

Resum

El foc bacterià està considerada la malaltia més greu que afecta arbres fruiters de pinyol i rosàcies ornamentals i silvestres, pel seu difícil control químic, la seua fàcil disseminació i per afectar espècies vegetals de gran importància econòmica, com la pomera, la perera, el nesprer i el codonyer. L'agent causal d'aquesta malaltia és el bacteri *Erwinia amylovora*, pertanyent a la família *Erwiniaceae* i considerat organisme de quarantena a la Unió Europea.

Aquesta espècie ha estat àmpliament estudiada, però a nivell genòmic encara queda molt per conèixer, ja que en l'actualitat únicament existeixen dos genomes publicats, completament seqüenciats y anotats, i altres tretze assemblades *scaffolds*, de soques de diferents orígens geogràfics i hostes. Per això el seu pangenoma es considera obert, tot i que aquests soques posseeixen un *core* o genoma conservat amb una alta identitat de seqüència. Amb aquestes dades podem dir que hi ha molt poca variabilitat intraespecífica, el que es manifesta en una escassa diversitat genotípica, advertint-se que els plasmidis són la major font de variabilitat genètica. Aquesta variabilitat podria explicar les diferències en virulència a les soques portadores d'aquests plasmidis, així com la seua millor adaptació a les diferents condicions ambientals.

L'origen d'aquest treball va sorgir en observar que el plasmidi pEA29 descrit en la majoria de les soques d'*E. amylovora*, i amb un efecte quantitatiu en virulència, no es va trobar en alguns aïllats espanyols del bacteri. L'estudi d'aquests soques sense plasmidi va donar pas al descobriment d'un altre plasmidi d'un 70 Kb anomenat pEI70, el qual està present en soques d'*E. amylovora* de diversos països europeus. Per això, després del pEA29, el plasmidi pEI70 és el de major presència a les soques d'aquesta espècie. S'ha estudiat la funció, distribució i contingut

genètic d'aquest plasmidi, així com l'efecte del pEA29 i del pEI70 sobre l'expressió dels gens cromosòmics de la soca que els porta, després de la infecció en fruit immadur. Els experiments d'inoculació en fruit amb les soques a les que se'ls havia introduït el plasmidi pEI70 o el pEA29, en comparació amb aquesta mateixa soca sense plasmidis, van mostrar un augment de la virulència, que es manifestava en una reducció en el temps de l'aparició de símptomes i en què aquests es presentaven de forma més agressiva. Per això, per tal d'estudiar si la presència de cada plasmidi podria produir efectes sobre determinats gens cromosòmics que explicarien aquesta variació en virulència de la soca portadora, es va realitzar un experiment d'expressió genètica diferencial mitjançant un *microarray* amb sondes del genoma complet i dels plasmidis pEA29 i pEI70. Els resultats obtinguts van demostrar el paper dels dos plasmidis en afectar l'expressió d'entre 120 i 180 gens cromosòmics segons el plasmidi que porta la soca, enriquint-se en cada cas categories funcionals diferents, tot i que 28 d'ells van ser coincidents en els dos casos.

D'altra banda, *E. piriflorinigrans* és una espècie patògena descrita recentment que produeix necrosi només en les flors de perera, però no sembla afectar altres òrgans. A més, les dues espècies comparteixen característiques fenotípiques i moleculars, fent difícil la seua distinció. La seua detecció i correcta identificació era un repte pel fet que els símptomes que provoca en flors són pràcticament indistingibles als causats per *E. amylovora*. En aquest treball també s'ha avaluat el contingut genètic d'un plasmidi de 37 Kb, anomenat pEPIR37, present en totes les soques analitzades de l'espècie *E. piriflorinigrans*, i a més s'ha observat que quan aquest plasmidi era introduït en soques de l'espècie *E. amylovora* curades de plasmidis, que per això tenen una virulència reduïda, van mostrar una virulència major, comparable amb l'observada en les soques portadores del plasmidi pEA29, el que indicaria que aquest plasmidi produeix un efecte similar. Per tot això en aquest treball també s'han desenvolupat dos protocols

específics i sensibles de PCR en temps real i convencional per identificar, detectar i diferenciar *E. piriflorinigrans* d'*E. amylovora* i d'altres espècies d'aquest gènere, usant iniciadors dissenyats a partir de seqüències específiques, anotades en aquest mateix treball, del plasmidi pEPIR37. Això ha permès identificar aquesta nova espècie a altres hostes com *Pyracantha* sp., a més de perera i en altres regions on anteriorment no s'havia detectat.

Així mateix, aquests resultats han permès conèixer aspectes biològics i epidemiològics d'*E. piriflorinigrans* que aporten nova informació científica clau per establir estratègies per al seu control en arbres fruiters de pinyol.

L'estudi dels plasmidis i les seues funcions en aquestes dues espècies tan relacionades filogenèticament i el seu paper en l'adaptació al medi on habiten, així com en la virulència de les soques que els porten, podria donar noves pistes sobre l'origen dels dos patògens, la seua evolució, el seu cicle biològic i la seua interacció amb les plantes hostes.