

El progreso de síntomas de enfermedad en plantas de yuca *in vitro* causado por *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*

The progress of disease symptoms on *in vitro* cassava plants caused by *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*

Andrea Camargo

Grupo de investigación ciencias biológicas y químicas Universidad Antonio Nariño.

Camilo E. López Carrascal

Grupo de investigación Manihot Biotec, Universidad Nacional de Colombia.

Paula Díaz

Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño. padiazta@uan.edu.co

Resumen

La bacteria fitopatógena *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) es el agente causal de la bacteriosis vascular de la yuca, enfermedad que se ha reportado en todas las regiones donde se cultiva yuca. *Xpm* se ha considerado un patógeno de riesgo medio debido a los altos índices de diversidad y a las altas tasas de migración que presentan sus poblaciones. Tradicionalmente, para la determinación del comportamiento patogénico de aislamientos de *Xpm* se han empleado plantas de yuca obtenidas a partir de estacas y crecidas en invernadero. En este trabajo se utilizaron plantas de yuca crecidas *in vitro* para la determinación de la resistencia o susceptibilidad a tres aislamientos de *Xpm* y se compararon los resultados con el mismo ensayo realizado con plantas obtenidas a partir de estacas. Los resultados muestran que el comportamiento general y síntomas de las plantas crecidas *in vitro* inoculadas con *Xpm* es similar y existe una correspondencia con la determinación de resistencia o susceptibilidad al obtenido con las plantas provenientes de estacas.

Palabras clave:

Añublo bacteriano, AUDPC, Bacteriosis vascular de la yuca, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Keywords:

AUDPC, Cassava bacterial blight, *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*.

Este artículo expone algunos estudios de la bacteria fitopatógena que causa la bacteriosis vascular de la yuca, *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*. Se muestran resultados del seguimiento de síntomas de la enfermedad en plantas de yuca adultas en condiciones de invernadero e *in vitro*.

Abstract

The phytopathogenic bacterium *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*) is the causal agent of cassava bacterial blight, a disease that has been reported in all regions where cassava is grown. *Xpm* has been considered a medium risk pathogen due to the high diversity indexes

and the high migration rates of its populations. Traditionally, adult cassava plants grown in the greenhouse have been used to determine the pathogenic behavior of *Xpm* isolates. In this work in vitro grown cassava plants were used to determine the resistance or susceptibility to three *Xpm* isolates and the results were compared with the same test with adult cassava plants. The results show that, although the values of AUDPC are higher for in vitro plants, there is a correspondence regarding the determination of resistance or susceptibility compared with adult plants.

El hospedero: la yuca

La yuca, también llamada mandioca o tapioca, es un alimento básico importante en América Latina, principalmente en Colombia, Brasil y Paraguay. El alto contenido de almidón en las raíces de la yuca, no sólo proporciona calorías para la población humana de países tropicales, sino que también es utilizado en la industria para diversos fines, entre ellos la producción de bioetanol e incluso actualmente para la producción de bolsas libres de plástico. Adicionalmente, de las raíces de yuca se obtiene harina libre de gluten, por lo que se ha popularizado en países occidentales como una alternativa

La yuca, también llamada mandioca o tapioca, es un alimento básico importante en América Latina

a las harinas producidas a partir de cereales. En los últimos años, se ha visto un creciente interés en el mejoramiento de las variedades de yuca para América Latina, con el objeto de contribuir a la seguridad alimentaria en Colombia y otros países latinoamericanos productores de yuca (CIAT, 2016a, 2016b).

