

Índice

Resumen

Abstract

Resum

Capítulo 1. Introducción general	1
1. El género <i>Erwinia</i>	3
1.1. Especies de <i>Erwinia</i> asociadas a frutales de pepita y rosáceas ornamentales	5
1.1.1. Características de las especies de <i>Erwinia</i> patógenas y de las enfermedades que causan	6
1.1.1.1. <i>E. amylovora</i>	6
1.1.1.1.1. Distribución geográfica	6
1.1.1.1.2. Situación del fuego bacteriano en España	7
1.1.1.1.3. Características de la enfermedad	12
1.1.1.1.4. Sintomatología	13
1.1.1.1.5. Epidemiología	19
1.1.1.2. <i>E. pyrifoliae</i>	23
1.1.1.3. <i>Erwinia</i> sp. de Japón (BSBP)	24
1.1.1.4. <i>E. piriflorinigra</i>	26
1.1.1.5. <i>E. uzenensis</i> (BBSDP)	28
1.1.2. Especies de <i>Erwinia</i> no patógenas	29
1.1.2.1. <i>E. billingiae</i>	30
1.1.2.2. <i>E. tasmaniensis</i>	31
1.1.2.3. <i>E. gerundensis</i>	31
2. Características fenotípicas, bioquímicas y fisiológicas comunes y diferenciales de las especies del género <i>Erwinia</i>	32
2.1. Características	32
2.2. Morfología colonial	34
3. Características genéticas del género <i>Erwinia</i> (estructura y composición del genoma)	36
3.1. <i>E. amylovora</i>	41
3.2. <i>E. pyrifoliae</i>	44
3.3. <i>Erwinia</i> sp. de Japón	44
3.4. <i>E. uzenensis</i>	45
3.5. <i>E. piriflorinigra</i>	45
3.6. <i>E. billingiae</i>	46
3.7. <i>E. tasmaniensis</i>	46
3.8. <i>E. gerundensis</i>	47
4. Genes comunes y diferenciales relacionados con patogenicidad, virulencia y eficacia biológica	48

4.1. Sistemas de secreción tipo III (SST3): Hrp (PAI-1) e inv/spa (PAI-2 y PAI-3)	53
4.2. Secuencias CRISPR	55
4.3. Genes flagelares	56
4.4. Fimbrias	57
4.5. Biopelículas	58
4.6. Biosíntesis de exopolisacáridos	60
4.6.1. Amylovorano	60
4.6.2. Levano	61
4.6.3. Glucano y otros exopolisacáridos	62
4.7. Sistema de secreción tipo I (SST1)	63
4.8. Sistema de secreción tipo II (SST2)	63
4.9. Sistema de secreción tipo IV (SST4)	64
4.10. Sistema de secreción tipo V (SST5)	64
4.11. Sistema de secreción tipo VI (SST6)	64
4.12. Elementos de autoinducción (<i>quorum sensing</i>): LuxI y LuxS	65
4.13. Factores determinantes de la absorción de hierro	66
4.14. Metabolismo de los azúcares	69
4.14.1. Sorbitol	69
4.14.2. Sacarosa	70
4.14.3. Xilitol	70
4.15. Factores citotóxicos en la necrosis y proteasas	71
4.16. Expresión de genes en <i>E. amylovora</i>	71
4.17. Aspectos evolutivos del género <i>Erwinia</i>	73
 5. Diagnóstico de <i>E. amylovora</i> y <i>E. piriflorinigrans</i>	 76
5.1. Métodos de diagnóstico, detección e identificación de <i>E. amylovora</i> (EPPO, 2013)	76
5.1.1. Prospecciones y toma de muestras	77
5.1.2. Preparación de muestras sintomáticas	78
5.1.2.1. Aislamiento	78
5.1.2.2. Pruebas de detección rápida	79
5.1.3. Preparación de muestras asintomáticas	80
5.1.4. Identificación	83
5.2. Métodos de diagnóstico, detección e identificación de <i>E. piriflorinigrans</i>	83
5.2.1. Pruebas de hipersensibilidad y patogenicidad	83
5.2.2. Pruebas serológicas	84
5.2.3. Pruebas moleculares	86
 Capítulo 2. Justificación y objetivos	 87
 Capítulo 3.	 91

Funciones y orígenes de los plásmidos en las especies de *Erwinia* patógenas o epifitas asociadas a frutales de pepita

