V., & van der Zouwen, P. (2019). Colonization of siliques and seeds of rapid cycling Brassica oleracea plants by Xanthomonas campestris pv. campestris after spray-inoculation of flower clusters. *European Journal of Plant Pathology*, *154*(2), 445-461.

Van der Zwet, T., Zoller, B. G., & Thomson, S. V. (1988). Controlling fire blight of pear and apple by accurate prediction of the blossom blight phase. *Plant Disease*, *72*(6), 464-472.

Vanitha, S. C., & Umesha, S. (2011). Pseudomonas fluorescens mediated systemic resistance in tomato is driven through an elevated synthesis of defense enzymes. *Biologia plantarum*, *55*(2), 317-322.

Vicente, J. G., & Holub, E. B. (2013). X anthomonas campestris pv. campestris (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. *Molecular plant pathology*, *14*(1), 2-18.

Walcott, R. R., Gitaitis, R. D., & Castro, A. C. (2003). Role of blossoms in watermelon seed infestation by Acidovorax avenae subsp. citrulli. *Phytopathology*, *93*(5), 528-534.

Wang, D. B., Li, Y., Sun, M. Q., Huang, J. P., Shao, H. B., Xin, Q. L., & Wang, M. (2016). Complete genome of a novel Pseudoalteromonas phage PHq0. *Current microbiology*, *72*(1), 81-87.

Watts, G. (2017). Phage therapy: revival of the bygone antimicrobial. *Lancet (London, England)*, *390*(10112), 2539.

Williams, P. H. (1980). Black rot: a continuing threat to world crucifers. *Plant disease*, *64*(8), 736-742.

Wulff, E. G., Mguni, C. M., Mortensen, C. N., Keswani, C. L., & Hockenhull, J. (2002). Biological control of black rot (Xanthomonas campestris pv. campestris) of brassicas with an antagonistic strain of Bacillus subtilis in Zimbabwe. *European Journal of Plant Pathology*, *108*(4), 317-325.

Libros:

Agrios, G. N. (2005). Plant pathology 5th Edition: Elsevier Academic Press. *Burlington, Ma. USA*, 79-103.

CAPÍTULO 2: Estudio de factores medioambientales para el desarrollo de la pudrición negra en brásicas causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Introducción

La familia *Brassicaceae* tiene una gran importancia económica a nivel mundial aportando especies al mercado de hortalizas, oleaginosas y forrajeras (Al-Shehbaz *et al*, 2006). Estas especies son consideradas de estación fría por lo que se adaptan bien a las condiciones de frío y lluvia características del sur de Chile. De igual manera pueden ser producidas en zonas más templadas, siendo favorecidas con climas frescos, sin exceso de calor (Contreras, comunicación personal, 9 de noviembre de 2020; INIA, 2010). A nivel nacional, se cultivan 6 mil hectáreas (ha) de especies pertenecientes a esta familia destinadas al mercado fresco. Destaca el repollo con 2.261 ha, seguido por brócoli con 1.912 ha y coliflor con 1.869 ha (ODEPA, 2019). La producción de estas especies se concentra entre las regiones de Coquimbo y Maule, resaltando la región Metropolitana con 2.498 ha y la de Coquimbo con 1.543 ha para mercado fresco (ODEPA, 2019). Esta familia también es importante a nivel de producción de semilla. En 2019 la cantidad de semilla exportada de especies de brócoli, repollo y coliflor fue de 94.217, 265.427 y 77.646 kg, respectivamente. En conjunto representan cerca del 12% de la cantidad total exportada de hortalizas y el 30% aproximadamente del valor total de semillas de hortalizas exportadas, siendo de gran importancia en este mercado (ANPROS, 2020).

Uno de los patógenos que ha tomado relevancia en la producción de brásicas a nivel mundial es *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) (Gupta *et al*., 2013), causante de la pudrición negra de las brásicas, cuya distribución tan amplia como sus hospederos (CABI, 2020). Este patógeno se transmite principalmente por semillas (Cook *et al*., 1952), restos vegetales, suelo, malezas y maquinaria (Kohl y Van der Wolf, 2005). *Xcc* ingresa a través de los hidátodos y coloniza los vasos xilemáticos. Provoca lesiones cloróticas en forma de “V” en el margen de la hoja y posterior oscurecimiento del sistema vascular generado por una descomposición de las células parenquimáticas circundantes al xilema lo que provoca cavitación (Agrios, 2005). El área afectada se necrosa, provocando una caída prematura de hojas, retraso en el crecimiento y finalmente muerte de plantas (Vicente y Holub, 2013). Si la enfermedad se produce en estados más avanzados de desarrollo en brócoli y coliflor puede provocar decoloración en la pella y posterior pudrición del tejido (Agrios, 2005). *Xcc* se disemina por semillas y microgotas generadas por lluvia y riego por aspersión (Roberts *et al*., 2007; Sharma *et al*., 2018). *Xcc* puede sobrevivir hasta 40 días en suelo (Dane y Shaw, 1996), 225 días en restos vegetales de

coliflor (Junior, 2020) y 48 días asociado a plantas de repollo (Arias *et al*., 2000) y en asociación con malezas un máximo de 455 días (Silva *et al*., 2017).

El éxito en el desarrollo de la enfermedad depende de factores ambientales e internos del hospedero. La temperatura es el factor más relevante para el desarrollo de enfermedades, dado que permite la activación de los patógenos (Agrios, 2005). *Xcc* se favorece por temperaturas altas para su multiplicación e infección (Wulf *et al*., 2002). Ruissen *et al*. (1993) reportó que el óptimo de crecimiento se encuentra entre los 25-35°C para el crecimiento de *Xcc*. Del mismo modo, Jarial y Shyam (2005) demostraron que la temperatura óptima de crecimiento es 30°C. Otro factor importante es la humedad. La presencia de humedad genera activación de bacterias. *Xcc* es favorecida por condiciones de alta humedad y presencia de agua, ya que se favorece la multiplicación dentro de la planta (Agrios, 2005). Estudios en coliflor han demostrado que humedades relativas de 82-89% son las óptimas para el desarrollo de la infección de *Xcc* (Bairwa *et al*., 2011) y la precipitación favorece la diseminación del patógeno aumentando la incidencia de la enfermedad (Sharma *et al*., 2018). Otros factores que pueden afectar el desarrollo de la enfermedad son el pH (Jarial y Shyam, 2005) y el estado nutricional del hospedero (Meena *et al*., 2016). El objetivo de este trabajo fue analizar las condiciones predisponentes para el desarrollo de la pudrición negra causada por *Xcc* en base a temperaturas mínimas, medias, máximas y humedad relativa, registrada entre las regiones Metropolitana y Ñuble, de Chile.

Materiales y métodos

Determinación de presencia de Xcc y detección de Xcc

Material vegetal fue colectado en predios destinados a la producción de coles para consumo fresco y producción de semillas. Los muestreos fueron realizados entre agosto y enero del año 2019. Las regiones abarcadas fueron Región Metropolitana, O'Higgins, Maule y Ñuble en diferentes tipos de producciones (Tabla 1).

Tabla 1. Especificaciones relacionadas a la obtención de muestras de *Xcc.*

Región	Localidad	Fecha de muestreo	Material de origen	Tipo de producción
Metropolitana	Peñaflor	22-01-19	Brócoli	Fresco
Metropolitana	El Monte	09-05-19	Maleza	Semillero
Metropolitana	Isla de Maipo	06-08-19	Repollo	Fresco
Metropolitana	Isla de Maipo	06-08-19	Repollo	Fresco
Metropolitana	Isla de Maipo	06-08-19	Repollo	Fresco
O'Higgins	Rengo	20-03-19	Repollo	Fresco
O'Higgins	Rengo	20-03-19	Suelo	Fresco
O'Higgins	San Vicente	10-07-19	Repollo	Fresco
O'Higgins	San Vicente	16-07-19	Repollo	Fresco
O'Higgins	Chimbarongo	23-07-19	Repollo	Semillero
Maule	San Rafael	18-06-19	Repollo	Semillero

Maule	Pelarco	18-06-19	Repollo	Semillero
Maule	Pelarco	10-07-19	Repollo	Semillero
Maule	San Rafael	18-06-19	Repollo	Semillero
Maule	Teno	09-07-19	Repollo	Semillero
Ñuble	Pencahue	10-07-19	Repollo	Semillero
Ñuble	Chillán	18-06-19	Repollo	Semillero

Los aislados se sembraron en los medios de cultivo semi selectivos YDC, mCS20ABN y FS recomendados por ISTA, con el objetivo de seleccionar colonias candidatas. Para corroborar que dichas colonias eran *Xcc* se utilizó la amplificación parcial de los genes *estA* (lipasa) que identifica género *Xanthomonas* y *hrp*F (factor de reconocimiento F) que identifica a la especie (Roohie y Umesha, 2012).