La planta de yuca se caracteriza por crecer en suelos ácidos, de escasa fertilidad y es capaz de soportar largos periodos de sequía y altas temperaturas, por lo que se ha considerado como un cultivo resiliente al cambio climático. Sin embargo, no puede tolerar encharcamientos ni condiciones de alta salinidad del suelo (El-sharkawy, 2003). A pesar de las ventajas de este cultivo, se puede ver afectado por algunas enfermedades que alteran considerablemente el crecimiento de la planta y la producción. Se han reportado una serie de virus, hongos y bacterias que limitan la producción de yuca. Los virus causantes de la enfermedad del mosaico y la raya café de la yuca han sido particularmente devastadores para la producción de yuca en África (Owor *et al.*, 2004). Entre las bacterias que afectan los cultivos de yuca están: *Xanthomonas campestris* pv. *cassavae* (la mancha angular de la hoja), *Pectobacterium carotovorum* (la pudrición bacteriana del tallo) y *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*), recientemente re-nombrada *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (*Xpm*), el agente causal de la enfermedad más importante de este cultivo, la bacteriosis vascular o añublo bacteriano de la yuca (Álvarez *et al.*, 2002; McCallum, Anjanappa & Gruissem, 2017). Este patógeno se ha reportado en todas las regiones tropicales y subtropicales donde

se cultiva la yuca y puede causar pérdidas de producción entre el 50% y 75% del cultivo de yuca, si no se utilizan medidas fitosanitarias de control (Verdier *et al.*, 2004).

La enfermedad: bacteriosis vascular de la yuca

La bacteriosis vascular se distribuye extensamente tanto en África como en América del Sur, Asia y Oceanía. En Colombia, esta enfermedad fue muy destructiva en 1971; desde entonces, se informa de su presencia en las principales zonas de cultivo de la yuca en el país (Lozano & Sequeira, 1974; Trujillo *et al.*, 2014). Los síntomas característicos de esta enfermedad son las manchas angulares de las hojas, el tizón, quemazón, marchitez, la exudación y la necrosis vascular del tallo finalizando con la muerte descendente de la planta (Lozano, 1973). La severidad de la enfermedad varía mucho según el clima, la fertilidad del suelo, la variedad empleada y también la cantidad de bacteria presente en la zona (Verdier, 2002). Dentro de las medidas fitosanitarias para el control del añublo bacteriano se encuentra la rotación de cultivos y la siembra de estacas al finalizar las épocas de lluvia para evitar la diseminación del patógeno (*Xpm*) el cual, por las salpicaduras de las gotas de lluvia se dispersa fácilmente (Lozano, 1973; Verdier, 2002). Debido a que *Xpm* no tolera temperaturas superiores a 50°C, otra medida fitosanitaria de control empleada es el tratamiento de las estacas con calor (Ramírez, Álvarez & Marmolejo, 1999). Por otro lado, se ha observado que los métodos de control biológico (por antagonistas) y de control químico (utilización de compuestos cúpricos) son ineficientes para controlar la enfermedad (Verdier, 2002). Sin embargo, se ha implementado el uso de fertilizantes con potasio para aumentar la resistencia al patógeno. Las estrategias más eficientes para controlar la bacteriosis vascular

son, la siembra de material vegetal libre de *Xpm* y el uso de variedades resistentes.

La bacteria patógena: *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*

Esta bacteria se encuentra en la posición seis del top diez de las bacterias patógenas de plantas (Mansfield *et al.*, 2012). *Xpm* es un patógeno sistémico y epífita, se introduce en la planta a través de los estomas y otras heridas, principalmente coloniza los espacios intercelulares en el mesófilo de la hoja donde se multiplica rápidamente por división celular, esto destruye el tejido y produce gran cantidad de exopolisacáridos (Boher & Verdier, 1994). Esta rápida multiplicación de *Xpm* produce una colonización de la lámina y conduce a la formación de manchas angulares de hojas. Al penetrar la cutícula de la hoja, *Xpm* segrega ácido 3-metil-tiopropiónico, una toxina que provoca la quemazón angular en la hoja (Verdier, 2002). Por otro lado, la información de la secuencia del genoma de *Xpm* ha permitido encontrar que esta bacteria cuenta con diversos sistemas de secreción que le permiten enviar proteínas de patogenicidad al apoplasto y a la célula vegetal para causar enfermedad en la planta (Arrieta-Ortiz *et al.*, 2013; Medina *et al.*, 2017).

