

## APLICACIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS DE SECUENCIACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE GENOMAS COMPLETOS DE BACTERIAS PATÓGENAS EN TRIGOS DE ARGENTINA

Martino, J.<sup>1</sup>; Alemandri, V.<sup>2</sup>; Conci, L.<sup>3</sup>; Fernández, F.<sup>4</sup>  
martino.julia@inta.gov.ar<sup>1</sup>, alemandri.vanina@inta.gov.ar<sup>2</sup>, conci.luis@inta.gov.ar<sup>3</sup>, fernandez.franco@inta.gov.ar<sup>4</sup>  
IPAVE-CIAP-INTA, UFyMA-INTA-CONICET, Córdoba, Argentina.  
Proyectos INTA PDI090 y PE126, FONCYT PICT 2018-02410.

### RESUMEN

Diferentes bacterias fitopatógenas afectan el cultivo de trigo en Argentina. Cada año se observa un incremento a campo de sintomatología típica de éstos patógenos. Actualmente no se han identificado ni caracterizados a todas las bacterias que infectan éste cultivo de gran importancia para nuestro país; por lo que se decidió utilizar tecnología de secuenciación de tercera generación para obtener los genomas completos de dos bacterias presentes y así confirmar de manera precisa los agentes causales, entender mejor los patosistemas, desarrollar diagnósticos específicos y diseñar estrategias de manejo.

### RESULTADOS

Se logró ensamblar en un solo contig el cromosoma de ambas especies en estudio, *Pseudomonas syringae* (6065081 pb, GC 59%) y *Curtobacterium flaccumfaciens* (3685167 pb, GC 70.9%).

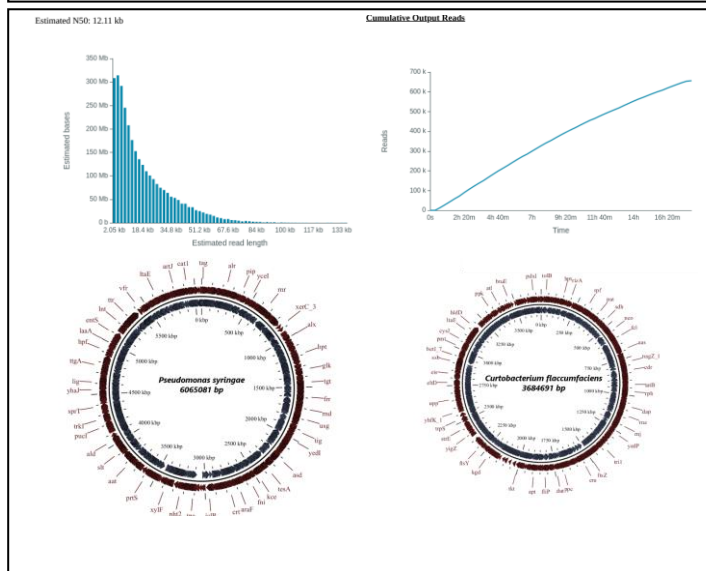
<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
Total length: 6065081	Total length: 3684631
Fragments: 1	Fragments: 1
Mean coverage: 56	Mean coverage: 133
16S best hit: <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>atrotifers</i> strain LMG5095 (CP020490.1) 100% ID	16S best hit: <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> strain CF1037 (CP041293.1) 100% ID

### INTRODUCCIÓN

Diversas bacterias patógenas fueron descritas infectando trigo (*Triticum aestivum* L.), responsables de ocasionar pérdidas en la producción. Actualmente, están siendo muy utilizadas para tecnologías de secuenciación de tercera generación, como la de Oxford Nanopore (ONT). Estas tecnologías presentan ventajas como la simplicidad en la preparación de la muestra, resultado en tiempo real y la obtención de lecturas largas. El objetivo del presente trabajo fue secuenciar genomas completos de dos bacterias que afectan trigo en Argentina empleando la plataforma de secuenciación ONT.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El ADN genómico fue extraído a partir de cultivos puros de *Pseudomonas syringae*, proveniente de plantas con sintomatología característica de bacteriosis, y de *Curtobacterium flaccumfaciens* desde semillas, identificadas biológicamente y corroboradas por secuenciación de la región intergénica del 16S y/o MALDI-TOF. Se utilizó el método de extracción con CTAB para la primera bacteria y un kit comercial (QIAGEN) para la segunda. La calidad y cantidad de ADN fue evaluada mediante NanoDrop-1000 y Quantus Fluorometer. El ADN purificado fue utilizado para la generación de librerías de secuenciación empleando un kit comercial (Ligation Sequencing Kit). Las librerías fueron secuenciadas empleando la plataforma ONT en un dispositivo MinION 1kb. Las secuencias crudas fueron filtradas empleando Filtrong y ensambladas usando Tricycler (<https://github.com/rrwick/Tricycler/wiki>).



### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que la plataforma ONT resultó una herramienta eficaz, rápida, accesible y de baja complejidad, permitiendo confirmar de manera precisa los agentes causales, además de generar cuantiosa información genómica imprescindible para el desarrollo de diagnósticos específicos, entendimiento de los patosistemas y el diseño de estrategias de manejo.