Datos meteorológicos

A partir de las coordenadas de cada zona de muestreo, se procedió a localizar la estación meteorológica más cercana de cada predio a través de la red meteorológica Agromet (https://www.agromet.cl/), proporcionada por el Ministerio de Agricultura. Las estaciones que representan a cada predio se describen en la Tabla 2.

De cada estación meteorológica se obtuvieron los parámetros de temperatura mínima, media, máxima y humedad relativa con un intervalo de registro de cada una hora durante los últimos 5 años.

Tabla 2. Estaciones meteorológicas más cercanas de cada predio.

Región	**Localidad**	**Estación Meteorológica más cercana**	**Abreviación**
Metropolitana	El Monte	Talagante	TA
Metropolitana	Peñaflor	Talagante	TA
Metropolitana	Isla de Maipo	Isla de Maipo	IM
O'Higgins	Rengo	San Pedro-Totihue	SP
O'Higgins	San Vicente	Quinta Tilcoco	QT
O'Higgins	San Vicente	El Tambo	ET

O'Higgins	Chimbarongo	Conosur	CO
Maule	San Rafael	San Rafael	SR
Maule	Pelarco	San Rafael	SR
Maule	Pelarco	San Rafael	SR
Maule	Teno	Teno	TE
Maule	Pencahue	Pencahue	PE
Ñuble	Chillán	Pinto	PI

Determinación de umbrales de sobrevivencia de Xcc

Los valores de temperatura óptima para el crecimiento, sobrevivencia y nula sobrevivencia fueron definidos según lo descrito por Jarial y Shyam (2005) y Ruissen *et al*. (1998) (Tabla 3). Los valores de humedad relativa óptima para el crecimiento, sobrevivencia y nula sobrevivencia fueron definidos según lo descrito por Bairwa *et al*. (2011) y Diab (1982) (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de rangos según temperatura y humedad relativa (HR).

Rango	**Temperatura (°C)**	**HR (%)**
Óptimo	25-35; 30	82-100
Sobrevivencia fuera del óptimo	15-25 o 35-40	60-82
Nulo crecimiento/sobrevivencia	<15 o >40	<60

Determinación de rangos de probabilidad de desarrollo de la enfermedad

Según los rangos definidos para el desarrollo óptimo, sobrevivencia y nula sobrevivencia se procedió a generar una escala de análisis de la aparición de pudrición negra causada por *Xcc,* que relaciona temperaturas y humedad relativa (Tabla 4).

Tabla 4. Descripción de rangos definidos para el análisis del desarrollo de *Xanthomona campestris pv. campestris*.

Rango	Temperatura (°C)	y/o	Humedad relativa (%)	Descripción del rango
Alto (A)	25-35	y	82-100	Ambos parámetros dentro del óptimo.
Medio Alto (MA)	25-35	o	82-100	Uno de los dos parámetros dentro del rango óptimo y el otro en el rango de sobrevivencia.
Medio (M)	15-25 o 35-40	y	60-82	Ambos fuera del rango óptimo, pero dentro del de supervivencia.
Medio Bajo (MB)	<15 o >40	o	<60	Uno de los dos parámetros dentro del rango de sobrevivencia y el otro fuera.
Bajo (B)	<15 o >40	y	<60	Ambos parámetros fuera del rango de sobrevivencia.

Análisis de datos mensuales

A partir de los datos de temperatura media, máxima, mínima y humedad relativa media obtenidos de los últimos 5 años de cada estación meteorológica se determinó el análisis mensual y anual de cada estación. Dicho proceso se llevó a cabo de la siguiente manera:

i) Temperatura mínima media: Se obtuvo la temperatura mínima diaria de los últimos 5 años y a continuación se generó la temperatura mínima media mensual.
ii) Temperatura media: se determinó la temperatura media mensual para cada mes en base a las temperaturas de los últimos 5 años.
iii) Temperatura máxima media: en primer lugar, se definió el máximo de temperatura diaria en los últimos 5 años, para luego determinar la temperatura máxima media mensual.
iv) Humedad relativa media: Se determinó la humedad relativa media mensual en base a los últimos 5 años.

A partir de los valores mensuales de cada parámetro, se generó un análisis de aparición de *Xcc* para cada mes según las siguientes combinaciones:

i) Temperatura mínima media – humedad relativa media
ii) Temperatura media – humedad relativa media
iii) Temperatura máxima media – humedad relativa media

Dichas combinaciones fueron comparadas con lo definido en la Tabla 4.

Análisis de datos anuales

El análisis anual se realizó para O'Higgins y Maule, ya que fueron las regiones con mayor cantidad de muestreo inicial. Además, se amplió el análisis agregando 9 estaciones meteorológicas en la región de O'Higgins y 11 en la del Maule a las utilizadas para el análisis mensual (Tabla 5). El análisis anual se realizó utilizando solo la combinación de temperatura máxima media – humedad relativa media la cual se contrastó con lo descrito en la Tabla 4. Para obtener la temperatura máxima media, primero se obtuvo la máxima diaria de los últimos 5 años y luego el promedio total. La humedad relativa media se obtuvo a partir del promedio de la humedad relativa en los últimos 5 años.

Tabla 5. Estaciones utilizadas para el análisis anual en la región de O'Higgins y Maule.

Región	Localidad	Estación Meteorológica
O'Higgins	Rengo	San Pedro-Totihue
	San Vicente	Quinta de tilcoco
	San Vicente	El Tambo
	Chimbarongo	Conosur
	Las Cabras	Santa Brisila
	Lolol	Lolol
	Litueche	Hidango
	Rancagua	Punta Cortés
	San Fernando	El Carmen
	Marchigue	Marchigue
	Rapel	Rapel
	Mostazal	Mostazal
	Chépica	Chépica
Maule	Vichuquén	Rarín
	San Rafael	San Rafael
	Teno	Teno
	Pencahue	Pencahue
	Curepto	Curepto
	Chanco	Chanco
	Longaví	Miraflores
	Pelluhue	Lomas
	Parral	Parral
	Cauquenes	Cauquenes
	Cauquenes	Sauzal
	Molina	Aresti
	Colbún	Colbún
	Molina	San Pedro-Molina

Resultados

Identificación de Xcc

La amplificación de los genes *est*A y *hrp*F, que permiten la identificación de *Xcc*, resultaron ser positivas para todas las muestras realizadas (Tabla 1).

Parámetros climáticos

Región Metropolitana

Los datos de temperatura de las dos estaciones meteorológicas de la Región Metropolitana (IM y TA) no presentaron diferencias notorias (+/- 0,5°C). En enero, febrero, marzo, noviembre y diciembre las temperaturas medias máximas fueron mayores a 25°C en ambas estaciones. La humedad relativa varió +/-1% entre las estaciones y no se presentaron meses por debajo de 60%. En mayo, junio y julio la humedad relativa superó el 82% para ambas estaciones (tabla 6).

Tabla 6. Parámetros climáticos de temperatura media mínima (T° Mín), temperatura media (T° Media), temperatura media máxima (T° Máx) y humedad relativa media (HR Media) para las estaciones meteorológicas Talagante (TA) e Isla de Maipo (IM) ubicadas en la región metropolitana (RM).

Mes	**TA**				**IM**			
	T° Mín	T° Media	T° Máx	HR Media	T° Mín	T° Media	T° Máx	HR Media
Ene	12,68	20,24	29,37	68,04	12,24	20,15	29,62	68,94
Feb	11,53	19,43	29,03	67,79	11,07	19,33	29,43	69,13
Mar	9,90	17,46	27,19	70,67	9,45	17,26	27,45	72,17
Abr	7,26	14,03	22,64	75,27	6,88	13,74	22,92	77,21
May	6,26	11,39	18,20	84,34	5,53	10,87	18,70	85,04
Jun	3,13	8,22	14,45	85,23	2,37	7,74	15,51	86,05
Jul	3,83	8,91	15,47	85,00	3,31	8,54	15,88	84,95
Ago	4,83	10,41	17,43	81,79	4,31	10,20	17,95	81,89
Sep	6,00	12,30	19,80	76,12	5,72	12,23	20,45	76,43
Oct	7,62	14,41	22,49	71,74	7,32	14,55	23,26	72,54
Nov	9,14	16,83	25,90	67,12	8,64	16,82	26,37	68,02
Dic	10,99	18,67	28,01	66,78	10,52	18,63	28,24	67,95
Anual	7,76	14,36	22,50	74,99	7,28	14,17	22,98	75,86

Región de O'Higgins

En relación con la temperatura mínima media, Quinta de Tilcoco (QT) y El Tambo (ET) presentaron en todos los meses una temperatura mayor aproximadamente de 2 grados por sobre San Pedro-Totihue (SP) y Conosur (CO). En mayo, junio, julio y agosto la estación SP presentó temperaturas mínimas medias menores a 5°C, este valor se obtuvo en mayo, junio y julio en CO y junio y julio en QT y ET. En el valor de temperatura media QT y ET superaron a SP y CO aproximadamente en 0,5°C en la mayoría de los meses. La temperatura máxima media, sin embargo, fue superior en SP por sobre todas las estaciones en la mayoría de los meses, así como también en el valor anual. SP, QT, CO y ET presentaron temperaturas máximas medias por sobre 25°C en enero, febrero, marzo, noviembre y diciembre (Tabla 7).