Estudios recientes sobre la diversidad de las poblaciones de *Xpm* han encontrado que las poblaciones son dinámicas, diversas e inestables a lo largo del tiempo, principalmente en los cultivos de la Costa Caribe (Trujillo, Arias-Rojas *et al.*, 2014; Trujillo, Ochoa *et al.*, 2014b). La inestabilidad de los haplotipos de *Xpm* en la Costa Caribe, una de las regiones de Colombia con la mayor producción de yuca, muestra la necesidad de hacer un constante monitoreo de las poblaciones de *Xpm*. Una continua caracterización de la estructura poblacional del patógeno junto con información sobre el perfil virulento de los aislamientos, puede llevar a entender el impacto del uso de ciertas variedades por los agricultores sobre las dinámicas poblacionales del patógeno en esta área, así como sugerir nuevas estrategias de manejo de la enfermedad.

El comportamiento patogénico de *Xpm*

En Colombia, los primeros estudios que reportan la caracterización de patotipos, es decir, conjuntos de bacterias que tienen la misma capacidad patogénica sobre un grupo definido de variedades de yuca, se realizaron sobre aislamientos de *Xpm* en distintas zonas edafoclimáticas del país en los años 90 del siglo XX. Estos trabajos permitieron la identificación de cinco patotipos a través de un test de patogenicidad sobre una colección de 10 variedades de yuca, la cual se basó en la severidad de la enfermedad según una escala cualitativa de 0 a 5, en la que 0: planta sana y 5: marchitamiento completo. De acuerdo con la severidad de la enfermedad, la virulencia de las cepas se clasificó en tres categorías: 0 a 2.49 (no agresiva), 2.5 a 3.49 (débilmente agresiva) y 3.5 a 5.0 (muy agresiva) (Restrepo, Vélez & Verdier, 2000). En este estudio se observó que aproximadamente el 92% de los aislamientos fueron muy agresivos sobre las variedades de yuca que se utilizaron.

Estudios más recientes han evaluado el comportamiento patogénico de aislamientos de *Xpm* empleando el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC, del inglés *Area Under the Disease Progress Curve*). El cálculo de AUDPC permite comparar el progreso de la enfermedad que causa el desarrollo y crecimiento del patógeno sobre su hospedero a través del tiempo, además proporciona una medida cuantitativa de la susceptibilidad o resistencia al patógeno (Jeger & Viljanen-Rollinson, 2001; Shaner & Finney, 1977). El uso de AUDPC en plantas de yuca adultas crecidas en invernadero ha permitido caracterizar del perfil patogénico de *Xpm* de diferentes regiones de Colombia. En un estudio reciente, en el que se determinó mediante AUDPC la agresividad de aislamientos recientes de *Xpm*, se encontró que la variedad COL2215 fue muy susceptible a más de la mitad de los aislamientos de *Xpm* evaluados (Trujillo, Ochoa *et al.*, 2014a). Esto resulta ser un riesgo latente para el cultivo, debido a que es una de las variedades que más se cultivan en la Región Caribe. Adicionalmente, se mostró que la mayoría de aislamientos de *Xpm* en Colombia son virulentos cuando se inoculan sobre una colección de variedades de yuca crecidas a partir de estacas en condiciones de invernadero (Trujillo, Ochoa *et al.*, 2014a).

A pesar de las ventajas que representa el uso de plantas de yuca crecidas *in vitro*, en cuanto a espacio y continúa disponibilidad de material, en la actualidad no se ha reportado el uso de plantas de yuca crecidas *in vitro* para la determinación del perfil de virulencia de aislamientos de *Xpm* mediante AUDPC. De esta manera, el objetivo de este trabajo fue determinar el perfil de virulencia de tres aislamientos de *Xpm*, empleando la herramienta AUDPC, en dos variedades de yuca (cv.60444 y COL1505), unas crecidas a partir de estacas y otras crecidas *in vitro*.

Inoculación de XPM en plantas de yuca adultas y en plantas in vitro y seguimiento de síntomas

Con el fin de evaluar el uso de plantas de yuca crecidas *in vitro* para determinar el perfil virulento de *Xpm*, se seleccionaron dos variedades de yuca que se han reportado como susceptibles a diversos aislamientos de *Xpm* y que presentan un rápido crecimiento tanto en condiciones de invernadero como *in vitro*, denominadas cv.60444 y COL1505. Por otro lado, se escogieron los aislamientos *Xpm*668, *Xpm*436 y *Xpm*556, aislamientos que son representativos de diferentes haplotipos (Rache *et al.*) y se

inocularon mediante punción en tallo en las variedades anteriormente mencionadas.