Functions and origin of plasmids in *Erwinia* species that are pathogenic to or epiphytically associated with pome fruit trees

Abstract	95
Genetic material in bacteria: chromosomes and plasmids	95
Functions encoded by plasmids in plant pathogenic bacteria	98
Brief description of phytopathogenic <i>Erwinia</i> sp. and their relationship with non-pathogenic <i>Erwinia</i> sp.	102
Plasmids in <i>E. amylovora</i>	105
Plasmids in <i>E. pyrifoliae</i>	115
Plasmids in <i>E. piriflorinigra</i>	119
Plasmids in <i>E. tasmaniensis</i>	119
Plasmids in <i>E. billingiae</i>	120
Comparative analyses of plasmids of similar size	120
Plasmid and evolution: hypotheses	125
Conclusions	128
Acknowledgments	129

Capítulo 4. 130

Un nuevo plásmido de *Erwinia amylovora*, pEI70: secuencia completa, biogeografía y papel en la agresividad del agente causal del fuego bacteriano

Erwinia amylovora novel plasmid pEI70: complete sequence, biogeography, and role in aggressiveness in the fire blight phytopathogen

Abstract	135
Introduction	135
Materials and methods	137
Results	147
Discussion	158
Acknowledgments	162

Capítulo 5. 163

Análisis del efecto de los plásmido pEA29 y pEI70 de *Erwinia amylovora* en la expresión de los genes cromosómicos durante el desarrollo de los síntomas en pera inmadura

Analysing the effect on chromosomal gene expression of plasmids pEA29 and pEI70 in symptoms development on pear in *Erwinia amylovora*.

Abstract	167
Introduction	168
Materials and methods	171
Results	176
Discussion	205
Acknowledgments	212

Capítulo 6.	213
--------------------	------------

Secuencia completa de los plásmidos pEPIR37 y pEPIR5 de *Erwinia piriflorinigrans* y papel del pEPIR37 en la virulencia del patógeno

Complete sequence of *Erwinia piriflorinigrans* plasmids pEPIR37 and pEPIR5 and role of pEPIR37 in pathogen virulence

Abstract	217
Introduction	217
Materials and methods	219
Results	225
Discussion	239
Acknowledgments	241

Capítulo 7.	243
--------------------	------------

PCR convencional y en tiempo real para la detección de *Erwinia piriflorinigrans* y su distinción del agente causal del fuego bacteriano, *Erwinia amylovora*

Conventional and real-time PCR to detect *Erwinia piriflorinigrans* allow its distinction from the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*

Abstract	247
Introduction	248
Materials and methods	249
Results	260
Discussion	269
Acknowledgments	271

Capítulo 8. Discusión general	273
--------------------------------------	------------

Capítulo 9. Conclusiones	291
---------------------------------	------------

Bibliografía general	297
-----------------------------	------------

Información suplementaria	343
----------------------------------	------------

Información suplementaria capítulo 4:	345
Table 4-S1. Predicted CDS to proteins of pEI70 in the GenBank non-redundant database.	346
Table 4-S2. Additional information available from <i>E. amylovora</i> strains positive for pEI70 analyzed in European countries.	349
Table 4-S3. Additional information available from <i>E. amylovora</i> strains negative for pEI70 analyzed in European countries.	360

Información suplementaria capítulo 5:	376
Supplemental Figure 5-1. GOgraphs and detailed information of a) cellular components domains upregulated in presence of pEA29; b) cellular components domains upregulated in presence of pEI70; c) cellular components domains downregulated in presence of pEI70.	377
Supplemental Figure 5-2. GOgraphs and detailed information of a) molecular function domains upregulated in presence of pEA29; b) molecular function domains downregulated in presence of pEA29; c) molecular function domains upregulated in presence of pEI70; d) molecular function nts domains downregulated in presence of pEI70.	381
Supplemental Figure 5-3. GOgraphs and detailed information of a) biological process domains upregulated in presence of pEA29; b) biological process domains downregulated in presence of pEA29; c) biological process domains upregulated in presence of pEI70; d) biological process domains downregulated in presence of pEI70.	390
Información suplementaria capítulo 6:	416
Supplemental Figure 6-1. Phylogenetic trees of amino acid sequences of a) ThiF; b) ThiG; c) ThiS; d) ThiO.	417