ET resultó ser la estación meteorológica con menor valor de humedad relativa, presentando valores menores a 60% en los meses de enero, febrero, noviembre y diciembre. Ninguna otra estación de esta región reportó valores inferiores a 60%, además, el valor de humedad relativa fue aproximadamente 8% inferior en la mayoría de los meses y en el valor anual. En los meses de junio, julio y agosto las estaciones SP, QT y CO presentaron humedades relativas mayores a 82% a diferencia de ET que no superó el 80% en ningún mes del año (Tabla 7).

Tabla 7. Parámetros climáticos de temperatura media mínima (T° Mín), temperatura media (T° Media), temperatura media máxima (T° Máx) y humedad relativa media (HR Media) para las estaciones meteorológicas San Pedro-Totihue (SP), Quinta de Tilcoco (QT), Conosur (CO) y El Tambo (ET) ubicadas en la región de O'Higgins.

Mes	**SP**				**QT**				**CO**				**ET**			
	T° Mín	T° Media	T° Máx	HR Media	T° Mín	T° Media	T° Máx	HR Media	T° Mín	T° Media	T° Máx	HR Media	T° Mín	T° Media	T° Máx	HR Media
Ene	11,2	21,0	31,7	66,5	13,9	21,5	29,9	66,3	12,1	20,6	31,7	69,3	13,1	21,8	31,1	56,4
Feb	10,6	20,0	31,0	65,2	12,8	20,6	29,5	64,8	10,7	19,6	31,3	65,1	12,6	21,0	30,8	57,8
Mar	8,4	17,7	28,9	67,2	10,5	18,2	27,2	67,8	9,2	17,5	28,8	70,0	10,6	18,7	28,5	60,5
Abr	6,5	13,8	24,3	75,3	7,7	14,0	21,7	75,6	5,8	12,4	22,0	82,7	8,4	15,0	23,4	69,5
May	4,8	10,9	19,8	78,4	6,1	11,2	17,1	86,0	5,3	10,3	17,6	87,3	6,5	11,9	19,0	76,1
Jun	1,8	7,4	15,8	82,2	3,5	7,6	12,6	90,2	2,7	5,5	11,3	82,1	3,8	8,2	14,5	79,8
Jul	2,9	8,1	15,2	83,2	4,1	7,7	11,7	89,6	3,2	7,0	11,9	91,2	4,1	8,7	14,7	79,3
Ago	3,9	9,5	16,6	83,0	5,7	9,7	13,9	85,1	4,3	8,6	14,7	88,7	5,3	10,4	17,0	74,5
Sep	5,3	11,8	19,6	77,4	7,0	12,6	18,8	77,2	6,2	11,0	17,5	83,0	6,9	12,9	20,0	67,5
Oct	6,7	13,4	21,1	75,8	8,2	14,9	21,8	71,2	7,8	13,4	20,7	76,6	8,2	14,7	22,2	62,8
Nov	8,2	17,1	26,4	68,0	10,4	17,9	26,0	66,2	9,1	16,9	26,0	67,3	10,7	18,4	27,4	56,6
Dic	8,9	19,6	30,1	66,2	12,1	19,8	28,3	64,9	10,3	18,9	29,3	66,6	12,0	20,5	30,4	54,9
Anual	6,6	14,2	23,4	74	8,5	14,6	21,5	75,4	7,2	13,5	21,9	77,5	8,5	15,2	23,2	66,3

Región del Maule

Teno (TE) fue levemente superior (0-0,8°C) en el valor de temperatura mínima media en la mayoría de los meses y en el valor anual en comparación con San Rafael (SR), a excepción de los meses de abril, mayo y junio. Con respecto a las temperaturas medias, TE presentó valores mayores aproximadamente 1°C por sobre SR. La temperatura máxima media superó los 25°C en los meses de enero, febrero, marzo y diciembre en las tres estaciones. La humedad relativa anual fue cerca de 3% superior en SR. Las tres estaciones reportaron valores superiores a 82% en los meses de mayo, junio julio y agosto. Pencahue (PE) reportó valores superiores en todas las temperaturas por sobre SR y TE. La temperatura mínima media de PE superó entre 0,8 a 1°C a las otras estaciones, además, reportó meses por sobre los 31°C, sin embargo, desde diciembre a enero la humedad relativa fue inferior a 60% (Tabla 8).

Tabla 8. Parámetros climáticos de temperatura media mínima (T° Mín), temperatura media (T° Media), temperatura media máxima (T° Máx) y humedad relativa media (HR Media) para las estaciones meteorológicas San Rafael (SR), Teno (TE) y Pencahue (PE) ubicadas en la región del Maule.

Mes	**SR**				**TE**				**PE**			
	T° Mín	**T° Media**	**T° Máx**	**HR Media**	**T° Mín**	**T° Media**	**T° Máx**	**HR Media**	**T° Mín**	**T° Media**	**T° Máx**	**HR Media**
Ene	11,7	19,5	30,4	59,8	12,6	20,8	30,3	62,3	13,6	22,7	32,4	55,6
Feb	11,4	19,5	30,3	63,4	12,0	20,2	30,0	63,3	12,9	21,9	31,8	58,0
Mar	8,6	15,9	26,6	70,2	9,2	17,4	27,0	67,4	9,9	18,7	28,7	64,1
Abr	4,8	11,5	20,5	81,1	4,3	12,4	20,7	74,7	7,2	13,9	22,0	78,5
May	5,3	9,6	14,6	90,8	3,7	9,7	15,9	81,5	6,0	10,5	16,2	89,8
Jun	2,9	6,6	11,5	93,6	2,5	6,5	11,2	90,5	3,7	7,8	12,7	92,0
Jul	1,9	6,6	12,2	91,1	2,5	6,9	12,2	87,7	3,1	7,1	11,9	89,5
Ago	3,5	8,0	14,2	88,1	3,9	8,5	15,1	83,8	4,0	9,2	15,8	84,0
Sep	5,5	10,0	16,0	80,9	5,5	11,1	17,8	79,1	5,4	12,1	19,4	76,8
Oct	6,7	11,8	18,7	75,7	7,2	13,1	20,4	74,6	7,1	14,1	21,9	71,7
Nov	8,6	15,3	24,5	69,3	9,7	17,0	25,4	67,5	9,8	18,2	27,2	64,2
Dic	10,1	18,3	28,6	62,5	11,1	19,1	28,4	63,0	11,5	20,3	29,3	59,4
Anual	6,8	12,7	20,7	77,2	7,0	13,6	21,2	74,6	7,8	14,7	22,4	73,6

Región de Ñuble

Las temperaturas mínimas medias fueron inferiores a 5°C en junio, julio y agosto y septiembre y menores a 15°C durante todo el año. Por otra parte, las temperaturas máximas medias superaron los 25°C entre diciembre y marzo, y fueron inferiores a 15°C en junio, julio y agosto. La humedad relativa no descendió del 60%, incluso superó el 82% entre mayo y agosto (Tabla 9).

Tabla 9. Parámetros climáticos de temperatura media mínima (T° Mín), temperatura media (T° Media), temperatura media máxima (T° Máx) y humedad relativa media (HR Media) para la estación meteorológica Pinto (PI) ubicadas en la región de Ñuble.

Mes	**PI**			
	T° Mín	T° Media	T° Máx	HR Media
Ene	9,8	19,5	28,5	63,7
Feb	8,2	18,1	27,8	63,7
Mar	7,0	16,0	25,5	68,3
Abr	5,7	12,0	19,0	80,3
May	5,5	9,8	15,0	87,2
Jun	2,9	7,2	11,9	89,0
Jul	3,5	7,3	11,7	87,7
Ago	4,0	8,4	13,1	85,7
Sep	4,4	10,1	16,0	79,6
Oct	5,8	11,8	17,9	77,2
Nov	7,3	14,6	22,2	74,4
Dic	8,8	17,3	25,9	69,4
Anual	6,1	12,7	19,5	77,2

Análisis de aparición de la enfermedad

Región Metropolitana

Si se consideran las temperaturas mínimas medias la probabilidad de que ocurra la enfermedad causada por *Xcc* es medio bajo (MB), ya que la temperatura se mantiene durante todo el año bajo el umbral de supervivencia. Algo similar ocurre con las temperaturas medias, a excepción de los meses de verano donde la probabilidad aumenta a medio (M). Al observar el análisis con las temperaturas máximas medias se aprecia un aumento de la probabilidad a medio alto (MA) en los meses más templados (enero, febrero, marzo, noviembre y diciembre) debido a las altas temperaturas (25-30°C) y humedades relativas por sobre el umbral de sobrevivencia. De hecho, en Isla de

Maipo (IM) la probabilidad medio alto (MA) también se mantiene mayo, junio y julio debido a los valores altos de HR que se presentarían en dicha zona (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de la aparición de la enfermedad en los predios cercanos a las estaciones Talagante (TA) e Isla de Maipo (IM) de la Región Metropolitana (RM).