En la Imagen 1 se muestran los fenotipos de las plantas adultas crecidas a partir de estacas después de 28 días post inoculación. Como puede notarse la mayoría de las plantas de la variedad cv.60444 muestran síntomas de más de dos hojas marchitas y algunas muestran marchitamiento del ápice al ser inoculadas con *Xpm*668 y *Xpm*556 (Imagen 1b, 1d). Por su parte, las plantas de la variedad COL1505, muestran síntomas de hojas marchitas, pero ninguna planta presentó marchitamiento del ápice (Imagen 1a, 1c, 1e). Estos resultados muestran que cv.60444 exhibe más síntomas de susceptibilidad comparada con COL1505.

Por otro lado, los síntomas en plantas crecidas *in vitro* después de 24 días de la inoculación se muestran en la Imagen 2. Las plantas *in vitro* de COL1505 muestran síntomas de hojas marchitas y marchitamiento del ápice después de la inoculación con *Xpm*668 y *Xpm*556, pero no muestran síntomas de enfermedad por la inoculación con *Xpm*436. Por otro lado, la mayoría de las plantas crecidas *in vitro* de cv.60444 presentaron marchitamiento total al ser inoculadas con *Xpm*668 y *Xpm*556 y solo una planta mostró marchitamiento al ser inoculada con *Xpm*436.

Los resultados obtenidos tanto en plantas crecidas *in vitro* como en plantas obtenidas a partir de estacas sugieren que *Xpm*668 y *Xpm*556 son aislamientos virulentos comparados con *Xpm*436. Por otro lado, se observa que la variedad cv.60444 es más susceptible que COL1505.

Estudios recientes sobre la diversidad de las poblaciones de *Xpm* han encontrado que las poblaciones son dinámicas



Imagen 1. Fenotipo de las variedades COL1505 y cv.60444 crecidas en invernadero a los 28 días después de la inoculación con tres aislamientos de Xpm. Variedad COL1505 inoculada con Xpm668, (a) Xpm556 (c) y Xpm436 (e). Variedad cv.60444 inoculada con Xpm668 (b) y Xpm556 (d).

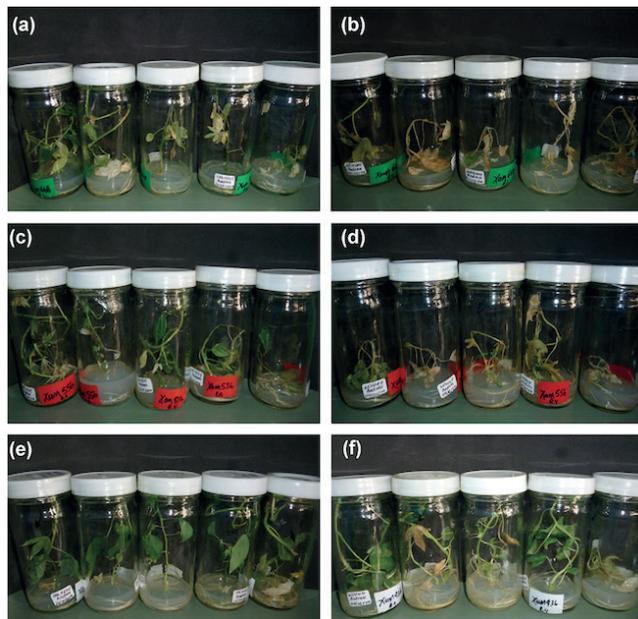


Imagen 2. Fenotipo de las variedades COL1505 y cv.60444 crecidas *in vitro* a los 24 días después de la inoculación con tres aislamientos de Xpm. Variedad COL1505 inoculada con Xpm668 (a), Xpm556 (c) y Xpm436 (e). Variedad cv.60444 inoculada con Xpm668 (b), Xpm556 (d) y Xpm436 (f).

El valor de AUDPC se calculó a partir de la sumatoria de valores

Determinación del área bajo la curva del progreso de la enfermedad en plantas de yuca adultas y en plantas *in vitro*

Con el fin de determinar cuantitativamente las respuestas de las plantas a la inoculación con los diferentes aislamientos de Xpm se determinó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC). Para esto, se realizó un seguimiento de síntomas de enfermedad a los 7, 14, 21 y 28 días después de la inoculación, con base en la escala de síntomas que se muestra en la Tabla 1. La inoculación de las plantas crecidas *in vitro* también se realizó por punción en tallo y se tomaron los síntomas a los 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 y 27 días después de la inoculación. El valor de AUDPC se calculó a partir de la sumatoria de valores desde el valor obtenido el día 7 hasta el día 28.

Tabla 1. Escala de síntomas utilizadas para la determinación del área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

Valor	Descripción
1	Presencia de necrosis alrededor del punto de inoculación.
2	Presencia de exudados a lo largo del tallo.
3	Marchitez (necrosis) de 1 o 2 hojas, cercanas al punto de inoculación.
4	Marchitez (necrosis) de 3 o más hojas. Estrangulación del tallo.
5	Muerte total del ápice de la planta inoculada.

Con base en el valor promedio de la sumatoria de AUDPC (Σ AUDPC) para las réplicas de cada variedad, se clasificaron las variedades de acuerdo a los criterios presentes en la Tabla 2. Una planta fue considerada susceptible a una cepa si el valor obtenido de Σ AUDPC fue mayor o igual a 49. Si el valor de Σ AUDPC se encontró entre 49 y 44, la planta se consideró moderadamente susceptible y si el valor se encontró entre 44 y 39 se consideró moderadamente resistente. La resistencia se consideró cuando el valor de Σ AUDPC fue menor a 39 (Tabla 2).

Tabla 2. Determinación de resistencia y susceptibilidad de acuerdo a los valores de la sumatoria de AUDPC del primer al último día de evaluación.

Valor de Σ AUDPC	Descripción
≤ 39	Resistente (R)
$39 < \Sigma$ AUDPC < 44	Moderadamente resistente (MR)
$44 < \Sigma$ AUDPC < 49	Moderadamente susceptible (MS)
≥ 49	Susceptible (S)

Como se muestra en la Tabla 3, la variedad cv.60444 fue categorizada como susceptible (S) a *Xpm668* y *Xpm556*, independientemente del uso de plantas crecidas *in vitro* o a partir de estacas. Por el contrario, la variedad COL1505 presentó diferencias en cuanto a su categorización por la inoculación con *Xpm668* y *Xpm556* dependiente del tipo de plantas usadas. La variedad COL1505 fue categorizada como susceptible a estos dos aislamientos cuando se emplearon plantas crecidas *in vitro*, mientras que se categorizó como moderadamente resistente (MR) a *Xpm668* y moderadamente susceptible (MS) a *Xpm556* cuando se emplearon plantas obtenidas a partir de estacas (Tabla 3). Por el contrario, esta misma variedad fue categorizada como resistente (R) a *Xpm436* independientemente del tipo de planta usada.

En cuanto a los valores obtenidos de AUDPC, se observan tendencias similares cuando se emplean plantas crecidas *in vitro* con respecto a las que provienen de estacas. La variedad cv.60444 presenta en ambos casos los valores de AUDPC más altos, lo cual concuerda con estudios previos (Trujillo, Ochoa, et al., 2014a). Por su parte, la variedad COL1505 presentó valores de AUDPC intermedios para la inoculación con *Xpm668* y

Xpm556, lo que conllevó a que las plantas crecidas *in vitro* fuesen categorizadas como susceptibles a estos aislamientos y las plantas que provienen de estacas quedaran en las categorías intermedias (MR y MS).

Tabla 3. Determinación del área bajo la curva del progreso de la enfermedad en plantas crecidas *in vitro* y en plantas obtenidas a partir de estacas crecidas en invernadero inoculadas con tres aislamientos de Xpm. Entre paréntesis se muestra el valor de Σ AUDPC al día 28. N.E., No Evaluado.