Mes	**TA**			**IM**		
	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR
Ene	MB	M	MA	MB	M	MA
Feb	MB	M	MA	MB	M	MA
Mar	MB	M	MA	MB	M	MA
Abr	MB	MB	M	MB	MB	M
May	MB	MB	MA	MB	MB	MA
Jun	MB	MB	B	MB	MB	MA
Jul	MB	MB	M	MB	MB	MA
Ago	MB	MB	M	MB	MB	M
Sep	MB	MB	M	MB	MB	M
Oct	MB	MB	M	MB	MB	M
Nov	MB	M	MA	MB	MB	MA
Dic	MB	M	MA	MB	MB	MA

B = bajo; MB = medio bajo; M = medio; MA = medio alto; A = alto.

Región de O'Higgins

Considerando la temperatura mínima media todas las estaciones presentan una probabilidad medio bajo (MB) en todos los meses. Al analizar las temperaturas medias, en los meses de verano el análisis cambia a M (medio), en el mismo sentido si se analizan las temperaturas máximas el análisis se posiciona en medio alto (MA) al menos en los meses de enero, febrero, marzo, noviembre y diciembre. En el sentido opuesto se encuentran los meses de invierno donde incluso al analizar con temperaturas máximas medias el análisis se mantiene en M o medio bajo (MB). Si bien El Tambo (ET) reportó valores altos de temperatura, de hecho, es la estación meteorológica con las temperaturas más cálidas de la región. Sin embargo, ET presenta un clima seco y con bajos valores de HR, incluso por debajo del rango de sobrevivencia en los meses de verano, lo que lo posiciona el análisis de M, MB y B para los tres parámetros de temperatura (Tabla 11).

Tabla 11. Análisis de la aparición de la enfermedad en los predios cercanos a las estaciones San Pedro-Totihue (SP), Quinta de tilcoco (QT), Conosur (CO) y El Tambo (ET) de la Región de O'Higgins.

	SP			**QT**			**CO**			**ET**		
Mes	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR
Ene	MB	M	MA	MB	M	MA	MB	M	MA	B	MB	MB
Feb	MB	M	MA	MB	M	MA	MB	M	MA	B	MB	MB
Mar	MB	M	MA	MB	M	MA	MB	M	MA	MB	M	MA
Abr	MB	MB	M	MB	MB	M	MB	MB	MA	MB	M	M
May	MB	MB	M	MB	MB	M	MB	MB	MA	MB	MB	M
Jun	MB	MB	MA	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	M
Jul	MB	MB	MA	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	M
Ago	MB	MB	MA	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	M
Sep	MB	MB	M	MB	MB	M	MB	MB	MA	MB	MB	M
Oct	MB	MB	M	MB	MB	M	MB	MB	M	MB	MB	M
Nov	MB	M	MA	MB	M	MA	MB	M	MA	B	MB	MB
Dic	MB	M	MA	MB	M	MA	MB	M	MA	B	MB	MB

B = bajo; MB = medio bajo; M = medio; MA = medio alto; A = alto.

Región del Maule

Con respecto al análisis en base a la temperatura mínima media se observa que en las tres estaciones el análisis es bajo (B) o medio bajo (MB). Resultados similares se obtienen a partir de la temperatura media a excepción de enero, febrero, marzo, noviembre y diciembre para la estación Teno (TE). Al comparar el análisis a través de las temperaturas máximas medias se puede apreciar un contraste entre las estaciones. En TE para enero, febrero, marzo, abril, mayo, noviembre y diciembre se aprecia un resultado MA, a diferencia de San Rafael (SR) donde solo febrero y marzo presentan MA y muy por el contrario Pencahue (PE) que solo presenta MA en marzo (Tabla 12). Es decir, existe mayor probabilidad de que ocurra la enfermedad durante un periodo más extenso en TE que en SR y PE, debido a que TE reportó valores mayores de temperatura, alcanzando mayor periodo de temperaturas por sobre el rango de sobrevivencia.

Tabla 12. Análisis de la aparición de la enfermedad en los predios cercanos a las estaciones San Rafael (SR), Teno (TE) y Pencahue (PE) de la Región del Maule.

	SR			**TE**			**PE**		
Mes	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR
Ene	B	MB	MA	MB	M	MA	B	MB	MB
Feb	MB	MB	MA	MB	M	MA	B	MB	MB
Mar	MB	MB	MA	MB	M	MA	MB	M	MA
Abr	MB	MB	M	MB	MB	MA	MB	MB	M
May	MB	MB	MB	MB	MB	MA	MB	MB	M
Jun	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB
Jul	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB	MB
Ago	MB	MB	MB	MB	MB	MA	MB	MB	MA
Sep	MB	MB	MB	MB	MB	M	MB	MB	M
Oct	MB	MB	MB	MB	MB	M	MB	MB	M
Nov	MB	MB	MA	MB	M	MA	MB	M	M
Dic	MB	MB	MA	MB	M	MA	B	MB	MB

B = bajo; MB = medio bajo; M = medio; MA = medio alto; A = alto.

Región de Ñuble

El análisis basado en la temperatura mínima media es MB o B. Lo mismo sucede con la temperatura media donde Pinto (PI) presenta un índice M en enero, febrero, marzo y diciembre. Se genera un contraste significativo al analizar las temperaturas máximas medias, ya que, a diferencia del resultado de las otras temperaturas, en este caso se obtiene MA para enero, febrero, marzo y diciembre (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis de la aparición de la enfermedad en los predios cercanos a las estación Pinto (PI) de la Región de Ñuble.

		PI	
Mes	T° Min-HR	T° Med - HR	T° Max-HR
Ene	MB	M	MA
Feb	MB	M	MA
Mar	MB	M	MA
Abr	MB	MB	M
May	MB	MB	MA
Jun	MB	MB	MB
Jul	MB	MB	MB
Ago	MB	MB	MB
Sep	MB	MB	M
Oct	MB	MB	M
Nov	MB	MB	M
Dic	MB	M	MA

B = bajo; MB = medio bajo; M = medio; MA = medio alto; A = alto.

Análisis anual

El análisis anual reportó un riesgo medio alto de aparición de la enfermedad en Marchigue, Lolol y Pelluhue, mientras que en las otras zonas el riesgo asociado es medio (Figura 1).

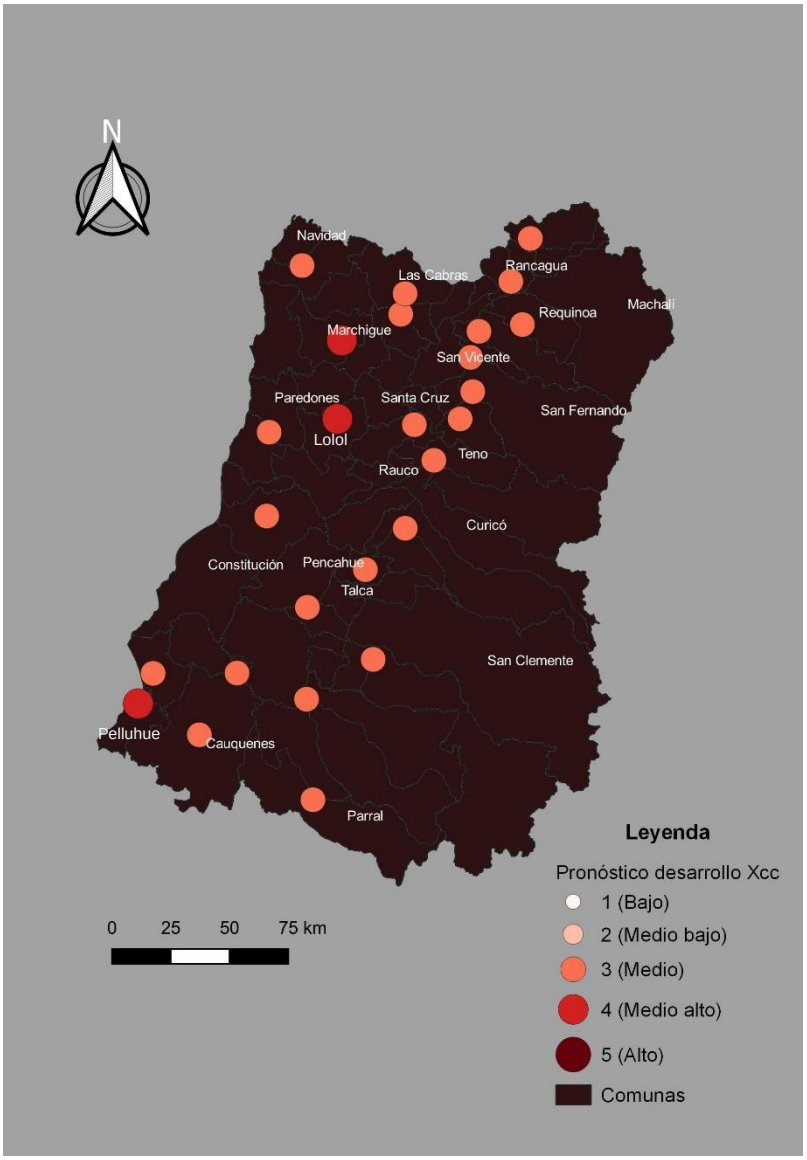

Figura 1. Mapa de riesgo anual de aparición de la *Xcc* en las regiones de O'Higgins y Maule. Rojos más intensos representan mayor riesgo de aparición de la enfermedad.