Aislamientos	Plantas <i>in vitro</i>		Plantas adultas	
	COL1505	cv.60444	COL1505	cv.60444
Xpm668	S(67,5)	S(80,7)	MR(41,2)	S(66,4)
Xpm556	S (54)	S(84,9)	MS(47,2)	S(73,3)
Xpm436	R(14,7)	R(38,4)	R(0)	N.E.

Conclusiones

En este estudio se evaluaron las respuestas de las variedades de yuca, COL1505 y cv. 60444, crecidas *in vitro* y en invernadero a partir de estacas, a la inoculación con Xpm668, Xpm556 y Xpm436. Los resultados obtenidos muestran que tanto plantas crecidas *in vitro* como plantas obtenidas a partir de estacas de la variedad cv.60444 presentaron los valores de AUDPC más altos a las inoculaciones con Xpm668 y Xpm556. Por esta razón, independientemente del uso de plantas esta variedad fue categorizada como susceptible a Xpm668 y Xpm556. Por el contrario, la variedad COL1505 fue clasificada en categorías intermedias en respuesta a Xpm668, Xpm556, cuando se emplearon plantas obtenidas de estacas, mientras que fue categorizada como susceptible a estos aislamientos al emplearse plantas crecidas *in vitro*. En resumen, estos resultados sugieren que cuando las variedades de yuca son altamente susceptibles o altamente resistente a un aislamiento de Xpm, el desarrollo de síntomas ocurre de manera similar, independientemente del tipo de plantas empleadas. Por otro lado, cuando las variedades presentan respuestas intermedias en cuanto al desarrollo de síntomas, las plantas crecidas *in vitro* pueden ser categorizadas como susceptibles y las plantas obtenidas de estacas pueden ser asignadas a categorías intermedias.





Ficha biográfica de los autores:

Andrea Camargo: estudiante de último semestre del pregrado en Bioquímica de la Universidad Antonio Nariño.



Camilo Ernesto López Carrascal, biólogo con Maestría en Biología Celular y Molecular y Doctorado en Ciencias de la Vida. Profesor titular de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá y líder del grupo de investigación Manihot Biotec.



Paula Díaz Profesora asistente de la Facultad de Ciencias y miembro del grupo de investigación Ciencias Biológicas y Químicas de la Universidad Antonio Nariño y del grupo de investigación Manihot Biotec de la Universidad Nacional de Colombia.

Referencias

Álvarez, E., Bellotti, A., Calvert, L., Arias, B., Cadavid, L. F., Pineda, B. & Cuervo, M. (2002). *Guía práctica para el manejo de las enfermedades, las plagas y las deficiencias nutricionales de la yuca*. Cali, Colombia: CIAT.

Arrieta-Ortiz, M. L., Rodríguez-R, L. M., Pérez-Quintero, Á. L., Poulin, L., Díaz, A. C., Arias Rojas, N. & Bernal, A. (2013). Genomic Survey of Pathogenicity Determinants and VNTR Markers in the Cassava Bacterial Pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* Strain CIO151. *PLoS ONE*, 8(11), e79704. [doi.org/10.1371/journal.pone.0079704].

Boher, B. & Verdier, V. (1994). Cassava bacterial blight in África: the state of knowledge and implications for designing control strategies. *Afr. Crop. Sci. J. Uganda*.