Discusión

Debido a las características topográficas de Chile, el clima es influenciado por corrientes atmosféricas, oceánicas, latitud y altura. Considerando lo anterior, el clima en el país se puede clasificar por zona. En el norte predominan los climas secos subtropicales (áridos y semiáridos), la zona central se caracteriza por tener climas templados (cálidos con lluvias en invierno y templados lluviosos) y clima polar característico de algunos lugares de la cordilla de los Andes (Inzunza, 2012).

Talagante (TA) e Isla de Maipo (IM) presentan condiciones climáticas características de la Región Metropolitana, correspondiendo al tipo mediterráneo, con una estación seca larga y un invierno corto lluvioso, con temperaturas medias anuales de 14°C, el mes más cálido es enero con 22°C de media y julio como el más frío con 7°C de mínimas medias. La humedad relativa de esta región decrece desde las zonas más cercanas a la costa hacia el interior (Inzunza, 2012). Desde diciembre a marzo ambas estaciones presentaron un índice MA considerando la temperatura máxima media, esto debido a las temperaturas y humedades relativas favorables para el desarrollo de *Xcc.* Incluso, IM desde mayo a julio considerando temperatura máxima media-humedad relativa media, pronosticó MA. Si bien las temperaturas en dichos meses son bajas, existe una alta humedad relativa que podría favorecer el desarrollo del patógeno (Diab, 1982), ya que la humedad relativa ejerce un rol fundamental en la activación de bacterias y la colonización de su hospedero, lo que podría generar el desarrollo de la enfermedad aun cuando la temperatura no se encuentre en el óptimo (Agrios, 2005).

En el mismo sentido, en la región de O'Higgins predomina el clima templado mediterráneo, sin embargo, presenta mayores variaciones dado el efecto que ejerce la topografía local. En la costa predomina la nubosidad, mientras que hacia interior se hace más frecuente la sequedad y contrastes térmicos (Inzunza, 2012). San Pedro-Totihue (SP), El Tambo (ET), Quinta de Tilcoco (QT) y Conosur (CO) se encuentran hacia el interior de la región y se caracterizan por tener una estación seca de seis meses y un invierno lluvioso. No obstante, SP presentó temperaturas más frías que ET y QT debido a su cercanía a la cordillera donde hay una influencia del clima frío de altura (Inzunza, 2012). En el caso de CO, se presenta como una estación meteorológica más fría, ya que se encuentra en la zona sur de la región. ET reportó un valor más bajo de humedad relativa en comparación con las otras estaciones debido a su ubicación. Todas las estaciones de esta región resultaron tener un índice MB

o B para el análisis de temperatura mínima media y temperatura media, sin embargo, el contraste se generó al analizar las temperaturas máximas medias. En el caso de SP, QT y CO los meses más cálidos podrían favorecer la aparición de la enfermedad, es decir, las temperaturas más altas de la temporada de primavera-verano en conjunto con un valor de humedad relativa superior al de sobrevivencia podrían generar una mayor probabilidad de aparición de la enfermedad. En el sentido contrario, las bajas humedades relativas presentadas en ET no permitirían el desarrollo de la enfermedad, ya que la humedad relativa, al igual que la temperatura, tiene un rol fundamental en el desarrollo de enfermedades (Agrios, 2005). Singh y Gupta (2019) reportaron un aumento en la severidad de la enfermedad producida por *Uromyces appendiculatus* en poroto, aumentando en un 30% desde una humedad relativa de 75% a 100%. En el mismo sentido, Tho *et al*., (2019) al estudiar el efecto de la humedad relativa en la severidad de *Pantoea agglomerans, Pantoea ananatis* y *Enterobacter cowanii* en cebolla reportó que al aumentar de 40% a 90% la severidad aumentaba al doble. Estos trabajos podrían explicar que, si bien ET presenta las temperaturas adecuadas para el desarrollo de la enfermedad, los valores de humedad relativa serían negativos para el crecimiento y desarrollo de *Xcc*.

La región del Maule presenta clima templado mediterráneo con temperaturas máximas medias de 19°C, extremas superiores a 30°C y mínimas medias de 7°C con extremas de 0°C o menos, aunque existen diferencias entre el extremo norte y sur que difieren en una estación seca de seis meses que puede acortarse a cuatro meses (Inzunza, 2012). Teno (TE) presentó valores superiores en todos los parámetros de temperatura analizados, dado que se encuentra en la zona norte de la región, influenciado por temperaturas mayores y humedades relativas más secas. Por otro lado, San Rafael (SR) al encontrarse en la zona centro-sur de la región las temperaturas más bajas son más frecuentes y existe un leve aumento de la humedad relativa. En el mismo sentido que las regiones anteriores, al analizar la temperatura mínima media y temperatura media los resultados son MB o B para todas las estaciones y meses. Las diferencias entre estaciones se generan a través de las temperaturas máximas medias. Las altas temperaturas de verano y humedades relativas que no bajan de 60% desde noviembre a marzo, podrían favorecer la aparición de *Xcc* en SR y TE. Caso contrario es lo que ocurre en Penachue (PE) donde si bien existen altas temperaturas en los meses de verano, la humedad relativa es menor a 60% en noviembre, enero y febrero, condición en la cual la bacteria tendría nulo crecimiento (Bairwa *et al*., 2011).

La región de Ñuble presenta clima templado mediterráneo, aunque hacia el sur puede tornarse más frío. La zona de estudio se caracteriza por ser de clima templado mediterráneo (Inzunza, 2012), pero con menor temperatura que las otras regiones debido a su ubicación más al sur. Las temperaturas medias mínimas y medias arrojan un índice MB o B, sin embargo, las temperaturas máximas medias cambian a MA en los meses de verano dadas las altas temperaturas manteniéndose en el nivel óptimo y humedades relativas por sobre el nivel de sobrevivencia de *Xcc*.

En el caso del análisis anual, Marchigue y Lolol Presentaron temperaturas medias anuales en el rango óptimo de *Xcc* (25-35°C) y humedades relativas dentro del rango de sobrevivencia (60-82%). Pelluhue reportó humedades relativas dentro del rango óptimo y temperaturas medias por debajo del rango óptimo, pero dentro del rango de sobrevivencia. Por otra parte, todas las otras localidades tuvieron temperaturas y humedades relativas por debajo del rango óptimo, pero dentro del de sobrevivencia.

Al contrastar las fechas exactas de muestreo para determinar la presencia de *Xcc* (Tabla 1) con los resultados del análisis basado en temperaturas y humedad relativa para dichas fechas, se observa que en la región Metropolitana las localidades de Peñaflor y El Monte, asociadas a la estación meteorológica Talagante (TA), presentaron resultados similares, es decir, la presencia de *Xcc* resultó ser positiva mientras que el resultado del análisis resultó ser medio alto (MA) (Tabla 10). En el caso de la localidad de Isla de Maipo (asociada a la estación Isla de Maipo-IM) la detección de *Xcc* fue positiva, mientras que el análisis arrojó índices de valor medio (M), esto debido a las bajas temperaturas durante el periodo de tiempo en el cual se realizó el muestreo. La detección positiva de *Xcc* podría ser a causa de que los tres meses anteriores a la fecha de muestreo, las condiciones climáticas para el desarrollo de *Xcc* fueron ideales, registrando un valor de MA según el análisis realizado (Tabla 10). Además, se debe considerar el material de origen, el cual fue repollo, especie en que la bacteria puede sobrevivir hasta 48 días en la filósfera (Arias *et al*., 2000). Al cruzar la información en la región de O'Higgins se obtuvo que hay una relación concordante entre los meses de muestro y el análisis de temperaturas y humedad para la localidad de Rengo asociada a la estación meteorológica San Pedro-Totihue (SP). En el caso de las localidades de San Vicente (asociada a la estación Quinta de Tilcoco-QT) y Chimbarongo (asociada a la estación Conosur-CO) en los meses que se realizó la detección de *Xcc*, el análisis reportó

índices de MB (Tabla 11). Tanto en QT como en CO el mes en el cual se realizó el muestro presentó valores de temperaturas por debajo de sobrevivencia, pero la humedad relativa en ambos casos fue superior a 88%, por lo tanto, una alta humedad relativa en conjunto con una posible adaptación de la bacteria las temperaturas más bajas que su óptimo de desarrollo, podrían explicar la presencia de dicho patógeno en estas zonas y periodos de tiempo analizados. Razones similares pueden ser aplicadas para la región del Maule, donde en todas las localidades la detección de *Xcc* resultó ser positiva, sin embargo, el análisis produjo índices de MB en los meses de muestreo (Tabla 12).

Con respecto a los estados fenológicos de las especies, en la región metropolitana el riesgo asociado a la aparición de la enfermedad recae en los meses de verano. En estos meses la producción de semilla de brásicas se encuentra en la etapa de producción de almácigos y posterior trasplante (Contreras, comunicación personal, 2018). Si llegase a existir pudrición negra en la producción de almácigos, es probable que riegos por aspersión, muy comunes en dicha producción, favorezcan la diseminación del patógeno y posterior traslado al campo, lo que provocaría un alto porcentaje de plantas contaminadas (Roberts *et al*., 2007). Misma situación ocurre para las estaciones analizadas en la región de O'Higgins, excepto para San Pedro-totihue (SP). En dicha estación el análisis mensual de temperaturas máximas medias presentó un resultado MA para el periodo comprendido entre junio y agosto. En esta época la producción de brásicas se encuentran en la etapa reproductiva vegetativa, es decir, en formación de pella (Contreras, comunicación personal, 2018). Si la enfermedad se produce en estos estados, las pellas de brócoli y coliflor son colonizadas por la bacteria y se genera una decoloración, al igual que en las raíces de los nabos y rábanos, provocándose una pudrición debido a la destrucción del tejido (Agrios, 2005), lo que convellaría a un menor rendimiento. En Isla de Maipo (IM), El Tambo (ET), Pencahue (PE) y Pinto (PI) el análisis de temperaturas máximas medias arrojó un resultado medio (M) y en algunos casos medio alto (MA) para el periodo comprendido entre agosto y noviembre. En dicho periodo las plantas de brásicas se encuentran en la etapa reproductiva, es decir, en floración. Además, se debe considerar que dicho proceso no es concentrado, sino que ocurre entre 30 y 45 días (Contreras, comunicación personal, 2018). Si *Xcc* logra colonizar una planta de brásicas que se encuentra en la etapa de floración, existe una alta probabilidad de que las semillas producidas estén contaminadas. Van der Wolf *et al*., (2013) reportó que la inoculación de flores de repollo con *Xcc* provocó una infección del 65% de las semillas producidas. Además de la alta tasa de infección, *Xcc*

podría ingresar al interior de la semilla en formación y depositarse en el endospermo lo que provocaría una mayor resistencia del patógeno frente a tratamientos aplicados a la semilla (Var der Wolf *et al*., 2019).

Las temperaturas por debajo el nivel óptimo de crecimiento o de sobrevivencia en la mayoría de los meses de las regiones analizadas son el causante de que el análisis para temperatura mínima media y media arrojara resultados MB o B. Sin embargo, existen reportes de la aparición de *Xcc* en zonas con climas similares a las regiones estudiadas. Scortichini *et* al., (1994) reportó la aparición de *Xcc* en la zona centro sur de Italia en época de invierno en brócoli, coliflor y colinabo, confirmando la autenticidad de dicho patógeno a través de PCR. En el mismo sentido Buonaurio *et al*., (2003) reportó la presencia de una lesión en "V" clorótica en los márgenes de las hojas en Kale, confirmando la presencia de *Xcc* a través de PCR, en Perugia, Italia. Esta región se caracteriza por tener climas similares a la zona centro de Chile, con temperaturas máximas promedio en verano de 27-30°C y temperaturas mínimas en invierno cercanas a los 0 grados (NOAA, 2020). Aksoy *et al*., (2018) reportó por primera vez la presencia de *Xcc* en coliflor en Bafra, Turquía. La presencia de los síntomas característicos de *Xcc* en conjunto con pruebas de PCR permitieron identificar al patógeno. Al igual que Italia, algunas zonas de Turquía se asemejan a las de Chile, en especial Bafra donde las temperaturas de verano fluctúan entre 20 y 30°C, mientras que en invierno entre 4 y 13°C (NOAA, 2020). En Vojvodina, Serbia ha sido reportada la presencia de *Xcc* infectando *Brassica napus* generando una clorosis marginal en forma de "V" y posterior necrosis. Esta zona se caracteriza por veranos con máximas superiores a 30°C e inviernos con mínimas de 0°C (NOAA, 2020; Popović, 2013).

Xcc es un patógeno que se favorece por condiciones de altas humedades y temperatura, es decir, en zonas tropicales y subtropicales (Williams, 1980). Sin embargo, un factor que podría estar favoreciendo la aparición de la enfermedad en zonas que no siguen los patrones climáticos típicos para el desarrollo de *Xcc* es la adaptación de los microorganismos a cada localidad. Los microorganismos se adaptan a condiciones externas a través de la plasticidad de fenotipos, es decir, la capacidad de un genotipo de exhibir fenotipos diferentes dependiendo de las condiciones ambientales y la mutación genética (Zhan y Mcdonald, 2011). Mariette *et al*. (2016) reveló la adaptación de cepas de *Phytophthora infestans* provenientes de territorio nórdico, Europa del este y del mediterráneo. Al exponer *P. infestans* a diferentes temperaturas, las cepas del territorio

nórdico reportaron una mayor producción de esporangios a 10°C, mientras que las de Europa del este a 18°C y las del mediterráneo a 24°C, demostrando un comportamiento mejor en temperaturas similares a sus zonas de origen. Gorter *et al*., (2016) demostró que *Psedomonas fluorescens* tiene una mayor densidad óptica al crecer en temperaturas similares a su zona de evolución (28°C) en comparación con temperaturas más bajas. En el caso de *Xcc*, Bella *et al*. (2019) estudiaron 31 cepas de las cuales 32,3%, 54,8% y 2,9% pertenecían a las razas 1, 4 y 6, respectivamente. De ellas solo 8 compartían un perfil alélico (AP1) con aquellas cepas de *Xcc* distribuidas en el mundo, las cuales probablemente ingresaron a Italia a través de semillas infectadas. El resto de las cepas se presume que son *Xcc* endémicas que surgieron de la adaptación al clima y de semillas de autoproducción, perpetuando el mismo genotipo bacteriano dentro de un campo durante años y generando una raza de *Xcc* adaptada a las condiciones climáticas locales.

Otro factor que favorecería la aparición de patógenos en zonas no reportadas es el aumento de temperatura debido al cambio climático. Esto afecta a la fisiología de los cultivos y su susceptibilidad frente a los patógenos (Agrios, 2005). También afectaría a la distribución de los patógenos de plantas (Mina y Sinha, 2008). El desarrollo de enfermedades en plantas depende de la susceptibilidad del hospedero, ambiente y capacidad del patógeno para producir la enfermedad. En ese sentido, la estabilidad que el hospedero pueda presentar en un determinado ambiente puede variar si la temperatura aumenta (Elad, 2009), además, los cambios en la temperatura podrían afectar a los patógenos, lo que en la suma modificaría la incidencia de la enfermedad (Ashoub *et al*., 2015). La temperatura es un factor ambiental esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas y afecta la penetración, sobrevivencia, desarrollo, tasa de reproducción y dispersión de los patógenos (Ladanyi y Horvath, 2010). Tapsoba y Wilson (1997) reportaron un aumento en la germinación de esporas de *Puccinia substriata* a medida que aumenta la temperatura. En el caso de las bacterias, se proyecta un aumento en la aparición de enfermedades provocadas por bacterias de climas cálidos tales *como Xanthomonas spp., Ralstonia solanacearum, Acidovorax* avenae subsp*.* avenae *y Burkholderia glumae* (Kudela, 2009; Schaad, 2008). Aumentos en la temperatura aumentan la incidencia de marchitez y manchas foliares en pimiento causado *por X.* campestris pv*. vesicatoria* (Shin y Yun, 2010). Además, plantas que han crecido en altas temperaturas han presentado una menor acumulación de carbohidratos y síntesis de proteínas lo que podría afectar a la disponibilidad de nutrientes para poder desempeñar funciones de defensa frente a

patógenos (Agrios, 2005; Wieczorek y Obrêpalska-Stêplowska *et al.*, 2015). Sin embargo, el impacto de la temperatura debe ser analizado a través de la interacción específica de patógeno-planta (Salinari *et al*., 2006).