- CIAT (2016a). *Impulsando la productividad de la yuca en el Caribe colombiano*. Bogotá: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- CIAT (2016b). *La yuca, una raíz que une a Corpoica y al CIAT*. Bogotá: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Cohn, M., Bart, R. S., Shybut, M., Dahlbeck, D., Gomez, M., Morbitzer, R. & Staskawicz, B. J. (2014). Xanthomonas axonopodis Virulence Is Promoted by a Transcription Activator-Like Effector-Mediated Induction of a SWEET Sugar Transporter in Cassava. *Molecular Plant-Microbe Interactions* MPMI, 27(11), pp. 1186-1198 [doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0161-R].
- El-sharkawy, M. A. (2003). Cassava biology and physiology. In *Plant Molecular Biology*. 56(4), pp. 481-501 [DOI: 10.1007/s11103-005-2270-7].
- Jeger, M. J., & Viljanen-Rollinson, S. L. H. (2001). The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(1), pp. 32-40. [doi.org/10.1007/s001220051615].
- Lozano, J. C. (1973). *Bacterial Blight of Cassava in Central and South America: Etiology, Epidemiology and Control*. Cali, Colombia.
- Lozano, J. C. & Sequeira, L. (1974). Bacterial Blight of Cassava in Colombia: Epidemiology and Control. *Phytopathology*, 64(1), pp. 83-88 [doi.org/10.1094].
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P. & Foster, G. D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(6), pp. 614-629 [doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x].
- McCallum, E. J., Anjanappa, R. B. & Gruissem, W. (2017). Tackling agriculturally relevant diseases in the staple crop cassava (*Manihot esculenta*). *Current Opinion in Plant Biology*, 38, pp. 50-58 [doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.008].
- Medina, C. A., Reyes, P. A., Trujillo, C. A., Gonzalez, J. L., Bejarano, D. A., Montenegro, N. A. & Bernal, A. J. (2017). The role of type three effectors from Xanthomonas axonopodis pv. manihotis in virulence and suppression of plant immunity. *Molecular Plant Pathology*, 1-14.
- Owor, B. B., Legg, J. P., Okao-Okuja, G., Obonoyo, R. & Ogenga-Latigo, M. W. (2006). The effect of cassava mosaic geminiviruses on symptom severity, growth and root yield of a cassava mosaic virus disease-susceptible cultivar in Uganda. *Annals of Applied Biology*, 145(3), pp. 331-337 [doi.org/10.1111/j.1744-7348.2004.tb00390.x].
- Ramírez B. J. A., Álvarez C. E. & Marmolejo, F. (1999). Determinación in vitro de la Sensibilidad Térmica de Cepas de Xanthomonas axonopodis pv manihotis, Agente Causal de la Bacteriosis Vascular de la Yuca. *Patología de Yuca* (CIAT), 23(2), pp. 87-91.
- Restrepo, S., Duque, M. C. & Verdier, V. (2000). Characterization of pathotypes among isolates of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis in Colombia. *Plant Pathology*, 49, pp. 680-687 [doi.org/10.1046/j.1365-3059.2000.00513.x].
- Restrepo, S., Vélez, C. M. & Verdier, V. (2000). Measuring the Genetic Diversity of Xanthomonas axonopodis pv. manihotis Within Different Fields in Colombia. *Phytopathology*, 90(7), pp. 683-90 [doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.7.683].
- Shaner, G. & Finney, R. E. (1977). The Effect of Nitrogen Fertilization on the Expression of Slow-Mildewing Resistance in Knox Wheat. *Phytopathology*, 77(8), p. 1051. [doi.org/10.1094/phyto-67-1051].
- Trujillo, C. A., Arias-Rojas, N., Poulin, L., Medina, C. A., Tapiero, A., Restrepo, S. & Bernal, A. J. (2014). Population typing of the causal agent of cassava bacterial blight in the Eastern Plains of Colombia using two types of molecular markers. *BMC Microbiology*, 14(1), p. 161 [doi.org/10.1186/1471-2180-14-161].
- Trujillo, C. A., Ochoa, J. C., Mideros, M. F., Restrepo, S., López, C. & Bernal, A. (2014b). A Complex Population Structure of the Cassava Pathogen Xanthomonas axonopodis pv. manihotis in Recent Years in the Caribbean Region of Colombia. *Microbial Ecology*, 68(1), pp. 155-167 [doi.org/10.1007/s00248-014-0411-8].
- Verdier, V. (2002). Bacteriosis Vascular (o Añublo Bacteriano) de la yuca causada por Xanthomonas axonopodis pv. manihotis. *La Yuca del tercer milenio*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Verdier, V., Restrepo, S., Mosquera, G., Jorge, V. & Lopez, C. (2004). Recent progress in the characterization of molecular determinants in the Xanthomonas axonopodis pv. manihotis-cassava interaction. *Plant Molecular Biology*, 56, pp. 573-584. [doi.org/10.1007/s11103-004-5044-8].