Otra consecuencia del cambio climático es el cambio en la distribución. La pudrición negra de las brásicas ha incrementado su distribución hacia latitudes más mediterráneas, incluyendo zonas templadas de Europa (Vicente y Holub, 2013). El incremento en las temperaturas promedio invernales, cambios en distribución de las precipitaciones y la tendencia hacia lluvias más intensas en la zona central de Europa ha favorecido la infección por *Phytophthora* spp. en la producción forestal (Jung, 2009). Incluso, Bebber *et al*., (2015) reportó que los hongos, oomycotas y bacterias desde 1960 han avanzado en una tasa de 10 km/año hacia los polos por lo que cambios en parámetros ambientales, sumado con la comercialización de material vegetal podría aumentar la distribución de los patógenos (Compant *et* al., 2019; Velásquez *et al*., 2018).

Conclusiones

Las temperaturas en Chile se ven afectadas por diversos factores, pudiendo existir distintos microclimas dentro de cada región. Las regiones estudiadas se caracterizan por tener un clima mediterráneo típico de la zona central del país. Las predicciones realizadas a partir de las combinaciones de temperatura mínima media y temperatura media con humedad relativa media arrojaron valores de medio bajo (MA) para la mayoría de las zonas analizadas. Por otro lado, el análisis de temperatura media máxima en conjunto con humedad relativa media reportó índices medios altos (MA) en la mayoría de las estaciones analizadas en los meses de primavera-verano, a excepción de ciertas zonas donde las humedades relativas no favorecerían el desarrollo de *Xcc*. Incluso en zonas de la región Metropolitana y la región de O'Higgins el índice MA se presentó en meses de invierno y primavera pudiendo afectar etapas de formación de pella y floración en brásicas. Independientemente del estado de desarrollo en el que se encuentre el cultivo, se deben tomar todas las medidas de control y manejo para evitar la aparición de *Xcc*, sobre todo en la etapa de producción de almácigos donde el riego por aspersión podría aumentar la incidencia de la enfermedad.

Pese a que Chile no presenta las condiciones climáticas ideales descritas para *Xcc*, los resultados presentados en este trabajo demuestran que la bacteria se podría desarrollar en varias regiones del país. Lo anterior podría deberse a la capacidad de adaptación de *Xcc* las condiciones locales, lo que favorecería el desarrollo de cepas patogénicas en las zonas estudiadas. Se debe tener en consideración que el cambio climático podría ampliar la distribución de los patógenos y generar condiciones más favorables para microorganismos que su desarrollo se ve favorecido en climas más cálidos.

Resumen

Víctor Chue. Study of environmental factors for the development of black rot in brassicas caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Tesis, *Magister* en Fisiología y Producción Vegetal, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 73 pp. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* es uno de los patógenos más importantes en la producción de brásicas. Este patógeno se disemina principalmente por semillas por semillas e ingresa a las plantas a través de los hidátodos provocando lesiones en los márgenes de las hojas en forma de "V". La sobrevivencia y desarrollo de *Xcc* se ve afectada por factores climáticos como temperatura y humedad relativa. El objetivo de este trabajo fue analizar las condiciones predisponentes para la pudrición negra de las brásicas basándose en temperatura y humedad relativa para la aparición de *Xcc* en la zona central de Chile. Se analizaron 30 estaciones meteorológicas distribuidas entre la región Metropolitana y Ñuble para determinar análisis mensuales y anuales. Se realizó un análisis del comportamiento de la temperatura mínima media, media, máxima media y humedad relativa durante los últimos 5 años y se contrastaron los resultados con condiciones medioambientales descritas para *Xcc*. Los resultados variaron entre región y entre tipo de análisis, reportando los meses de verano los más probables para la aparición de la enfermedad tomando en cuenta la temperatura máxima media. Sin embargo, para el análisis tomando en cuenta la temperatura mínima media y media arrojó bajas probabilidades de aparición de *Xcc*. Las condiciones climáticas de Chile podrían no favorecer el desarrollo de *Xcc*, sin embargo, existen reportes del patógeno en zonas con condiciones climáticas similares a las de Chile, además, se debe considerar la adaptación de los patógenos a cada localidad y los efectos del cambio climático en la distribución de microorganismos.

Key words: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, temperatura, humedad relativa, análisis.

Referencias

Revistas:

Ainsworth, E. A., & Rogers, A. (2007). The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO2]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, cell & environment*, *30*(3), 258-270.

Aksoy, H. M., Ozturk, M., & Tufan, S. (2018). First report on Xanthomonas campestris pv. campestris causing bacterial black rot disease of cauliflower in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, *100*(1), 141-141.

Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., & Kellogg, E. A. (2006). Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution*, *259*(2-4), 89-120.

Arias, R. S., Nelson, S. C., & Alvarez, A. M. (2000). Effect of soil–matric potential and phylloplanes of rotation-crops on the survival of a bioluminescent Xanthomonas campestris pv. campestris. *European journal of plant pathology*, *106*(2), 109-116.

Ashoub, A., Baeumlisberger, M., Neupaertl, M., Karas, M., & Brüggemann, W. (2015). Characterization of common and distinctive adjustments of wild barley leaf proteome under drought acclimation, heat stress and their combination. *Plant molecular biology*, *87*(4-5), 459-471.

Bairwa, H. P., Ram, J., & Mali, B. L. (2011). Effect of Environmental factors on Disease development of black rot of cauliflower incited by Xanthomonas campestris pv. campestris in Udaipur District of Rajasthan. *Journal of Progressive Agriculture*, *2*(2), 62-65.

Bebber, D. P. (2015). Range-expanding pests and pathogens in a warming world. *Annual review of phytopathology*, *53*, 335-356.

Bella, P., Moretti, C., Licciardello, G., Strano, C. P., Pulvirenti, A., Alaimo, S., ... & Catara, V. (2019). Multilocus sequence typing analysis of Italian Xanthomonas campestris pv. campestris strains suggests the evolution of local endemic populations of the

pathogen and does not correlate with race distribution. *Plant Pathology*, *68*(2), 278-287.

Buonaurio, R., Santangeli, F., Moretti, C., & Caglioti, C. (2003). Occurrence of black rot caused by Xanthomonas campestris pv. campestris on ornamental kale in Italy. *Journal of Plant Pathology*, *85*(1).

CABI (2020). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Wallingford, UK: CAB international. Disponible en: www.cabi.org/isc

Carter, T. R., Saarikko, R. A., & Niemi, K. J. (1996). Assessing the risks and uncertainties of regional crop potential under a changing climate in Finland. *Agricultural and Food Science*, *5*(3), 329-350.

Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of advanced research*, *19*, 29-37.

Cook, A. A., Larson, R. H., & Walker, J. C. (1952). Relation of the black rot pathogen to Cabbage seed. *Phytopathology*, *42*(6).

Dane, F. and Shaw, J.J. (1996) Survival and persistence of bioluminescent Xanthomonas campestris pv. campestris on host and non-host plants in the field environment. J. Appl. Bacteriol. 80, 73–80.

Diab, S., Bashan, Y., Okon, Y., & Henis, Y. (1982). Effects of relative humidity on bacterial scab caused by Xanthomonas campestris pv. vesicatoria on pepper. *Phytopathology*, *72*(9), 1257-1260.

Elad, Y. (2009). A model for the assessment of the effect of climate change on plant-pathogen-microorganism interactions. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 6, No. 47, p. 472009). IOP Publishing.

Ferrocino, I., Chitarra, W., Pugliese, M., Gilardi, G., Gullino, M., & Garibaldi, A. (2013). Effect of elevated atmospheric CO2 and temperature on disease severity of Fusarium oxysporum f. sp. lactucae on lettuce plants. *Applied Soil Ecology*, *72*, 1-6.

Gorter, F., Scanlan, P., & Buckling, A. (2016). Adaptation to abiotic conditions drives local adaptation in bacteria and viruses coevolving in heterogeneous environments. *Biology letters*, *12*(2), 20150879.

Gupta, M., Vikram, A., & Bharat, N. (2013). Black rot-A devastating disease of crucifers: a review. *Agricultural Reviews*, *34*(4), 269-278.

Jacquart-Romon, C., & Paulin, J. P. (1991). A computarized warning system for fire blight control.

Jarial, K., & Shyam, K. (2005). Growth of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* as influenced by different temperature regimes, pH levels and liquid media. *Asian Journal of Microbiology biotechnology and environmental sciences,* 7(1), 35.

Jung, T. (2009). Beech decline in Central Europe driven by the interaction between Phytophthora infections and climatic extremes. *Forest pathology*, *39*(2), 73-94.

Júnior, T., Silva, J., Gonçalves, R., Soman, J., Passos, J., & Maringoni, A. (2020). Survival of Xanthomonas campestris pv. campestris associated with soil and cauliflower crop debris under Brazilian conditions. *European Journal of Plant Pathology*, *156*(2), 399-411.

Kim, J. H., Kang, W. S., & Yun, S. C. (2014). Development of a model to predict the primary infection date of bacterial spot (Xanthomonas campestris pv. vesicatoria) on hot pepper. *The plant pathology journal*, *30*(2), 125.

Köhl, J., & van der Wolf, J. M. (2005). *Alternaria brassicicola and Xanthomonas campestris pv. campestris in organic seed production of Brassicae: Epidemiology and seed infection* (No. 363). Plant Research International.

Kranz, J., & Royle, D. J. (1978). Perspectives in mathematical modelling of plant disease epidemics. *Plant Disease Epidemiology*, 111-120.

Kudela, V. (2009). Potential impact of climate change on geographic distribution of plant pathogenic bacteria in Central Europe. *Plant Protection Science*, *45* (Special Issue).

Ladanyi, M., & Horvath, L. (2010). A review of the potential climate change impact on insect populations: general and agricultural aspects. *Applied Ecology and Environmental Research,* 8(2), 143-152.

Lee, Y. H., Ko, S. J., Cha, K. H., & Park, E. W. (2015). BGRcast: a disease forecast model to support decision-making for chemical sprays to control bacterial grain rot of rice. *The plant pathology journal*, *31*(4), 350.

Marcuzzo, L. L., Backer, W. F., & Fernandes, J. M. C. (2009). Evaluation of a forecast system for bacterial tomato (Xanthomonas spp.) spot. *Agropecuária Catarinense*, *22*(3), 87-89.

Mariette, N., Androdias, A., Mabon, R., Corbiere, R., Marquer, B., Montarry, J., & Andrivon, D. (2016). Local adaptation to temperature in populations and clonal lineages of the Irish potato famine pathogen Phytophthora infestans. *Ecology and evolution*, *6*(17), 6320-6331.

Mcelrone, A. J., Reid, C. D., Hoye, K. A., Hart, E., & Jackson, R. B. (2005). Elevated CO2 reduces disease incidence and severity of a red maple fungal pathogen via changes in host physiology and leaf chemistry. *Global Change Biology*, *11*(10), 1828-1836.

Mina, U., & Sinha, P. (2008). Effects of climate change on plant pathogens. *Environ. News*, *14*(4), 6-10.

Morales, G., Llorente, I., Montesinos, E., & Moragrega, C. (2017). A model for predicting Xanthomonas arboricola pv. pruni growth as a function of temperature. *PLoS One*, *12*(5), e0177583.

Obrępalska-Stęplowska, A., Renaut, J., Planchon, S., Przybylska, A., Wieczorek, P., Barylski, J., & Palukaitis, P. (2016). Corrigendum: Effect of temperature on the pathogenesis, accumulation of viral and satellite RNAs and on plant proteome in peanut stunt virus and satellite RNA-infected plants. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 839.

Popović, T., Balaž, J., Starović, M., Trkulja, N., Ivanović, Ž., Ignjatov, M., & Jošić, D. (2013). First report of Xanthomonas campestris pv. campestris as the causal agent of black rot on oilseed rape (Brassica napus) in Serbia. *Plant disease*, *97*(3), 418-418.

Roberts, S. J., Brough, J., & Hunter, P. J. (2007). Modelling the spread of Xanthomonas campestris pv. campestris in module-raised brassica transplants. *Plant pathology*, *56*(3), 391-401.

Roohie, R. K., & Umesha, S. (2012). Development of multiplex PCR for the specific detection of Xanthomonas campestris pv. campestris in cabbage and correlation with disease incidence. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, *3*(127), 2.

Ruissen, M. A., Van Der Vossen, R. T. M., & Kocks, C. G. (1993). Growth of Xanthomonas campestris pv. campestris populations at constant and variable temperatures. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, *99*(3), 173-179.

Salinari, F., Giosuè, S., Tubiello, F., Rettori, A., Rossi, V., Spanna, F., ... & Gullino, M. L. (2006). Downy mildew (Plasmopara viticola) epidemics on grapevine under change.

Scortichini, M., Rossi, M. P., Ruggini, L., & Cinti, S. (1994). Recurrent infections of Xanthomonas campestris pv. campestris on Cruciferae in some areas of central-southern Italy. *Informatore Fitopatologico*, *44*(12), 48-50.

Schaad, N. W. (2008). Emerging plant pathogenic bacteria and global warming. In *Pseudomonas syringae Pathovars and Related Pathogens–Identification, Epidemiology and Genomics* (pp. 369-379). Springer, Dordrecht.

Schlichting, C. D. (1986). The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual review of ecology and systematics*, *17*(1), 667-693.

Sharma, A., Rathore, J. P., Ali, A., Qadri, I., & Hussain, S. M. (2018). Major diseases and pathogen ecology of cabbage. *The Pharma Innovation Journal*, *7*(7), 574-578.

Shin, J. W., & Yun, S. C. (2010). Elevated CO2 and temperature effects on the incidence of four major chili pepper diseases. *Plant Pathology Journal*, *26*(2), 178-184.

Singh, G., & Gupta, S. K. (2019). Role of temperature, relative humidity and rainfall in the development of French bean rust (Uromyces appendiculatus). *Indian Phytopathology*, *72*(2), 271-280.

Tapsoba, H., & Wilson, J. P. (1997). Effects of temperature and light on germination of urediniospores of the pearl millet rust pathogen, Puccinia substriata var. indica. *Plant Disease*, *81*(9), 1049-1052.

Tho, K. E., Brisco-McCann, E., Wiriyajitsomboon, P., & Hausbeck, M. K. (2019). Effects of Temperature, Relative Humidity, and Plant Age on Bacterial Disease of Onion Plants. *Plant Health Progress*, *20*(4), 200-206.

Van der Wolf, J. M., Van der Zouwen, P. S., & Van der Heijden, L. (2013). Flower infection of Brassica oleracea with Xanthomonas campestris pv. campestris results in high levels of seed infection. *European journal of plant pathology*, *136*(1), 103-111.

Van der Wolf, J., Kastelein, P., da Silva Júnior, T. A. F., Lelis, F. V., & van der Zouwen, P. (2019). Colonization of siliques and seeds of rapid cycling Brassica oleracea plants by Xanthomonas campestris pv. campestris after spray-inoculation of flower clusters. *European Journal of Plant Pathology*, *154*(2), 445-461.

Van Maanen, A., & Xu, X. M. (2003). Modelling plant disease epidemics. *European Journal of Plant Pathology*, *109*(7), 669-682.

Velásquez, A. C., Castroverde, C. D. M., & He, S. Y. (2018). Plant–pathogen warfare under changing climate conditions. *Current Biology*, *28*(10), R619-R634.

Vicente, J. G., & Holub, E. B. (2013). Xanthomonas campestris pv. campestris (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. *Molecular plant pathology*, *14*(1), 2-18.

Wieczorek, P., & Obrępalska-Stęplowska, A. (2015). Suppress to survive—implication of plant viruses in PTGS. *Plant Molecular Biology Reporter*, *33*(3), 335-346.

Williams, P. H. (1980). Black rot: a continuing threat to world crucifers. *Plant disease*, *64*(8), 736-742.

Wulff, E. G., Mguni, C. M., Mortensen, C. N., Keswani, C. L., & Hockenhull, J. (2002). Biological control of black rot (Xanthomonas campestris pv. campestris) of brassicas with an antagonistic strain of Bacillus subtilis in Zimbabwe. *European Journal of Plant Pathology*, *108*(4), 317-325.

Zhan, J., & McDonald, B. (2011). Thermal adaptation in the fungal pathogen Mycosphaerella graminicola. *Molecular Ecology*, *20*(8), 1689-1701.

Libros:

Agrios, G. N. (2005). Plant pathology 5th Edition: Elsevier Academic Press. *Burlington, Ma. USA*, 79-103.

Inzunza, J. (2012). Meteorología descriptiva. *Departamento de Geofísica, Universidad de Concepción, Concepción*, 2-34.

Boletines:

INIA. (2010). Brássicas: grupo de hortalizas con aptitud para producción en la zona sur.

ODEPA. (2019). Estadísticas productivas. Disponible en: https://www.odepa.gob.cl/estadisticas-del-sector/estadisticas-productivas

ANPROS. (2020). Estadísticas Productivas de la Industria Semillera Chilena 2019. Disponible en: https://www.anproschile.cl/estadisticas-publicas/

Páginas:

Gobierno Federal de los Estados Unidos. National Centers for Environmental Information. Visitado el 31 de julio de 2020.